

# 10

## Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation pulmonaire

La transplantation pulmonaire s'est développée ces quinze dernières années avec une amélioration en termes de survie des patients à 1 an et à 5 ans et représente actuellement l'indication de choix dans le cas des pathologies pulmonaires terminales. Cependant, le nombre de greffes pulmonaires réalisées et les résultats post-transplantation restent encore inférieurs à ceux de la transplantation des autres organes solides en raison d'un certain nombre de facteurs limitants. L'état des greffons disponibles et leur sensibilité à l'ischémie/reperfusion constituent deux points importants. Seuls 10 à 30 % des poumons sont jugés aptes à la transplantation et le temps d'ischémie accepté reste limité à 6-8 heures. Les altérations cellulaires et moléculaires associées à l'ischémie/reperfusion (I/R) ont un impact important sur la mortalité et la morbidité post-transplantation précoce et tardive et sont considérées comme une limitation majeure au succès de la transplantation pulmonaire.

### Mécanismes cellulaires et moléculaires au cours de l'ischémie/reperfusion

On retrouve les mécanismes décrits pour les autres organes avec un rôle particulièrement important du stress oxydant et de l'inflammation.

#### Stress oxydant

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont générées dans la plupart des cellules du parenchyme pulmonaire, notamment les cellules endothéliales, les cellules épithéliales alvéolaires (pneumocytes de type I et II), les cellules de Clara, les cellules épithéliales ciliées ainsi que les macrophages alvéolaires (de Perrot et coll., 2003). Une caractéristique importante propre au poumon est qu'il reste de l'oxygène dans les alvéoles pulmonaires durant la période

d'ischémie. De ce fait, un maintien du métabolisme en aérobie persiste pendant un certain temps mais participe en revanche à un stress oxydatif dont l'endothélium est une source importante (Fisher et coll., 2003). D'autres cellules telles que les macrophages et les neutrophiles marginaux peuvent également contribuer à ce stress oxydant (Fiser et coll., 2001a).

## Inflammation

Les principaux facteurs impliqués dans l'inflammation associée à l'ischémie/reperfusion pulmonaire sont résumés dans le tableau 10.I.

**Tableau 10.I : Molécules et cellules impliquées dans les événements inflammatoires au cours de l'I/R pulmonaire**

Conséquences de l'I/R	Molécules et cellules impliquées
Sur-régulation de molécules à la surface cellulaire	Molécules d'adhésion (sélectines, immunoglobulines, intégrines) au niveau des cellules pulmonaires endothéliales Facteurs pro-thrombotiques et anti-fibrinolytiques
Libération de médiateurs pro-inflammatoires	Cytokines pro- et anti-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-8, IL-10, IL-12 et IL-18) Lipides (rôle important de la phospholipase A <sub>2</sub> dans la génération de médiateurs lipidiques) Complément Endothéline-1
Activation des leucocytes	Macrophages au cours de l'ischémie Lymphocytes, neutrophiles

## Protection contre les altérations cellulaires et moléculaires liées à l'ischémie/reperfusion

En raison de la complexité des mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu au cours de l'ischémie/reperfusion, les méthodes de préservation doivent intégrer différentes approches comme pour les autres organes. La spécificité de la préservation pulmonaire concerne en particulier l'intégrité de la préservation de l'endothélium, la réduction de la peroxydation lipidique et la préservation de la fonctionnalité de l'épithélium alvéolaire pulmonaire notamment des pneumocytes alvéolaires de type 2.

## Préconditionnement

Le poumon exposé à une agression développe une protection endogène vis-à-vis d'une agression ultérieure. Comme pour le cœur, les événements déclenchant ces mécanismes de protection endogène peuvent être de courtes périodes d'ischémie, une élévation de la température ou des agents pharmacologiques ciblant des composés impliqués dans l'I/R. Le preconditionnement ischémique améliore la protection du poumon vis-à-vis de l'ischémie/reperfusion par un mécanisme mettant en jeu les canaux  $K_{ATP}$  sarcolemmaux et non les canaux  $K_{ATP}$  mitochondriaux comme c'est le cas pour le cœur (Kandilci et coll., 2006). Le preconditionnement préserve la vasodilatation dépendante de l'endothélium (Kandilci et coll., 2006) et a un effet protecteur sur la compliance du poumon (Featherstone et coll., 2000). Il réduit la libération de cytokines pro-inflammatoires, améliore l'échange de gaz et limite les altérations des propriétés surfactantes (Markart et coll., 2005 ; Waldow et coll., 2005). Une caractéristique du poumon est que le preconditionnement peut s'effectuer par arrêt de la perfusion ou de la ventilation (Featherstone et coll., 2000). Le prétraitement par endotoxine a également été proposé comme méthode de preconditionnement (Markart et coll., 2005). Le preconditionnement systémique par une ischémie courte répétée appliquée aux membres inférieurs permet de protéger la fonction pulmonaire des lésions de l'I/R (Waldow et coll., 2005).

