

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA
IN SCIENZE CHIRURGICHE
CICLO XXIX

Settore Concorsuale di afferenza: E6/01

Settore Scientifico disciplinare: MED/21

TITOLO TESI

“LUNG TRANSPLANTATION (LT_x) FOR PULMONARY
HYPERTENSION ON VENOARTERIAL EXTRACORPOREAL
MEMBRANE OXYGENATION (ECMO) AND
PROLONGATION OF THIS SUPPORT INTO THE POST-
OPERATIVE PERIOD IN ORDER TO PREVENT PRIMARY
GRAFT DYSFUNCTION (PGD)”

Coordinatore Dottorato

Prof. Annalisa Patrizi

Presentata da

Dott.ssa Giulia Luciano

Relatore

Prof. Franco Stella

ESAME FINALE ANNO 2017

Indice

1.Introduzione	3
Cenni storici	4
2. Trattamento dell’Ipertensione Arteriosa Polmonare (PAH)	6
Terapie mediche	6
Trapianto Polmonare	7
3. <i>Early Graft Failure</i> (EGF)	9
4. <i>Extracorporeal Membrane Oxygenation</i> (ECMO)	11
5. Obiettivo della Ricerca	13
6. Protocollo di Studio	14
Database clinico	14
Pazienti e Metodi	14
Monitoraggio	15
Strategia per l’ECMO prolungato	15
7. Risultati	17
Dati demografici	17
Tecnica di trapianto bilaterale del polmone (BLTX)	17
Durata del supporto ECMO	18
<i>Outcome</i>	18
8. Conclusioni	21
9. Bibliografia	24

1. INTRODUZIONE

L'ipertensione arteriosa polmonare idiopatica (IPAH) è una rara patologia progressiva vascolare di cui è affetto approssimativamente un soggetto su un milione (1) senza causa apparente, definita clinicamente come una aumentata pressione del letto pre-capillare in assenza di malattia cardiaca congenita o acquisita, patologie tromboemboliche, disordini veno-occlusivo polmonari, malattie primitive parenchimali o interstiziali, o disordini collageneo-vascolari.

L'IPAH viene comunemente diagnosticata tardi, è associata ad alta morbilità e mortalità e non trattata porta a scompenso cardiaco destro e morte in meno di tre anni (2).

Il trapianto cuore-polmone e, successivamente, trapianto il mono e bi-polmonare, assieme all'introduzione delle Prostaciline come terapia medica, hanno aumentato significativamente la sopravvivenza di questa insidiosa patologia.

L'iniziale schema classificativo del 1973 che includeva le due sole categorie PAH primaria e secondaria (3), venne espanso successivamente a comprendere 5 gruppi (Evian, 1998)(4).

Soltanto nel 2003 in occasione del III Simposio sull'Ipertensione Arteriosa Polmonare tenutosi a Venezia sono stati definitivamente abbandonati i termini primaria e secondaria.

L'ultimo Simposio sull'Ipertensione Polmonare tenutosi a Nizza nel Febbraio 2013 ha visto quasi immutati i criteri per la definizione di Ipertensione polmonare: ai requisiti di Pressione Arteriosa Polmonare media (mPAP) ≥ 25 mmHg a riposo e pressione d'incuneamento capillare ≤ 15 mmHg è stato aggiunto il criterio relativo alle resistenze vascolari polmonari che per diagnosticare una Ipertensione Arteriosa Polmonare devono essere < 3 Woods. Il cut-off di una Pressione Arteriosa Media (mPAP) ≥ 25 mmHg venne scelto in quanto stima utilizzata nei clinical trials e nei precedenti Registri sulla Ipertensione Polmonare.

La Classificazione diagnostica è rimasta pure quasi del tutto identica se paragonata a quella presentata al precedente simposio, Dana Point 2008.

La nomenclatura ha continuato ad essere rivisitata ed è andata ad includere le mutazioni genetiche associate (Dana Point, 2008 -Nice 2013).

Questo lavoro fa riferimento prevalentemente alla Ipertensione Arteriosa Polmonare PAH (Gruppo 1)(Fig 1) se non altrimenti specificato.

