

AVALIAÇÃO DA LESÃO PULMONAR EM RATOS APÓS PARADA CARDÍACA SEGUIDA DE PERFUSÃO NORMOTÉRMICA REGIONAL

Data de submissão: 23/06/2025

Ana Cristina Breithaupt Faloppa

Larissa dos Santos Pedroso



Todo o conteúdo desta revista está licenciado sob a Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

INTRODUÇÃO

O transplante de órgãos é considerado o tratamento de escolha para muitos pacientes em estágio final da doença. Dados atuais mostram que existe grande diferença entre o número de pacientes que necessitam de um órgão para transplante e o número de doadores possíveis. No Brasil, em 2019, o número de potenciais doadores foi de 11399, porém apenas 33% tornaram-se doadores efetivos (RGT 2019, ABTO). Nossa legislação vigente permite a doação de órgãos após a morte encefálica e a doação entre vivos. Entretanto, há a possibilidade de captação de tecidos para transplante (córnea, vasos, pele, ossos e tendões) em um curto espaço de tempo após a morte por parada cardíaca.

O pulmão é um dos órgãos com menor aproveitamento para transplante (em torno de 6%). A lista de espera de pulmão possui cerca de 200 pacientes e aproximadamente 22% desta lista vai a óbito aguardando um órgão viável (RBT 2019, ABTO). Apenas 10% -15% dos pulmões são considerados clinicamente adequados para transplante, após um processo de seleção subjetivo, mas rigoroso, baseado em parâmetros clínicos e fisiológicos. Em relação aos doadores computados durante 2019, apenas 2,8% tiveram seus pulmões transplantados efetivamente (RBT 2019, ABTO).

No contexto mundial, os pulmões para transplante provêm, principalmente, de doadores em morte encefálica (*donor after brain death*, DBD). Paralelamente, há a doação entre vivos (doação de lobo pulmonar) e a doação após morte por parada cardíaca (*donor after cardiac death*, DCD). Vários países já fazem uso de órgãos captados de doadores DCD com sucesso, como é o caso da Bélgica, Holanda, Reino Unido, França, Espanha, China, Estados Unidos e Japão. Na Inglaterra, em um levantamento do período de 2004 a 2014, o aumento significativo nos órgãos transplantados veio do aumento de doadores

DCD (Hodgson et al., 2017). Portanto, se a doação de órgãos após DCD fosse permitida no Brasil, teríamos um aumento de possíveis doadores no país.

Conforme mencionado, devido ao grande potencial estimado no aumento do número de doadores, a doação de órgãos depois da determinação de morte por parada cardíaca vem sendo implantada em vários países na última década. Já existem dados publicados que apontam que no curto e médio prazo, os resultados de pacientes que recebem pulmões de doadores DCD são equivalentes àqueles que receberam órgãos de doadores DBD (Gomez-de- Antonio et al., 2012; Mooney et al., 2016). Por outro lado, a DCD difere em muitos aspectos da DBD e apresenta desafios específicos; os pulmões oriundos de DCD compõem uma porcentagem dos pulmões transplantados e os cuidados com este doador focam em evitar a degradação *post-mortem* e seus efeitos, que comprometeriam os resultados do transplante (Inci, 2017).

Com a intenção de expandir a doação após morte cardíaca, o primeiro workshop para DCD foi realizado em Maastricht (Holanda, 1995) para caracterizar estes doadores e definir critérios de classificação (Kootstra; Damen; Oomen, 1995). Estes são considerados controlados, quando os doadores se encontram na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) ou no centro cirúrgico e há planejamento da captação antes da ocorrência da morte e, não controlados, quando a morte acontece antes de se cogitar a captação de órgãos. Captação em ambiente controlado permite a avaliação prévia da função do órgão e a redução do tempo de isquemia até o início das medidas de preservação do órgão (Dunne; Doherty, 2011; Elgharably; Shafii; Mason, 2015; Bedenkoet al., 2016).

A principal diferença entre os órgãos captados após morte encefálica e morte cardíaca é a duração da isquemia quente, período em

que há parada da circulação com o possível doador em temperatura corporal normal. Após a morte encefálica, os órgãos podem ser submetidos a perfusão fria antes da captação, reduzindo a isquemia quente. Em relação à morte cardíaca, sempre há algum grau de isquemia quente e ele deve ser o mais curto possível para evitar danos irreversíveis pelo estresse metabólico (Dunne; Doherty, 2011).

Após a morte e o período de sua confirmação, inicia-se o protocolo de captação e/ou preservação do(s) órgão(s). Há protocolos que incluem a heparinização do doador, previamente à parada cardíaca, para evitar tromboembolismo e formações de trombos que podem ser levados ao receptor. Paralelamente, a ventilação mecânica com oxigênio após a morte preserva ultraestrutura pulmonar e reduz a morte celular (Alessandrini et al., 1994). Neste contexto, estudos experimentais que avaliem os efeitos da morte por parada cardíaca nos pulmões e os mecanismos envolvidos revestem-se de importância.