Le preconditionnement par transfert de gènes à l'aide d'adénovirus (administration intraveineuse ou endobronchique) a été pratiqué pour le poumon dans des modèles de rat. Les gènes transférés avec succès incluent notamment ceux codant pour l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS) (Suzuki et coll., 2004), la protéine HSP-70 (Hiratsuka et coll., 1999) et la protéine Bcl-2 (Cooke et coll., 2005). L'utilisation de telles techniques chez l'homme est difficilement envisageable ne serait-ce que pour des raisons éthiques.

## Solutions de préservation

Les solutions utilisées pour la préservation du poumon sont de type intracellulaire comme Euro-Collins et UW (*University of Wisconsin*) ou de type extracellulaire tels que Celsior et LPD (*Low Potassium Dextran*) ou Wallwork (cf. revue de De Perrot et Keshavjee (2004) pour tableau récapitulatif de la composition de ces solutions). Le LPD est la seule solution développée spécifiquement pour le poumon avec la présence de dextran qui améliore la déformabilité des érythrocytes et empêche leur agrégation. La solution LPD a été améliorée par l'addition de glucose (solution Perfadex). Cette solution est utilisée par un grand nombre de centres. Comme pour le cœur, la concentration en potassium est considérée comme un élément important. Les solutions à fort potassium entraînent une vasoconstriction et augmentent la

production d'espèces réactives de l'oxygène par les artères pulmonaires (dépolariation des cellules musculaires lisses) dans les modèles expérimentaux chez l'animal (Kelly et coll., 2003). En clinique, de bons résultats ont été aussi obtenus pour la solution LPD-glucose (LPDG) comparée à Euro-Collins (EC) (Struber et coll., 2001 ; Müller et coll., 2002) ; cependant, le bénéfice des solutions extracellulaires est controversé dans certaines études (Aziz et coll., 2003). De Perrot et Keshavjee (2004) présentent un tableau récapitulatif de différentes études cliniques comparant les solutions LPD-glucose et Euro-Collins (tableau 10.II). Parmi les études considérées, cinq montrent une meilleure fonction initiale du greffon pulmonaire avec la solution LPDG qu'avec la solution EC, suivant des critères classiques de récupération fonctionnelle du greffon.

**Tableau 10.II : Comparaison entre LPDG (LPD-glucose perfadex) et EC (Euro-Collins) en transplantation pulmonaire clinique (d'après De Perrot et Keshavjee, 2004)**

Référence	Nombre de patients		Fonction initiale du greffon		
	LPDG	EC	LPDG	EC	p
Müller et coll., 1999	32	48	159 ± 145 <sup>3</sup>	242 ± 265 <sup>3</sup>	0,028
Fisher et coll., 2001	46	48	370 ± 133 <sup>1</sup>	310 ± 134 <sup>1</sup>	0,017
Strüber et coll., 2001	57	68	34 ± 11 <sup>2</sup>	30 ± 10 <sup>2</sup>	0,04
Aziz et coll., 2003	32	37	298 ± 88 <sup>1</sup>	267 ± 78 <sup>1</sup>	ns <sup>4</sup>
Rabanal et coll., 2003	21	25	310 ± 150 <sup>1</sup>	170 ± 102 <sup>1</sup>	< 0,05
Rega et coll., 2003a	50	50	234 ± 20 <sup>3</sup>	309 ± 19 <sup>3</sup>	0,001

<sup>1</sup> Rapport PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ; <sup>2</sup> Compliance du poumon (ml/mmHg) ; <sup>3</sup> Gradient d'oxygène alvéolaire/artériel ; <sup>4</sup> Non significatif

L'utilisation de Celsior pour le poumon a été proposée comme une alternative intéressante car elle apporte différents éléments protecteurs en plus de la composante extracellulaire (Sommer et coll., 2004) mais le bénéfice a été contesté dans d'autres travaux (Wittwer et coll., 2005). En clinique, l'étude de Thabut et coll. (2001) compare les solutions Celsior (n = 21), Cambridge (n = 64), Euro-Collins (n = 61) et UW (n = 24) sur différents paramètres. En utilisant une analyse multivariée, les auteurs montrent que les solutions de type extracellulaire sont associées à une plus faible incidence d'œdème pulmonaire, en revanche la supériorité d'une solution extracellulaire par rapport à l'autre n'est pas établie. Le contenu de la solution pourrait être plus important pour la préservation du poumon que la caractéristique intra- ou extracellulaire de la solution (Paik et coll., 2003). L'addition de composés dans les solutions de conservation peut également protéger le poumon contre l'I/R (tableau 10.III).