1. Pulmonary arterial hypertension 1.1 Idiopathic PAH 1.2 Heritable PAH 1.2.1 BMPR2 1.2.2 ALK1, ENG, SMAD9, CAV1, KCNK3 1.2.3 Unknown 1.3 Drug- and toxin-induced 1.4 Associated with 1.4.1 Connective tissue diseases 1.4.2 HIV infection 1.4.3 Portal hypertension 1.4.4 Congenital heart disease (update) 1.4.5 Schistosomiasis	3. PH due to lung diseases and/or hypoxia 3.1 COPD 3.2 Interstitial lung disease 3.3 Other pulmonary diseases with mixed restrictive and obstructive pattern 3.4 Sleep-disordered breathing 3.5 Alveolar hypoventilation disorders 3.6 Chronic exposure to high altitude 3.7 Developmental lung diseases
1'. Pulmonary veno-occlusive disease and/or pulmonary capillary hemangiomatosis 1". PPHN 2. PH due to LHD 2.1 LV systolic dysfunction 2.2 LV diastolic dysfunction 2.3 Valvular disease 2.4 Congenital/acquired left heart inflow/outflow obstruction	4. CTEPH 5. PH with unclear multifactorial mechanisms 5.1 Hematological disorders: chronic hemolytic anemia, myeloproliferative disorders, splenectomy 5.2 Systemic disorders: sarcoidosis, pulmonary Langerhans cell histiocytosis, lymphangioliomyomatosis, neurofibromatosis, vasculitis 5.3 Metabolic disorders: glycogen storage disease, Gaucher disease, thyroid disorders 5.4 Others: tumoral obstruction, fibrosing mediastinitis, chronic renal failure, segmental PH

Simonneau G et al. JACC 2013;62:D34-41.

Fig 1 Schema classificativo diagnostico per l'ipertensione Polmonare. Tabella adattata dalla Classificazione aggiornata di PH presentata al Quinto Simposio Mondiale Sull'ipertensione Polmonare, Nizza 2013.

Cenni Storici

Per alcune centinaia di anni, dal monumentale lavoro di William Harvey che iniziò alla moderna Cardiologia "Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animabilibus" del 1628 (5), dove le basi del sistema circolatorio venivano descritte correttamente e per la prima volta si faceva cenno ai capillari polmonari che Malpighi pochi anni dopo guardò al microscopio, i ritrovamenti autoptici di anomalie nelle arterie polmonari hanno intriguato la comunità medica.

Ciò che veniva accettato era che l'arteriosclerosi polmonare fosse l'evidenza morfologica dell'ipertensione arteriosa polmonare cronica. L'eziologia restava tuttavia un mistero.

Romberg fu il primo a descrivere e dare il nome alla "sclerosi arteriosa polmonare" nel 1891 (6).

Mentre la prima descrizione sistematica anatomica venne realizzata dal Fisico britannico Brenner nel 1935 (7).

A quest'ultimo si deve l'aver finalmente confutato l'eziologia sifilitica dell'ipertensione polmonare. Inoltre, quale anatomopatologo, egli notò per primo l'esistenza di piccole arterie muscolari ed arteriole alla base della patologia ipertensiva polmonare. Non riconobbe, tuttavia, il ruolo della vasocostrizione nella patogenesi ed il suo effetto nella fisiopatologia, né vide l'associazione tra le lesioni vascolari e l'ipertrofia ventricolare, guardando ad esse come ad entità separate di "causa ignota".

L'inizio del ventesimo secolo segnò la nascita della Medicina Cardiopolmonare moderna con nuove acquisizioni sulla fisiologia emodinamica polmonare, merito delle

innovazioni tecnologiche per la misurazione diretta della circolazione polmonare fino ad allora inaccessibile.

La possibilità di cateterizzare il cuore destro nell'uomo venne per lungo tempo considerata azzardata dalla comunità medica la quale, generalmente, non riteneva fattibile l'inserimento di cateteri nelle camere cardiache senza complicazioni fatali.

Werner Frossman provò a contrastare questi convincimenti dimostrando, curiosamente, su sè medesimo, che cateterizzando la Vena cefalica si otteneva una scansione radiografica del cuore, nel 1929. Ma il suo gesto coraggioso, propulsore della Cardiologia Invasiva, se da un lato continuò a venire criticato, rese successivamente possibile la misurazione dell'*output* cardiaco e delle resistenze vascolari, componenti critiche nella definizione dell'ipertensione polmonare (1,8).

Nel 1940 la cateterizzazione del cuore destro divenne di largo dominio in Europa, Sud-Africa e Stati Uniti prima con test su animali poi sull'uomo.