A perfusão pulmonar, *ex vivo* ou *in situ* (regional), pode ser utilizada para reavaliar e recondicionar pulmões passíveis de doação, que tenham sido rejeitados inicialmente devido à qualidade inferior. A principal limitação da perfusão pulmonar é a manutenção da integridade da barreira alvéolo-capilar, evitando o aumento da resistência vascular pulmonar e o edema, que comprometem a função pulmonar. Atualmente diversos sistemas de perfusão *ex vivo* estão disponíveis e baseiam-se na perfusão hipotérmica ou normotérmica (Lonati et al., 2018). Estes equipamentos de perfusão, permitem a ampliação do número de órgãos para transplante a partir do recondicionamento de órgãos considerados marginais. Hoje a perfusão *ex vivo* normotérmica passou a ser uma estratégia de preservação pulmonar, já que a capacidade da preservação hipotérmica de resgatar pulmões considerados inaproveitáveis é limitada com uma taxa de 85% e não

permite uma avaliação adequada das condições do órgão (Cypel, 2012).

A perfusão normotérmica regional, diferentemente da perfusão *ex vivo* possibilita a avaliação do potencial órgão a ser doado antes de ser retirado e transplantado, reduzindo os custos envolvidos. Não há necessidade de equipamento *ex vivo* específico para o órgão, nem da prontidão da equipe e local, caso não seja possível a realização do procedimento. Deve-se levar em consideração que um doador pode fornecer mais de um órgão para doação e, desta forma, a preservação *in situ* acrescentaria mais um benefício ao transplante (Messer et al., 2018). A perfusão regional é utilizada principalmente para a perfusão de órgãos abdominais e permite o fornecimento de adequada quantidade de oxigênio e de outros substratos para manter a homeostase e recondicionar órgãos para transplante (Hesheimer et al., 2015). Zanierato et al. (2020) descrevem uma combinação de perfusão normotérmica regional para órgãos abdominais em conjunto com a utilização de uma estratégia de perfusão regional com ventilação mecânica para a preservação de pulmões em doadores com parada cardíaca. Porém, estudos experimentais acerca dos mecanismos envolvidos na lesão pulmonar causada pela morte em parada cardíaca concentram-se na avaliação e recondicionamento desses órgãos em equipamentos de perfusão *ex vivo* (Lonati et al., 2018; Machuca; Cypel, 2014; Yamada et al., 2015; Resch et al., 2020; Wang et al., 2018)

Neste contexto, o objetivo deste estudo será avaliar a lesão pulmonar após a parada cardíaca e os efeitos da perfusão normotérmica regional dos pulmões em ratos. A hipótese proposta é a redução do comprometimento pulmonar que se segue ao período de isquemia quente pós-parada cardíaca pela perfusão regional dos pulmões.

OBJETIVOS

Pretendeu-se:

- Avaliar a lesão pulmonar;
- Quantificar mediadores inflamatórios no perfusato e no meio de cultura pulmonar;
- Quantificar a concentração e expressão gênica de mediadores inflamatórios e marcadores de apoptose em homogenato de tecido pulmonar.

MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Coordenadoria de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Investigação Médica (LIM)-11 do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os animais foram manipulados de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA (2016) do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).

Neste estudo foram utilizados 60 ratos machos Wistar provenientes do biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pesando entre 250 e 350g. Os animais foram mantidos a 23 ± 2 °C, período de claro e escuro de 12 h, sem restrições à ingestão de água e ração.

Os grupos de estudo foram constituídos de:

- **Controle morte circulatória sem ventilação (CNV):** ratos submetidos a morte circulatória e mantidos por 30 minutos sem suporte ventilatório;
- **Controle morte circulatória com ventilação (CV):** ratos submetidos a morte circulatória e mantidos por 30 minutos com suporte ventilatório;
- **Morte circulatória sem ventilação**

seguida de perfusão regional de pulmão (NVP): ratos submetidos a morte circulatória e mantidos por 30 minutos sem suporte ventilatório seguido de perfusão regional de pulmão por 2 horas;

- **Morte circulatória com ventilação seguida de perfusão regional de pulmão (VP):** ratos submetidos a morte circulatória e mantidos por 30 minutos com suporte ventilatório seguido de perfusão regional de pulmão por 2 horas;

ANESTESIA E PARADA CIRCULATÓRIA

Os animais foram anestesiados com uma mistura de isoflurano (5%) e oxigênio (21%) em uma câmara fechada. Subsequentemente, intubados e conectados a um ventilador para roedores com uma FiO₂ de 60%, volume corrente de 10 ml/kg, e frequência de 70 ciclos/minuto. Quando o animal estava pronto para cirurgia após a parada cardíaca, foi submetido à traqueostomia com inserção de cateter 16G.