**Tableau 10.III : Additifs pendant la préservation (littérature récente)**

Cible	Molécule ou composé pharmacologique	Références
Substrat	Pyruvate	Peltz et coll., 2005
Œdème	PEG	Jayle et coll., 2003
Piégeur des ERO	Glutathion	Sommer et coll., 2005
Inhibition DPP IV	AB192	Zhai et coll., 2007
Donneurs de NO	FK 409	Takeyoshi et coll., 2000
	Nitroglycérine	Wittwer et coll., 2003
	Nitroprusside	Lockinger et coll., 2001
	L-arginine	Chu et coll., 2004
Co-enzyme de NOS	BH4 (tetrahydrobiopterin)	Hillinger et coll., 2001
2 <sup>nd</sup> messenger NO	8-Br-cGMP	Hillinger et coll., 2001
Inhibition p38 MAPK	FR167653	Hashimoto et coll., 2002
Inhibition JNK	SP600125	Ishii et coll., 2004
Inflammation	Prostaglandine E1	de Perrot et coll., 2001
	Iloprost	Gohrbandt et coll., 2005
	Aprotinine	Bittner et coll., 2006
Stabilisation microtubules	Paclitaxel	Suzuki et coll., 2004
Antagoniste PAF	BN52021	Fehrenbach et coll., 2001
	FR128998	Iwazaki et coll., 2001

ERO : espèces réactives de l'oxygène ; JNK : *c-JunNH2-terminal Kinase* ; NO : oxyde nitrique ; NOS : oxyde nitrique synthase ; PAF : facteur d'activation des plaquettes

## Méthodes de perfusion et de stockage

La méthode la plus utilisée en clinique et aussi la plus simple est l'administration d'une solution cardioplégique froide suivie d'un stockage hypothermique. Cette méthode est cependant l'objet de discussions concernant les conditions de l'infusion de la solution (utilisation de vasodilatateurs, pression de l'infusion), la voie de l'infusion (artère pulmonaire, oreillettes gauches, veines pulmonaires et/ou artères bronchiques), les conditions de stockage (température, oxygénation et état d'inflation du poumon).

La température de 4°C est largement utilisée mais expérimentalement de bons résultats ont été obtenus à 10°C et 12°C. Le prolongement de la préservation au froid entraîne une altération de la fonction de la barrière endothéliale caractérisée par un œdème et une infiltration des leucocytes (Hanusch et coll., 2007). Il est clair que l'effet de la température dépend de la composition de la solution, des températures plus basses étant moins délétères si la solution comprend des agents imperméants.

La voie d'infusion classique est la voie antérograde par le tronc artériel pulmonaire. La perfusion rétrograde par les veines pulmonaires ou la

perfusion des artères bronchiques ont été proposées. De bons résultats ont été obtenus avec la combinaison d'un *flush* antérograde par l'artère pulmonaire et par l'artère bronchique résultant en un refroidissement plus efficace des compartiments pulmonaires et une diminution de l'inflammation (Roe et coll., 2005). Toutefois, d'autres travaux ont montré la supériorité de l'infusion par voie rétrograde par rapport à la voie antérograde sur la récupération du greffon (Wittwer et coll., 2004a). Des méthodes alternatives à la perfusion de solutions de préservation ont également été proposées. Le refroidissement local *in situ* du greffon donne également de bons résultats surpassant même dans une étude expérimentale les résultats obtenus avec le LPD (Kutschka et coll., 2003). Une autre alternative à la perfusion de solution est l'administration de perfluorocarbones par la voie endobronchique mais la récupération de la fonction pulmonaire reste inférieure à celle obtenue avec la perfusion de la solution LPD (Loehe et coll., 2000). Ces différentes méthodes ont fait pour l'instant l'objet d'études expérimentales chez l'animal mais il n'existe actuellement aucune étude réellement convaincante chez l'homme. Elles pourraient présenter un avantage notamment pour améliorer la préservation dans le cas des prélèvements sur donneurs à cœur arrêté.

Le collapsus des alvéoles pulmonaires pendant la période d'ischémie est dommageable, aussi est-il recommandé de gonfler les poumons à 50 % de leur capacité totale. Une notion de contenu optimal en oxygène est également à considérer. Une fraction en oxygène de 50 % ou moins est recommandée en clinique pour limiter la production des ERO et la peroxydation des lipides.

## **Prétraitement**

Chez l'animal, des méthodes de prétraitement du poumon du donneur, avant la perfusion de la solution, protègent contre l'I/R. Le prétraitement du poumon a donné de bons résultats sur la récupération de l'hémodynamique pulmonaire (Koletsis et coll., 2003). Le poumon présente l'avantage de pouvoir être traité par des drogues administrées par nébulisation (Schutte et coll., 2003). Geudens et coll. (2007) ont ainsi montré qu'un prétraitement par nébulisation de N-acétyl cystéine (agissant sur le glutathion) permettait de limiter l'inflammation liée à l'I/R. La nébulisation de prostacycline et de rolipram (inhibiteur de la phosphodiesterase cAMP dépendante) avant ou au tout début de l'ischémie est un autre moyen proposé pour limiter les altérations de la microcirculation lors de la reperfusion (Schutte et coll., 2003). L'application de ces méthodes est envisageable en clinique. La nébulisation de drogues avant ou au tout début de l'ischémie pourrait être bien acceptée dans les pays avec consentement présumé pour autant qu'une objection au don d'organes n'ait pas été établie.

## Préservation des greffons « marginaux »

La nécessité d'étendre le pool des donneurs est cruciale dans le cas de la greffe pulmonaire puisqu'il est considéré qu'environ 20 % des donneurs en état de mort encéphalique ont des poumons transplantables (Geudens et coll., 2007). Comme pour les autres organes, le recours à des donneurs à cœur arrêté est une possibilité étudiée actuellement.