Venne quindi realizzato un catetere flusso-diretto con *baloon* gonfiabile per misurare la pressione in atrio sinistro su animale, seguito da una tecnica per misurare la pressione capillare nell'uomo (9).

Nel 1970 William Ganz e Harold J C Swan introdussero il catetere con palloncino multilume che permise di spostare l'esecuzione della procedura dalla sala fluoroscopica al letto del malato (10).

David Dresdale aveva intanto, nel 1951, riportato per primo le variabili emodinamiche legate all'ipertensione polmonare senza causa ovvia, e conì il nome "ipertensione polmonare primaria" per quella che è oggi chiamata ipertensione arteriosa polmonare idiopatica (IPAH) (11).

Da quel momento numerosi isolati studi tesero a dimostrare l'efficacia dei vasodilatatori nel trattamento della malattia.

L'avvento dei farmaci calcio antagonisti, noti per inibire la vasocostrizione ipossica, e le prove di efficacia dell'idralazina, accesero interesse nel *management* aggressivo di questa sfuggente malattia.

La descrizione di Ipertensione Arteriosa Polmonare (PAH) più completa venne da Wagenvoort e Wagenvoort nel 1970 con 156 casi di Ipertensione Polmonare raccolti in tutta Europa (12). Insieme ad Heath ed Edwards questi svilupparono uno schema di severità dell'arteriopatia per gradi, e delle specifiche lesioni, inclusa la fibrosi intimale concentrica, l'ipertrofia della media, le lesioni plessiformi, la trombosi *in situ* e le lesioni dilatative.

Queste descrizioni anatomiche costituiscono tuttora le basi degli studi sulla patogenesi di questa malattia.

L'ipertensione Arteriosa Polmonare fu il topic del meeting di Ginevra della World Health Organization nel 1973, dove le conoscenze cliniche e patologiche della malattia vennero per la prima volta indicate da una Consensus Conference. (13)

2. TRATTAMENTO DELL'IPERTENSIONE ARTERIOSA POLMONARE (PAH)

Terapie Mediche

L'accurata diagnosi e l'effettivo trattamento dell'Ipertensione Polmonare Primitiva (PPH) ha rappresentato un trionfo della Medicina raggiunto grazie alla collaborazione di moltissimi scienziati clinici negli ultimi vent'anni.

I primi anni 80 videro l'istituzione di un Registro finanziato dall'Istituto Nazionale della Salute, merito di Al Fishman, dove si riportavano i dati demografici, emodinamici, le sopravvivenze e le terapia della PPH (14).

Questo permise di mettere in risalto come l'Ipertensione Arteriosa Polmonare possa essere risultato di molte patologie, inclusi i disordini immunologici, l'infezione da HIV, l'ipertensione portale.

Tuttavia due scoperte hanno cambiato drammaticamente la prognosi nei pazienti con ipertensione arteriosa polmonare: le prostacicline e il trapianto polmonare.

La scoperta delle prostacicline si deve al Premio Nobel John Vane e venne portata avanti dal lavoro di Moncada.

Le prostacicline agiscono sulla vasodilatazione polmonare e sull'inibizione della crescita delle cellule muscolari lisce.

L'epoprostenolo, nome commerciale delle prostacicline, veniva inizialmente utilizzato per infusioni endovenose. L'uso endovenoso di questo farmaco come dimostrato da un importante studio-controllo randomizzato migliora i sintomi, l'emodinamica, e si è dimostrato l'unico ad aumentare la sopravvivenza dei pazienti con IPA (fino al 55% a 5 anni). (15)

Una recente meta-analisi che raccoglie *trial* clinici *goal-oriented* per la terapia della PAH mostra come il trattamento attivo causi una riduzione globale della mortalità del 43%. (16)

Successivamente, intorno al 2000, sistemi alternativi di somministrazione di questo farmaco come la via sottocutanea, aerosol ed orale sono stati adottati, dimostrandosi una promessa nella cura dell'Ipertensione Polmonare.

Il continuo progresso scientifico ha portato alla scoperta dell'efficacia di analoghi delle prostacicline (treprostinil, iloprost), degli inibitori delle fosfodiesterasi-5 (PDE5) (sildenafil, tadalafil) (17) e degli anatagonisti dei recettori dell'endotelina (bosentan, ambrisentan). Queste combinazioni hanno ridotto il ricorso all'uso costoso e complesso dell'epoprostenolo endovenoso.