MORTE CIRCULATÓRIA E PERFUSÃO PULMONAR IN SITU

Os animais foram colocados em plataforma cirúrgica com aquecimento local (37 °C). 500 UI/kg (aproximadamente 0,3ml) de heparina intravenosa (IV) foi administrada. Após um minuto, 19,1% de solução de KCl foi administrado IV e levou à parada cardiocirculatória. O sistema de anestesia foi desligado e a ventilação foi mantida nos grupos designados.

O animal permaneceu em isquemia quente por 30 minutos. Durante este período foi realizada toracotomia mediana (incisão ao longo do esterno) para acesso ao bloqueio cardíaco/pulmão. A artéria pulmonar foi canulada, o átrio direito foi acessado e uma cânula de ponta romba foi introduzida na artéria pulmonar principal para infusão de solução de preservação (Perfadex®, XVIVO; Gothenburg,

Sweden). O ventrículo esquerdo foi aberto e cancelado para permitir a saída do perfusato após a pequena circulação.

Após período de isquemia quente, o ventilador foi iniciado nos grupos onde estava desligado. A perfusão ocorreu com fluxo de infusão inicial variável, visando manter a pressão arterial média abaixo de 20 mmHg, medida pelo transdutor conectado à cânula de ponta romba. A perfusão contínua durou 2 horas.

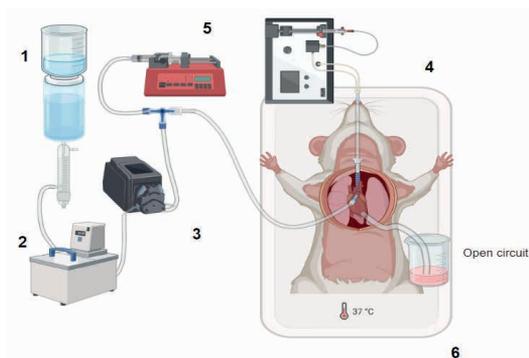


Figura 1. - Representação esquemática do sistema de perfusão: Vidrarias com **Perfadex®**, 2- Banho Maria, 3- Bomba Peristáltica 4- Ventilação, 5- Bomba de Seringa 6- Placa Aquecedora.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS NO PERFUSATO, NO TECIDO PULMONAR E EM AMOSTRAS DE CULTURA DE PULMÃO

A determinação da concentração de mediadores inflamatórios (IL-6, IL-10, IL-1 β e TNF- α) no perfusato, tecido pulmonar e em amostras de cultura de pulmão foi realizada com a utilização kits comerciais de ELISA (Duo Set, R & D System®, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Para o homogenato tecidual, os tecidos foram pesados e homogeneizados em 1 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS), pH 6,0, contendo 0,5% de brometo de hexadecil-trimetil-amônio (CTAB) e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 5mM usando gentleMACS™ Dissociator from Mil-

tenyi Biotec, Germany. A densidade óptica foi obtida por espectrofotômetro (SpectraMax® PLUS Microplate Reader, Molecular Devices, EUA).

ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS

Após o término do período experimental, fragmentos de tecido pulmonar foram fixados em solução de formaldeído a 10%. Os tecidos foram processados, embebidos em parafina, seccionados e corados (hematoxilina/eosina) para análise histopatológica usando microscópio óptico. Análises morfológicas convencionais foram realizadas em uma seção por animal (n= 5 por grupo). Os parâmetros investigados incluíram edema e hemorragia intersticial, analisados por dois observadores. Os cortes foram digitalizados, e cinco áreas por imagem foram extraídas e exportadas em um formato compatível com software NIS Elements (Nikon, Japão). O número de unidades de edema e hemorragia foi expresso por área de tecido.

PCR EM TEMPO REAL PARA EXPRESSÃO GÊNICA

Os genes foram quantificados quanto à sua expressão através de PCR em tempo real, em aparelho StepOne Plus® (AppliedBiosystem, EUA). A extração de RNA dos tecidos (pulmão) foi realizada com a utilização de kit comercial mirVana™ miRNAisolation Kit (Ambion®-Thermo Fisher Scientific, EUA), seguindo o protocolo do fabricante. O cDNA foi transcrito (High capacity reverse transcriptase Kit, AppliedBiosystem, EUA) e a reação de PCR em tempo real realizada. SYBR®-Green primers foram utilizados (Applied Biosystems) para β -actina, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , caspase-3, BCL-2 e BAX (Tabela 1). As condições de ciclagem foram: 2 minutos a 50°C, 10 minutos a 95 °C seguido de 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60 °C.