### *Donneurs à cœur arrêté*

Dans le cas des donneurs à cœur arrêté, les organes sont soumis à une période d'ischémie chaude précédant le prélèvement. Un certain nombre de résultats expérimentaux et cliniques montrent que le poumon peut relativement bien tolérer une heure d'ischémie chaude (Loehe et coll., 2000). En effet, la respiration cellulaire du parenchyme pulmonaire ne repose pas sur la perfusion vasculaire mais peut se faire directement à travers la paroi alvéolaire par des processus d'échange de gaz passifs. Cette propriété fait du poumon un organe favorable à des prélèvements sur des donneurs à cœur arrêté. Les lésions induites par une heure d'ischémie chaude seraient même inférieures aux altérations causées par la mort encéphalique (Neyrinck et coll., 2006). Néanmoins, ces greffons nécessitent des techniques de préservation optimisées et un certain nombre de groupes se sont intéressés à leur prise en charge. La perfusion rétrograde de la solution après la période d'ischémie chaude est conseillée pour faciliter la circulation pulmonaire (Wittwer et coll., 2004b). Le refroidissement local *in situ* ou la ventilation des poumons après la période d'ischémie chaude sont deux méthodes alternatives (Rega et coll., 2003b). D'autres moyens proposés avec de bons résultats concernent par exemple l'inhalation d'oxyde nitrique (Takashima et coll., 2006) ou d'isoflurane (Fujinaga et coll., 2006) pendant la période d'ischémie chaude ou le prétraitement par la N-acétyl cystéine (Geudens et coll., 2007). Des traitements efficaces peuvent également être réalisés au moment de la reperfusion (Ardehali et coll., 2003).

L'utilisation de poumons de donneurs à cœur arrêté nécessite aussi des méthodes d'évaluation de la fonction de ces greffons à l'aide de systèmes de perfusion et ventilation *ex vivo* (Aitchison et coll., 2001 ; Rega et coll., 2003c ; Steen et coll., 2003 ; Inokawa et coll., 2006).

### *Donneurs âgés*

L'utilisation d'organes de donneurs âgés semble problématique pour le poumon. En effet, l'impact de l'âge du donneur sur le syndrome d'I/R est significatif au-delà de 55 ans (Fiser et coll., 2001b). En particulier, le niveau de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 est inversement corrélé à l'âge du donneur.

## Conséquences post-transplantation du syndrome d'ischémie/reperfusion

Les lésions associées à l'ischémie/reperfusion ont un impact majeur sur la mortalité et la morbidité post-transplantation, notamment sur la défaillance primaire du greffon pulmonaire mais aussi sur le développement du rejet aigu et du rejet chronique.

### Défaillance primaire du greffon

La défaillance primaire du greffon (PGF pour *Primary Graft Failure*), qui se produit chez 10 à 30 % des patients, est responsable d'une morbidité et mortalité significatives après la transplantation pulmonaire (Christie et coll., 2005a). Elle est la première cause de mortalité dans les premiers jours suivant la transplantation. Ainsi, Christie et coll. (2005b) rapportent que le PGF provoque 48,7 % du nombre total de décès jusqu'à 30 jours après la transplantation. Les symptômes en sont une hypoxémie, un œdème, une perméabilité capillaire augmentée, une inadéquation entre ventilation et perfusion et des infiltrats radiographiques (Christie et coll., 2005c). L'ischémie/reperfusion est considérée comme étant le facteur principal favorisant cette complication (Prekker et coll., 2006). L'induction de l'immunité innée est étroitement liée au PGF (Carter et Davis, 2006), notamment par l'intermédiaire de modifications associées à l'ischémie favorisant l'exposition d'antigènes du soi. Il a été montré par exemple pour le poumon que le collagène de type V (Col(V)) était exposé par les événements de l'ischémie/reperfusion et activait des cellules T spécifiques. Cette auto-immunité anti-col(V) a pu être associée au déclenchement de la défaillance du greffon (Bobadilla et coll., 2008).

La défaillance primaire du greffon est un événement potentiellement réversible, il est donc important de disposer de mesures fiables permettant d'évaluer cette complication et d'intervenir à temps. Différentes mesures ont été proposées (Prekker et coll., 2006). Un score de 0 à 3 a été établi par les recommandations de la Société internationale de transplantation cardiaque et pulmonaire (ISHLT, *International Society for Heart and Lung Transplantation*), fondé sur le rapport de la pression partielle en oxygène artériel à la fraction d'oxygène inspiré (rapport P/F) et la radiographie pulmonaire (Christie et coll., 2005c). Les mesures thérapeutiques incluent une ventilation mécanique prolongée, la diurèse ainsi que l'oxygénation membranaire extracorporelle représentant une méthode très efficace de support (Hartwig et coll., 2005). La recherche de marqueurs prédictifs du PGF est un enjeu important. Certaines molécules identifiées chez le receveur constituent une piste pour la détermination de marqueurs prédictifs de la PGF. L'étude de Mathur et coll. (2006) montre une corrélation entre la concentration des cytokines dans

la circulation du receveur peu après la transplantation et le développement de la PGF. Christie et coll. (2007) ont montré qu'un niveau bas de protéine C et une concentration élevée en PAI-1 (*Plasminogen Activator Inhibitor 1*) dans le plasma du receveur dans les 72 heures suivant la transplantation étaient associés à la survenue d'une défaillance primaire du greffon.