Le nuove frontiere farmaceutiche nel trattamento dell'ipertensione polmonare mirano ad interdire le anomalie di segnale che conducono alla vasculopatia.

Trapianto polmonare

Ad oggi il trapianto polmonare va considerato nei pazienti che restano nella classe funzionale IV WHO per i quali non è atteso un miglioramento prognostico e in cui non vi è ottimizzazione del trattamento con le terapie combinate.

Il trapianto cuore-polmone ha visto progressivamente crescere l'indicazione al trattamento delle patologie vascolari polmonari e, in particolare, dell'ipertensione polmonare severa.

Nel 1981, un primo trapianto cuore-polmone venne realizzato a Stansford da Norman Shumway, John Wallwork, and Bruce Reitz in una paziente con "ipertensione arteriosa primaria *end-stage*" che sopravvisse poco più di 5 anni e morì per cause non legate al trapianto, senza segni autoptici di rigetto. (18)

Il successo di questo primo e di repliche successive è stato limitato principalmente dalla scarsità di donatori.

Tuttavia, in breve tempo, il trapianto monopolmonare e il trapianto bilaterale sequenziale polmonare vennero favoriti quali opzioni chirurgiche nell'ipertensione polmonare *end-stage* nel paziente refrattario a terapia medica (19).

Il trapianto mono-polmonare, chiaramente corredato da minori difficoltà tecniche e di reclutamento organi, fu realizzato per la prima volta da Joel Cooper nel 1986 in un caso di fibrosi polmonare. Il *single-lung transplant* si è dimostrato una più accessibile risorsa nel trattamento dell'Ipertensione Polmonare 1,3,5 (Dana Point 2008).

Il numero di trapianti polmonari continua a crescere ogni anno: nel 2014 sono stati registrati all' ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation) Transplant Registry 3973 trapianti polmonari su adulto (20).

Per quanto riguarda le indicazioni dal 1995 al 2015 sono stati registrati 1435 trapianti mono e bi-polmonari in totale per IPAH (2.9% delle totali indicazioni), preceduti da quelli per COPD, maggiore delle indicazioni, (31.3%), per polmonite interstiziale idiopatica (IIP)(24.5%), fibrosi cistica (CF) (15.8%) , pneumopatia interstiziale (ILD non IIP)(5.2%), deficit di alfa1-antitripsina (A1ATD) (4.1%).

I soggetti sottoposti a trapianto polmonare per ogni indicazione tra il Gennaio 1990 e il Dicembre 2014 hanno registrato una sopravvivenza ad un anno dell'80%, che diventa del 65% a tre anni, 54% a 5 e 32 a 10 anni. La sopravvivenza condizionale media per coloro che sopravvivono al primo anno è di otto anni.

Il trapianto bi-polmonare è ad oggi terapia accettata (4.2% delle totali indicazioni per l'ipertensione polmonare severa dove le caratteristiche del paziente delineano un profilo che predispone ad una peggior prognosi (ESC-ERS-ISLHT guidelines) nonostante terapia medica specifica.(21)

I dati pubblicati dall' International Society for Heart and Lung transplantation (ISHLT) aggiornati al 2016 mostrano, infatti, come la mortalità precoce (0-30 gg) a

seguito di trapianto mono e bi-polmonare per ogni indicazione sia stata principalmente legata all'edema da ri-perfusione (*early graft failure*) (24.5%) e infezioni non -CMV (19.1%).

A contribuire significativamente ai decessi post-trapianto precoci vi sono, poi, il danno d'organo multiplo (MOF) e cause tecniche come quelle legate alla procedura chirurgica in sè.

L'EGF o PGD (*early graft failure-primary graft dysfunction*) definito come morte o ri-trapianto associato a disfunzione del graft entro 30 giorni dal trapianto, è causa di mortalità precoce nel 30.7% dei casi trapianto polmonare per IPAH.

A differenza delle altre indicazioni a trapianto polmonare, la mortalità ad un anno nell'IPAH è principalmente condizionata dalla mortalità entro i primi 30 giorni.

A tre mesi dal trapianto i riceventi con IPAH hanno la massima mortalità (23%), laddove i riceventi con indicazione COPD o fibrosi cistica (CF) vedono la mortalità più bassa (9%) (20).