Real-time PCR SYBR®Green		
TNF- α	RN TNFa fw	5'-AGGCTGTCGCTACATCACTGAA-3'
	RN TNFa rv	5'-TGACCCGTAGGGCGATTACA-3'
IL-1 β	RN IL-1B fw	5'-CAGCAATGGTCGGGACATAGTT-3'
	RN IL-1B rv	5'-GCATTAGGAATAGTGCAGCCATCT-3'
IL-10	RN IL-10 fw	5'-GCAACAGCTCAGCGCATCT-3'
	RN IL-10 rv	5'-ACAAACTGGTCACAGCTTTCGA-3'
IL-6	RN IL-6 fw	5'-CAACTTCCAATGCTCTCCTAATG-3'
	RN IL-6 rv	5'-TTCAAGTGCTTTCAAGAGTTGGAT-3'
Caspase-3	RN CASP-3 fw	5'-GCATGCCAGAAGATACCAGTGG-3'
	RN CASP-3 rv	5'-AGTTTCAGCATGGCGCAA-3'
BCL-2	RN BCL-2 fw	5'-CTGGGATGCCTTTGTGGAA-3'
	RN BCL-2 rv	5'-TCAGAGACAGCCAGGAGAAATCA-3'
BAX	RN BAX fw	5'-TGCTGATGGCAACTTCAACTGG-3'
	RN BAX rv	5'-TGGTTCTGATCAGCTCGGGCA-3'

TNF, tumor necrosis factor; IL, interleukin; BCL-2, B-cell leukemia/lymphoma-2; BAX, B-cell leukemia/lymphoma- associated X.

Tabela 1 – Primers SYBR®Green

EUTANÁSIA E DESCARTE DOS ANIMAIS

Os animais sob anestesia sofreram parada cardiocirculatória e foram descartados após o término do experimento de acordo com as normas vigentes para incineração.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). As análises estatísticas foram conduzidas utilizando GraphPad Prism Software v.6. Os dados foram analisados quanto à distribuição, por teste de normalidade e submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Benjamin de comparações múltiplas. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significantes.

RESULTADOS

AValiação DOS GASES E DO PH NO PERFUSATO:

Para avaliar a função dos pulmões durante a perfusão in-situ, a análise de gases no perfusato foram realizadas e constatou-se que os gases e o pH permaneceram estáveis durante toda a perfusão (Figura 2).

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS NO PERFUSATO, NO TECIDO PULMONAR E EM AMOSTRAS DE CULTURA DE PULMÃO:

As análises dos mediadores inflamatórios no perfusato são apresentadas na Figura 3. Pôde-se observar o aumento de TNF- α e IL-10 ao longo do tempo, quando se comparam as amostras obtidas após 15 min e as obtidas após 2 h de perfusão.

Paralelamente às análises de perfusato, foram quantificados mediadores inflamatórios no homogenato de tecido pulmonar e no meio de cultura do explante pulmonar, além

da expressão gênica desses mediadores (Figuras 4-7). Os dados apontam para o aumento da liberação de mediadores no tecido pulmonar (TNF- α e IL-1 β) dos animais submetidos a perfusão regional em comparação com os controles, mantidos em isquemia fria. Após 24 h em cultura pulmonar não encontramos diferenças significativas, apenas uma redução de IL-6 no grupo ventilado e perfundido.

Não foram observadas diferenças na expressão do gene TNF- α , entretanto, observou-se uma maior concentração nos grupos perfundidos. Além disso, a expressão gênica de IL-10 também foi elevada em ambos os grupos perfundidos em comparação com os respectivos controles. A expressão gênica de IL-6 foi maior no grupo perfundido sem ventilação durante isquemia quente.

ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS:

A análise histológica do pulmão permitiu a avaliação do tecido neste modelo experimental. A Figura 8 ilustra os resultados de hemorragia e edema. Há uma redução significativa da hemorragia após a perfusão. O edema apresentou o mesmo perfil em todos os grupos, com tendência de diminuição ao longo do tempo de perfusão.

MARCADORES DE APOPTOSE:

Em nosso estudo, a perfusão aumentou a expressão gênica de caspase-3 em animais de grupos não ventilados e a ventilação foi capaz de reduzi-la (Figura 9). Não foram encontradas

Para melhor avaliação da morte celular, analisamos a expressão proteica de BAX e BCL-2 (Figura 10). Sua razão é utilizada para avaliar a intensidade da indução de morte celular no tecido, Observando o padrão apresentado pelo balanço imunohistoquímico entre BAX (proteína pró-apoptótica) e BCL-2 (proteína antiapoptótica), os grupos perfundidos mostraram redução da apoptose após 2h de perfusão regional.