### Rejet aigu

L'activation de l'immunité innée par l'ischémie/reperfusion joue un rôle important dans le développement du rejet aigu (Palmer et coll., 2003). Comme pour le PGF, l'exposition d'autoantigènes (col(V)), induits notamment par l'augmentation de l'activité des métalloprotéases (MMP) par l'ischémie/reperfusion, participe au rejet aigu (Yoshida et coll., 2006).

### Lésions chroniques

La principale manifestation des lésions chroniques est le syndrome de bronchiolite oblitérante (BOS) qui affecte jusqu'à 70 % des patients 5 ans après la transplantation. Les mécanismes par lesquels l'ischémie/reperfusion conduit au développement des lésions ne sont pas encore bien connus. Cependant, certains travaux suggèrent un rôle clé de l'auto-immunité (Haque et coll., 2002 ; Bharat et coll., 2006) dans le développement de la bronchiolite oblitérante. Comme dans le PGF et le rejet aigu, on retrouve le rôle du collagène V, entraînant le développement de cellules T autoréactives et le déclenchement d'une réponse auto-immune (Haque et coll., 2002). Un certain nombre d'autres événements liés à l'ischémie/reperfusion tels que la sur-régulation de molécules d'adhésion ou de cytokines pro-inflammatoires sont susceptibles d'avoir un impact sur le développement des lésions chroniques (Mathur et coll., 2006).

**En conclusion**, les lésions associées à l'ischémie/reperfusion restent un problème majeur pour la transplantation pulmonaire. Les techniques de préservation sont encore insuffisantes et leur optimisation passe par une meilleure connaissance des mécanismes délétères mis en jeu au cours de l'ischémie et de la reperfusion et de leur impact sur le développement de la dysfonction précoce du greffon et des lésions chroniques. Une meilleure compréhension des mécanismes et une amélioration des méthodes de préservation devraient non seulement accroître le succès de la transplantation mais aussi permettre de recruter un plus grand nombre de greffons. La composition des solutions de préservation utilisées en transplantation pulmonaire reste encore à optimiser ainsi que la voie de la perfusion. Par rapport aux autres organes, le poumon présente quelques spécificités pouvant être mis à profit pour améliorer

sa préservation ou pour élargir les critères de recrutement des greffons. La présence d'oxygène dans les alvéoles, indépendamment de la perfusion, permet aux poumons de supporter une période d'ischémie chaude et représente une situation favorable au prélèvement sur donneur à cœur arrêté. D'autre part, il existe une voie additionnelle d'intervention contre les dommages liés à l'ischémie/reperfusion avec la possibilité d'administrer des drogues par nébulisation, avant, pendant ou après l'ischémie. Enfin, les travaux récents sur le rôle de l'exposition du collagène de type V par l'ischémie/reperfusion dans l'induction d'une réponse immune post-transplantation sont prometteurs pour limiter la défaillance primaire du greffon et la bronchiolite oblitérante qui sont responsables actuellement de la faible survie en transplantation pulmonaire comparée aux autres organes.

## BIBLIOGRAPHIE

AITCHISON JD, ORR HE, FLECKNELL PA, KIRBY JA, DARK JH. Functional assessment of non-heart-beating donor lungs: prediction of post-transplant function. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001, **20** : 187-194

ARDEHALI A, LAKS H, RUSSELL H, LEVINE M, SHPINER R, et coll. Modified reperfusion and ischemia-reperfusion injury in human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003, **126** : 1929-1934

AZIZ TM, PILLAY TM, CORRIS PA, FORTY J, HILTON CJ, et coll. Perfadex for clinical lung procurement: is it an advance? *Ann Thorac Surg* 2003, **75** : 990-995

BHARAT A, FIELDS RC, TRULOCK EP, PATTERSON GA, MOHANAKUMAR T. Induction of IL-10 suppressors in lung transplant patients by CD4+25+ regulatory T cells through CTLA-4 signaling. *J Immunol* 2006, **177** : 5631-5638

BITTNER HB, RICHTER M, KUNTZE T, RAHMEL A, DAHLBERG P, et coll. Aprotinin decreases reperfusion injury and allograft dysfunction in clinical lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006, **29** : 210-215

BOBADILLA JL, LOVE RB, JANKOWSKA-GAN E, XU Q, HAYNES LD, et coll. Th-17, monokines, collagen type V, and primary graft dysfunction in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2008, **177** : 660-668

CARTER YM, DAVIS RD. Primary graft dysfunction in lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2006, **27** : 501-507