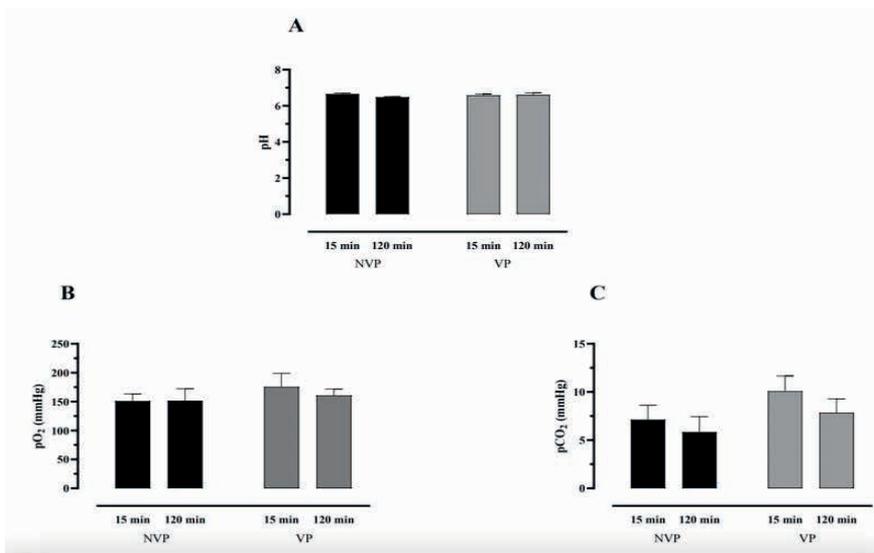


Figura 2. Análise de gases no perfusato aos 15 minutos de perfusão e 120 minutos. A: P ANOVA PH: 0.1515 B: P ANOVA PCO₂: 0.7644 e C: P ANOVA PO₂: 0.6581. Os valores são apresentados como a média ± Erro padrão (N = 8). NVP–Não-ventilado durante isquemia quente; VP-Ventilado durante isquemia quente.

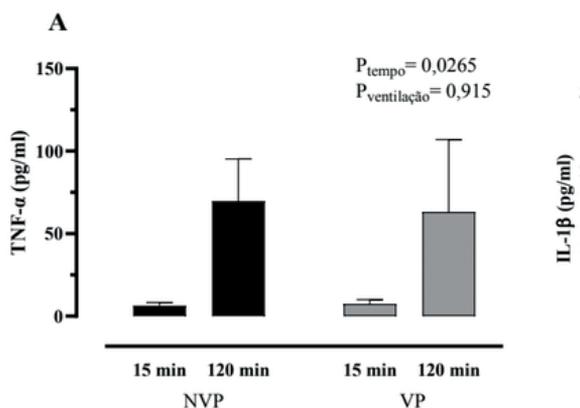


Figura 3. Quantificação de mediadores inflamatórios no perfusato após 15 e 120 min de perfusão regional dos pulmões. Os valores são apresentados como a média ± Erro padrão (N = 8). NVP–Não-ventilado durante isquemia quente; VP-Ventilado durante isquemia quente.

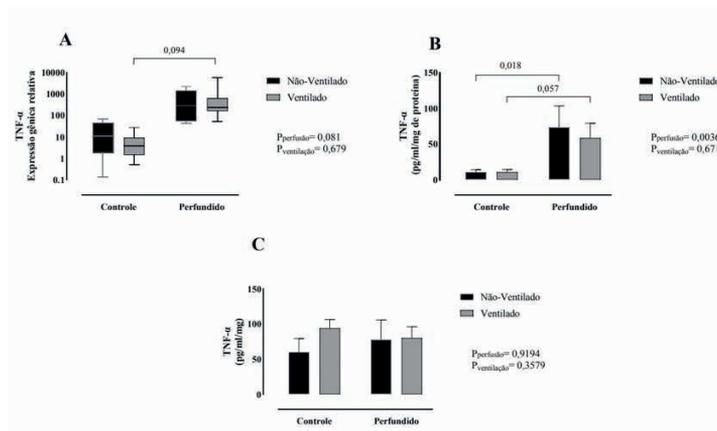


Figura 4. – Expressão gênica do fator de necrose tumoral (TNF)- α (A) e concentrações em homogenato pulmonar (B) e no meio de cultura do explante pulmonar (C, 24 h). Os dados são apresentados como média \pm Erro padrão para o grupo (homogenato tecidual e explante) e como mediana e faixa de 5%-95% (PCR) (N = 8). Os valores dos explantes foram ajustados pelo peso do tecido seco (mg).

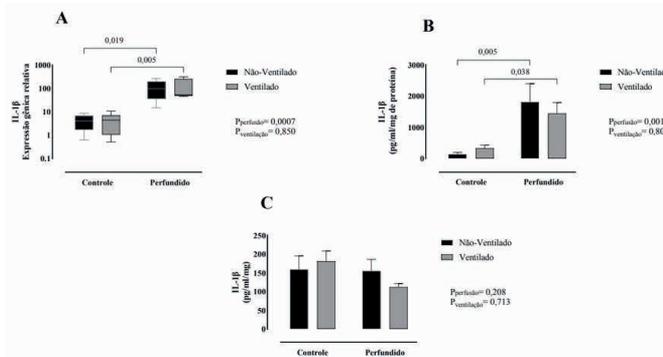


Figura 5. – Expressão gênica de Inteleucina 1- β (A) e concentrações em homogenato pulmonar (B) e no meio de cultura do explante pulmonar (C, 24 h). Os dados são apresentados como média \pm Erro padrão para o grupo (homogenato tecidual e explante) e como mediana e faixa de 5%-95% (PCR) (N = 8). Os valores dos explantes foram ajustados pelo peso do tecido seco (mg).

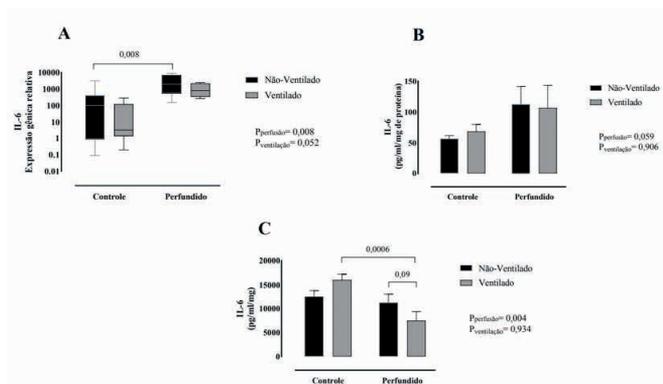


Figura 6. Expressão gênica de Inteleucina 6 (A) e concentrações em homogenato pulmonar (B) e no meio de cultura do explante pulmonar (C, 24 h). Os dados são apresentados como média \pm Erro padrão para o grupo (homogenato tecidual e explante) e como mediana e faixa de 5%-95% (PCR) (N = 8). Os valores dos explantes foram ajustados pelo peso do tecido seco (mg).

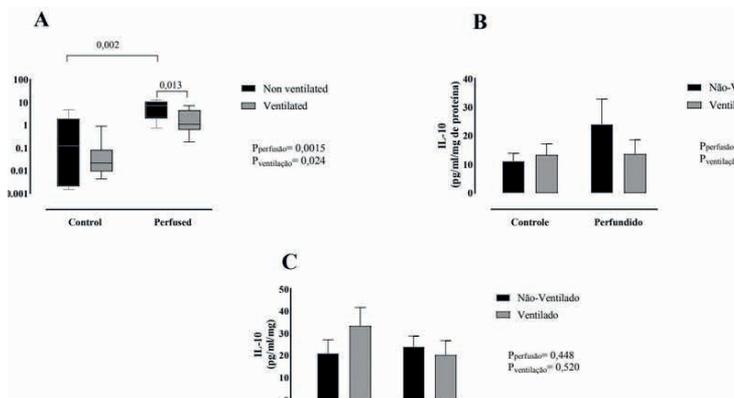


Figura 7. Expressão gênica de Inteleucina 10 (A) e concentrações em homogenato pulmonar (B) e no meio de cultura do explante pulmonar (C, 24 h). Os dados são apresentados como média \pm Erro padrão para o grupo (homogenato tecidual e explante) e como mediana e faixa de 5%-95% (PCR) (N = 8). Os valores dos explantes foram ajustados pelo peso do tecido seco (mg).

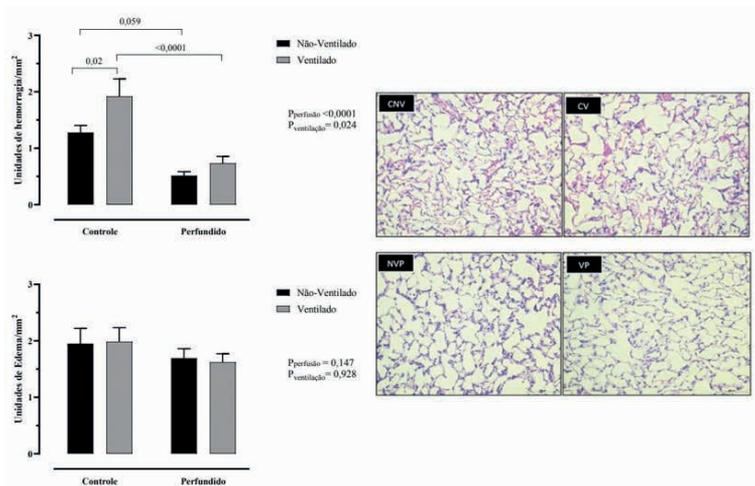


Figura 8. Análise histopatológica pulmonar de edema e hemorragia. Fotomicrografias de cortes pulmonares corados com coloração padrão de hematoxilina e eosina. A: Hemorragia e B: Edema. Os dados são expressos como unidade por média \pm SEM de 10 fotos/animal e 8 animais/grupo de animais na histopatologia pulmonar, CNV-Grupo controle não ventilado; CV-Controle ventilado; NVP-Não ventilado durante isquemia quente e perfundido; VP-Ventilado durante isquemia quente e perfundido.