CHRISTIE JD, VAN RAEMDONCK D, DE PERROT M, BARR M, KESHAVJEE S, et coll. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part I: introduction and methods. *J Heart Lung Transplant* 2005a, **24** : 1451-1453

CHRISTIE JD, SAGER JS, KIMMEL SE, AHYA VN, GAUGHAN C, et coll. Impact of primary graft failure on outcomes following lung transplantation. *Chest* 2005b, **127** : 161-165

CHRISTIE JD, CARBY M, BAG R, CORRIS P, HERTZ M, et coll. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005c, **24** : 1454-1459

CHRISTIE JD, ROBINSON N, WARE LB, PLOTNICK M, DE ANDRADE J, et coll. Association of protein C and type 1 plasminogen activator inhibitor with primary graft dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 2007, **175** : 69-74

CHU Y, WU YC, CHOU YC, CHUEH HY, LIU HP, et coll. Endothelium-dependent relaxation of canine pulmonary artery after prolonged lung graft preservation in University of Wisconsin solution: role of L-arginine supplementation. *J Heart Lung Transplant* 2004, **23** : 592-598

COOKE DT, HOYT EG, ROBBINS RC. Overexpression of human Bcl-2 in syngeneic rat donor lungs preserves posttransplant function and reduces intragraft caspase activity and interleukin-1beta production. *Transplantation* 2005, **79** : 762-767

DE PERROT M, KESHAVJEE S. Lung preservation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2004, **16** : 300-308

DE PERROT M, FISCHER S, LIU M, JIN R, BAI XH, et coll. Prostaglandin E1 protects lung transplants from ischemia-reperfusion injury: a shift from pro- to anti-inflammatory cytokines. *Transplantation* 2001, **72** : 1505-1512

DE PERROT M, LIU M, WADDELL TK, KESHAVJEE S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **167** : 490-511

FEATHERSTONE RL, CHAMBERS DJ, KELLY FJ. Ischemic preconditioning enhances recovery of isolated rat lungs after hypothermic preservation. *Ann Thorac Surg* 2000, **69** : 237-242

FEHRENBACH A, WITTEWIT T, MEYER D, VON VIETINGHOFF S, VIEHOVER M, et coll. Nitroglycerin alters alveolar type II cell ultrastructure after ischemia and reperfusion. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 876-888

FISER SM, TRIBBLE CG, LONG SM, KAZA AK, COPE JT, et coll. Lung transplant reperfusion injury involves pulmonary macrophages and circulating leukocytes in a biphasic response. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001a, **121** : 1069-1075

FISER SM, KRON IL, LONG SM, KAZA AK, KERN JA, et coll. Influence of graft ischemic time on outcomes following lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001b, **20** : 1291-1296

FISHER AB, AL-MEHDI AB, WEI Z, SONG C, MANEVICH Y. Lung ischemia: endothelial cell signaling by reactive oxygen species. A progress report. *Adv Exp Med Biol* 2003, **510** : 343-347

FISHER S, MATTE -MARTYN A, DE PERROT M, WADDELL TK, SEKINE Y, et coll. Low potassium dextran preservation solution improves lung function after human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001, **121** : 594-596

FUJINAGA T, NAKAMURA T, FUKUSE T, CHEN F, ZHANG J, et coll. Isoflurane inhalation after circulatory arrest protects against warm ischemia reperfusion injury of the lungs. *Transplantation* 2006, **82** : 1168-1174

GEUDENS N, VAN DE WAUWER C, NEYRINCK AP, TIMMERMANS L, VANHOOREN HM, et coll. N-acetyl cysteine pre-treatment attenuates inflammatory changes in the warm ischemic murine lung. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 1326-1332

GOHRBANDT B, SOMMER SP, FISCHER S, HOHLFELD JM, WARNECKE G, et coll. Iloprost to improve surfactant function in porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005, **129** : 80-86

HANUSCH C, NOWAK K, GILL IS, TORLITZ P, RAFAT N, et coll. Hypothermic preservation of lung allograft inhibits cytokine-induced chemoattractant-1, endothelial leucocyte adhesion molecule, vascular cell adhesion molecule-1 and intracellular adhesion molecule-1 expression. *Clin Exp Immunol* 2007, **149** : 364-371

HAQUE MA, MIZOBUCHI T, YASUFUKU K, FUJISAWA T, BRUTKIEWICZ RR, et coll. Evidence for immune responses to a self-antigen in lung transplantation: role of type V collagen-specific T cells in the pathogenesis of lung allograft rejection. *J Immunol* 2002, **169** : 1542-1549

HARTWIG MG, APPEL JZ RD, CANTU E RD, SIMSIR S, LIN SS, et coll. Improved results treating lung allograft failure with venovenous extracorporeal membrane oxygenation. *Ann Thorac Surg* 2005, **80** : 1872-1879

HASHIMOTO N, TAKEYOSHI I, YOSHINARI D, TSUTSUMI H, TOKUMINE M, et coll. Effects of a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor as an additive to Euro-Collins solution on reperfusion injury in canine lung transplantation I. *Transplantation* 2002, **74** : 320-326

HILLINGER S, SANDERA P, CARBONI GL, STAMMBERGER U, ZALUNARDO M, et coll. Survival and graft function in a large animal lung transplant model after 30 h preservation and substitution of the nitric oxide pathway. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001, **20** : 508-513

HIRATSUKA M, MORA BN, YANO M, MOHANAKUMAR T, PATTERSON GA. Gene transfer of heat shock protein 70 protects lung grafts from ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999, **67** : 1421-1427

INOKAWA H, SEVALA M, FUNKHOUSER WK, EGAN TM. Ex-vivo perfusion and ventilation of rat lungs from non-heart-beating donors before transplant. *Ann Thorac Surg* 2006, **82** : 1219-1225

ISHII M, SUZUKI Y, TAKESHITA K, MIYAO N, KUDO H, et coll. Inhibition of c-Jun NH2-terminal kinase activity improves ischemia/reperfusion injury in rat lungs. *J Immunol* 2004, **172** : 2569-2577

IWAZAKI S, TAKEYOSHI I I, OHWADA S, SUNOSE Y, AIBA M, et coll. FR128998 (a PAF Receptor Antagonist) counters the increased pulmonary vascular resistance associated with ischemia-reperfusion injury in the canine lung. *Int J Angiol* 2001, **10** : 10-14

JAYLE C, CORBI P, EUGENE M, CARRETIER M, HEBRARD W, et coll. Beneficial effect of polyethylene glycol in lung preservation: early evaluation by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Ann Thorac Surg* 2003, **76** : 896-902

KANDILCI HB, GUMUSEL B, DEMIRYUREK AT, LIPPTON H. Preconditioning modulates pulmonary endothelial dysfunction following ischemia-reperfusion injury in the rat lung: role of potassium channels. *Life Sci* 2006, **79** : 2172-2178

KELLY RF, MURAR J, HONG Z, NELSON DP, HONG F, et coll. Low potassium dextran lung preservation solution reduces reactive oxygen species production. *Ann Thorac Surg* 2003, **75** : 1705-1710

KOLETSIS E, CHATZIMICHALIS A, FOTOPOULOS V, KOKKINIS K, PAPADIMITRIOU E, et coll. Donor lung pretreatment with surfactant in experimental transplantation preserves graft hemodynamics and alveolar morphology. *Exp Biol Med (maywood)* 2003, **228** : 540-545

KUTSCHKA I, SOMMER SP, HOHLFELD JM, WARNECKE G, MORANCHO M, et coll. In-situ topical cooling of lung grafts: early graft function and surfactant analysis in a porcine single lung transplant model. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003, **24** : 411-419

LOCKINGER A, SCHUTTE H, WALMRATH D, SEEGER W, GRIMMINGER F. Protection against gas exchange abnormalities by pre-aerosolized PGE1, iloprost and nitroprusside in lung ischemia-reperfusion. *Transplantation* 2001, **71** : 185-193

LOEHE F, MUELLER C, BITTMANN I, MESSMER K, SCHILDBERG FW. Influence of long-term preservation with endobronchially administered perfluorodecalin on pulmonary graft function. *Transplantation* 2000, **70** : 1417-1424

MARKART P, SCHMIDT R, RUPPERT C, HORES C, SILBER RE, et coll. Ischemic and endotoxin pre-conditioning reduce lung reperfusion injury-induced surfactant alterations. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1680-1689

MATHUR A, BAZ M, STAPLES ED, BONNELL M, SPECKMAN JM, et coll. Cytokine profile after lung transplantation: correlation with allograft injury. *Ann Thorac Surg* 2006, **81** : 1844-1849

MÜLLER C, FÜRST H, REICHENSPURNER H, BRIEGEL J, GROH J, REICHART B. Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury. Munich Lung Transplant Group. *Transplantation* 1999, **68** : 1139-1143

MÜLLER C, BITTMANN I, HATZ R, KELLNER B, SCHELLING G, et coll. Improvement of lung preservation -- from experiment to clinical practice. *Eur Surg Res* 2002, **34** : 77-82

NEYRINCK AP, VAN DE WAUWER C, GEUDENS N, REGA FR, VERLEDEN GM, et coll. Comparative study of donor lung injury in heart-beating versus non-heart-beating donors. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006, **30** : 628-636

PAIK HC, HOFFMANN SC, EGAN TM. Pulmonary preservation studies: effects on endothelial function and pulmonary adenine nucleotides. *Transplantation* 2003, **75** : 439-444

PALMER SM, BURCH LH, DAVIS RD, HERCZYK WF, HORWELL DN, et coll. The role of innate immunity in acute allograft rejection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **168** : 628-632

PELTZ M, HAMILTON TT, HE TT, ADAMS GA TH, KOSHY S, et coll. Lung preservation solution substrate composition affects rat lung oxidative metabolism during hypothermic storage. *Respir Physiol Neurobiol* 2005, **148** : 275-283

PREKKER ME, NATH DS, WALKER AR, JOHNSON AC, HERTZ MI, et coll. Validation of the proposed International Society for Heart and Lung Transplantation grading system for primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2006, **25** : 371-378