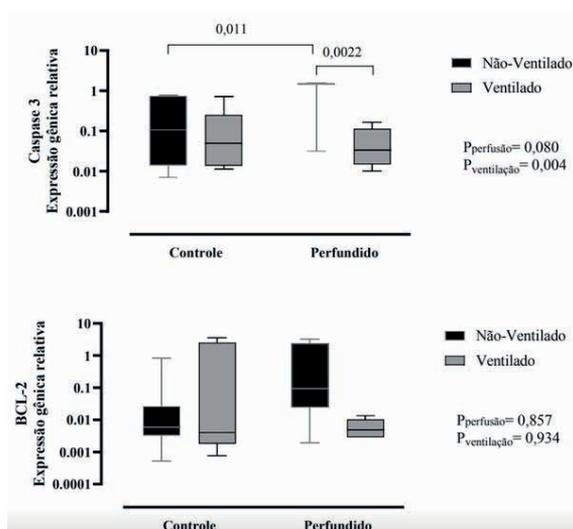


Figura 9 – Expressão gênica da Caspase-3 e BCL2. Os valores estão apresentados como mediana e faixa de 5%-95% (PCR) (N = 8).

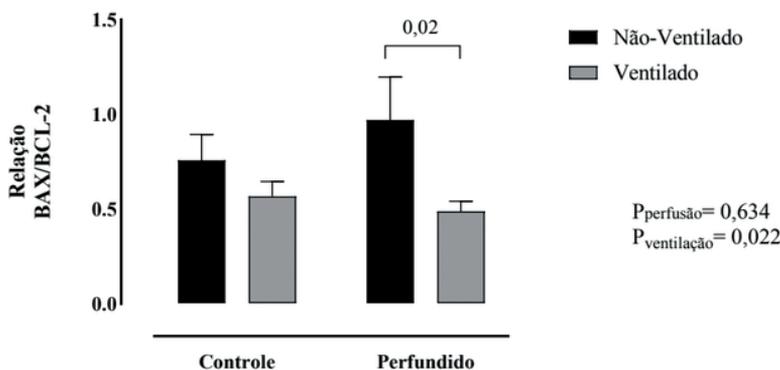


Figura 10 – Razão da expressão proteica de BAX/BCL-2. As expressões proteicas de BAX e BCL-2 foram obtidas por imunohistoquímica. Os dados estão expressos como média \pm Erro padrão de 10 fotos/animal, e 5 animais/grupo.

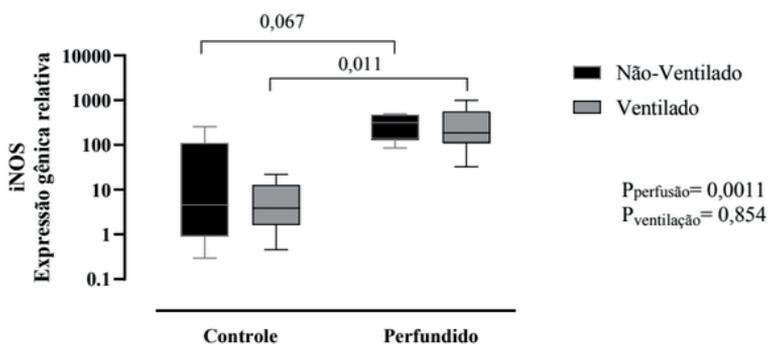


Figura 11 – Expressão gênica de iNOS. Os valores estão apresentados como mediana e faixa de 5%-95% (PCR) (N = 8).

Analizamos a expressão gênica de iNOS nos pulmões e os resultados estão apresentados na Figura 11. O gene iNOS foi regulado positivamente nos pulmões e, de acordo com os outros resultados, indicam maior expressão nos grupos perfundidos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a perfusão pulmonar normotérmica regional após parada cardíaca foi capaz de reduzir a hemorragia e a apoptose no tecido pulmonar. Porém, houve a ativação da inflamação, com a liberação e maior perfil inflamatório por meio do aumento de outros parâmetros (IL-6, IL-10, IL1- β , TNF- α , caspase-3 e iNOS).

REFERÊNCIAS

Associação Brasileira de Transplante de Órgãos.Registro Brasileiro de Transplantes, São Paulo:

ABTO ano XXV, número 4, 2019. Disponível em: <http://www.abto.org.br/abtov03/default.aspx?mn=569&c=1130&s=0&friendly=rbt-2019>

ALESSANDRINI F; D'ARMINI, AM; ROBERTS, CS; REDDICK, RL; EGAN, TM. When does the lung die? II. Ultrastructural evidence of pulmonary viability after "death". *J Heart Lung Transplant* v. 13, n. 5. p. 748-757, 1994.

Ahmad, Kareem et al. "Ex Vivo Lung Perfusion: A Review of Current and Future Application in Lung Transplantation." *Pulmonary therapy* vol. 8,2 (2022): 149-165. doi:10.1007/s41030-022-00185-w

CYPEL, Marcelo. Uma nova era no transplante pulmonar: Medicina personalizada a pulmões doados. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 38, n. 6, p. 681–683, 2012. DOI: 10.1590/s1806-37132012000600001.

DUNNE, Kathryn; DOHERTY, Pamela. Donation after circulatory death. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care and Pain*, v. 11, n. 3, p. 82–86, 2011. DOI: 10.1093/bjaceaccp/mkr003.

GHINOLFI, D.; LAI, Q.; DONDOSSOLA, D.; DE CARLIS R.; ZANIERATO, M.; PATRONO, D.; BARONI, S.; BASSI, D.; FERLA, F.; LAUTERIO, A.; LAZZERI, C.; MAGISTRI, P.; MELANDRO, F.; PAGANO, D., PEZZATI, D.; RAVAIOLI, M.; RREKA, E.; TOTI, L.; ZANELLA, A.; BURRA, P.; PETTA, S.; ROSSI, M.; DUTKOWSKI, P.; JASSEM, W.; MUIESAN, P.; QUINTINI, C.; SELZNER, M.; CILLO, U. Machine perfusions in liver transplantation: The evidence-based position paper of the Italian society of organ and tissue transplantation [published online ahead of print, 2020 Jun 10]. *Liver Transpl.* 2020;10.1002/lt.25817. doi:10.1002/lt.25817

GOMEZ-DE-ANTONIO, David; CAMPO-CAVERAL, Jose Luis; CROWLEY, Silvana; VALDIVIA, Daniel; CORDOBA, Mar; MORADIELLOS, Javier; NARANJO, Jose Manual; USSETTI, Piedad; VARELA, Andrs. Clinical lung transplantation from uncontrolled nonheart-beating donors revisited. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, v. 31, n. 4, p. 349–353, 2012. DOI: 10.1016/j.healun.2011.12.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2011.12.007>.

HODGSON R, YOUNG AL, ATTIA MA, LODGE JPA. Impact of a National Controlled Donation After Circulatory Death (DCD) Program on Organ Donation in the United Kingdom: A 10-Year Study. *Am J Transplant.* 2017;17(12):3172-3182. doi:10.1111/ajt.14374

HESSHEIMER, Amelia J; BILLAULT, Claire; BARROU, Benoit; FONDEVILA, Constantino. Hypothermic or normothermic abdominal regional perfusion in high-risk donors with extended warm ischemia times: Impact on outcomes? *Transplant International*, v. 28, n. 6, p.700–707, 2015. DOI: 10.1111/tri.12344.

KOOSTRA, G.; DAEMEN, J.H.; OOMEN, A.P. Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 1995; 27(5):2893–4.

LONATI, Caterina; BASSANI, Giulia A.; BRAMBILLA, Daniela; LEONARDI, Patrizia; CARLIN, Andrea; FAVERSANI, Alice; GATTI, Stefano; VALENZA, Franco. Influence of ex vivo perfusion on the biomolecular profile of rat lungs. *FASEB Journal*, v. 32, n. 10, p. 5532–5549, 2018. DOI: 10.1096/fj.201701255R.

MESSER, Simon; PAGE, Aravinda; COLAH, Simon; AXELL, Richard; PARIZKOVA, Barbora; TSUI, Steven; LARGE, Stephen. Human heart transplantation from donation after circulatory-determined death donors using normothermic regional perfusion and cold storage. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, v. 37, n. 7, p. 865–869, 2018. DOI: 10.1016/j.healun.2018.03.017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2018.03.017>.

RESCH, Thomas et al. Transplanting Marginal Organs in the Era of Modern Machine Perfusion and Advanced Organ Monitoring. v. 11, n. May, 2020. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00631.

STEEN S, SJOBERG T, PIERRE L, et al. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet* 2001;357:825-9.

Van Raemdonck, Dirk et al. “Ex-vivo lung perfusion.” *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* vol. 28,6 (2015): 643-56. doi:10.1111/tri.12317

WANG, Xingyuet al. Experimental ex vivo lung perfusion with sevoflurane : effects on damaged donor lung grafts. n. March, p. 1–8, 2018. DOI: 10.1093/icvts/ivx438.

YAMADA, Tetsu; CHEN, Fengshi; SAKAMOTO, Jin; NAKAJIMA, Daisuke; OHSUMI, Akihiro; BANDO, Toru; DATE, Hiroshi. Impact of the cardiac arrest mode on cardiac death donor lungs. *Journal of Surgical Research*, v. 195, n. 2, p. 596–603, 2015. DOI: 10.1016/j.jss.2015.02.029. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2015.02.029>.