RABANAL JM, IBANEZ AM, MONS R, GONZALEZ AM, CARBAJO M, et coll. Influence of preservation solution on early lung function (Euro-Collins versus perfadex). *Transplant Proc* 2003, **35** : 1938-1939

REGA F, VERLEDEN G, VANHAECKE J, DAENEN W, VAN RAEMDONCK D. Switch from Eurocollins to perfadex for pulmonary graft preservation resulted in superior outcome in transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2003a, **22** : S111

REGA FR, JANNIS NC, VERLEDEN GM, FLAMENG WJ, LERUT TE, et coll. Should we ventilate or cool the pulmonary graft inside the non-heart-beating donor? *J Heart Lung Transplant* 2003b, **22** : 1226-1233

REGA FR, JANNIS NC, VERLEDEN GM, LERUT TE, VAN RAEMDONCK DE. Long-term preservation with interim evaluation of lungs from a non-heart-beating donor after a warm ischemic interval of 90 minutes. *Ann Surg* 2003c, **238** : 782-792

ROE DW, FEHRENBACHER JW, NIEMEIER MR, ZIEGER M, LABARRERE C, et coll. Lung preservation: pulmonary flush route affects bronchial mucosal temperature and expression of IFN-gamma and Gro in regional lymph nodes. *Am J Transplant* 2005, **5** : 995-1001

SCHUTTE H, SCHELL A, SCHAFFER C, GHOFRANI A, THEO SCHERMULY R, et coll. Subthreshold doses of nebulized prostacyclin and rolipram synergistically protect against lung ischemia-reperfusion. *Transplantation* 2003, **75** : 814-821

SOMMER SP, WARNECKE G, HOHLFELD JM, GOHRBANDT B, NIEDERMEYER J, et coll. Pulmonary preservation with LPD and Celsior solution in porcine lung transplantation after 24 h of cold ischemia. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004, **26** : 151-157

SOMMER SP, GOHRBANDT B, FISCHER S, HOHLFELD JM, WARNECKE G, et coll. Glutathione improves the function of porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005, **130** : 864-869

STEEN S, LIAO Q, WIERUP PN, BOLYS R, PIERRE L, et coll. Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg* 2003, **76** : 244-252

STRÜBER M, WILHELMI M, HARRINGER W, NIEDERMEYER J, ANSSAR M, et coll. Flush perfusion with low potassium dextran solution improves early graft function in clinical lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001, **19** : 190-194

SUZUKI S, BING H, SUGAWARA T, MATSUDA Y, TABATA T, et coll. Paclitaxel prevents loss of pulmonary endothelial barrier integrity during cold preservation. *Transplantation* 2004, **78** : 524-529

TAKASHIMA S, KOUKOULIS G, INOKAWA H, SEVALA M, EGAN TM. Inhaled nitric oxide reduces ischemia-reperfusion injury in rat lungs from non-heart-beating donors. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006, **132** : 132-139

TAKEYOSHI I, OTANI Y, YOSHINARI D, KAWASHIMA Y, OHWADA S, et coll. Beneficial effects of novel nitric oxide donor (FK409) on pulmonary ischemia-reperfusion injury in rats. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 185-192

THABUT G, VINATIER I, BRUGIÈRE O, LESÈCHE G, LOIRAT P, et coll. Influence of preservation solution on early graft failure in clinical lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, **164** : 1204-1208

WALDOW T, ALEXIOU K, WITT W, ALBRECHT S, WAGNER F, et coll. Protection against acute porcine lung ischemia/reperfusion injury by systemic preconditioning via hind limb ischemia. *Transpl Int* 2005, **18** : 198-205

WITTWER T, ALBES JM, FEHRENBACH A, PECH T, FRANKE UF, et coll. Experimental lung preservation with Perfadex: effect of the NO-donor nitroglycerin on postischemic outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003, **125** : 1208-1216

WITTWER T, FRANKE U, FEHRENBACH A, MEYER D, SANDHAUS T, et coll. Impact of retrograde graft preservation in Perfadex-based experimental lung transplantation. *J Surg Res* 2004a, **117** : 239-248

WITTWER T, FRANKE UF, FEHRENBACH A, SANDHAUS T, PFEIFER F, et coll. Lung retrieval from non-heart-beating donors: first experience with an innovative preservation strategy in a pig lung transplantation model. *Eur Surg Res* 2004b, **36** : 1-7

WITTWER T, FRANKE UF, FEHRENBACH A, OCHS M, SANDHAUS T, et coll. Experimental lung transplantation: impact of preservation solution and route of delivery. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1081-1090

YOSHIDA S, HAQUE A, MIZOBUCHI T, IWATA T, CHIYO M, et coll. Anti-type V collagen lymphocytes that express IL-17 and IL-23 induce rejection pathology in fresh and well-healed lung transplants. *Am J Transplant* 2006, **6** : 724-735

ZHAI W, CARDELL M, DE MEESTER I, AUGUSTYNS K, HILLINGER S, et coll. Intragraft DPP IV inhibition attenuates post-transplant pulmonary ischemia/reperfusion injury after extended ischemia. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 174-180