I pazienti con IPAH sottoposti a trapianto polmonare continuano ad avere la più alta proporzione di morti dopo i 10 anni (23.3%) per EGF, seguita dalla bronchiolite obliterizzante (21.7%). Da sottolineare come, a differenza delle altre indicazioni a trapianto polmonare, la sopravvivenza a lungo termine nei pazienti con IPAH, è particolarmente condizionata dalla mortalità entro i primi 30 giorni.

La diagnosi di Ipertensione Arteriosa Polmonare rappresenta il maggior fattore di rischio categorico per mortalità ad un anno con un rischio relativo [RR](95% CI) di 1.73 (1.28-2.34) p-value 0,0003. (22)

Tuttavia, quando i riceventi con PAH sopravvivono ad almeno un anno, essi hanno una simile, se non migliore, sopravvivenza a lungo termine paragonata a quella di pazienti con altre patologie polmonari sottoposti a trapianto polmonare.

3. EARLY GRAFT FAILURE (EGF)

Di qui il ruolo centrale del danno di *graft* precoce (EGF) che rappresenta un significativo problema nel ricevente con IPAH (come in tutti pazienti con aumentate pressioni arteriose polmonari in genere) ed è associato ad un aumentata mortalità.

La condizione di EGF è stata menzionata con svariati nomi che riflettono la difficoltà nello stabilire una definizione o una caratterizzazione basati su criteri standardizzati ed unificati.

Si è quindi parlato di edema da riperfusione, sindrome ischemia-riperfusione, risposta da re-impianto, edema da re-impianto o disfunzione precoce del *graft*.

Sul trentaduesimo "Official Adult Lung and Heart-Lung Transplantation Report - 2015-focus on: early graft failure" la definizione di EGF comprende i decessi e i ri-trapianti associati a disfunzione del *graft* entro 30 giorni dal trapianto e tutti gli eventi che hanno condotto a morte o ri-trapianto per cause sconosciute, secondo i Centri di riferimento, làdove la disfunzione intrinseca del *graft* è stata considerata più verosimile di una causa ovvia non riportata.

Tuttavia, nella trapiantologia polmonare ci si riferisce più selettivamente a PGD (*primary graft dysfunction*).

La PGD rappresenta il risultato di una serie di circostanze tra la quali è inclusa la morte cerebrale, la conservazione del *graft*, l'impianto dello stesso, la riperfusione successiva, oltre ad altri fattori come l'aspirazione di acidi, la polmonite e i microtraumi da ventilazione meccanica.

Questa è responsabile di quasi un terzo delle morti precoci post-trapianto la cui causa comune sta nel danno continuo da ischemia-riperfusione con la generazione di specie reattive dell'Ossigeno (ROS).

Le alterazioni dell'endotelio, insieme all'aumentata resistenza vascolare polmonare, e l'aumentata permeabilità capillare che ne consegue, producono una cascata di eventi che conducono all'edema del *graft*. (23,24,25)

Quest'ultimo è esacerbato dal largo quantitativo di sangue diretto al *graft*, viste le più alte resistenze nel polmone nativo. (26)

Il danno alveolare diffuso che ne consegue si manifesta clinicamente come progressiva ipossiemia, diminuita *compliance* polmonare, emorragia ed infiltrati polmonari radiografici senza altre identificabili cause.

La definizione di PGD è stata standardizzata e pubblicata nel 2005 dall' ISHLT (Primary Graft Dysfunction Taxonomy) e si basa sulla presenza radiologica di infiltrati polmonari e sul rapporto PaO₂/FiO₂ (P/F) registrato in diversi momenti a distanza del trapianto. (Tab 1)

2005 ISHLT PRIMARY GRAFT DYSFUNCTION TAXONOMY

GRADE	AT	T0,	RADIOGRAPHIC	PaO ₂ /FiO ₂	Specific exceptions
	T24, T48, T72		INFILTRATES CONSISTENT WITH DIFFUSE PULMONARY EDEMA		
0		-		Any	
1		+		>300	On nasal canula or FiO ₂ <0.3
2		+		200-300	
3		+		<200	Any patients on ECMO or or NO with FiO ₂ >0.5 MV

Tab.1 Tabella adattata dal 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.(Christie JD, Carby M, Bag R, et al.)(27)

Il by-pass di parte della portata cardiaca (particolarmente elevata nel cuore destro cronicamente esercitato dei pazienti con IPAH^[11]) diretto al letto vascolare del *graft* polmonare risulta in una riduzione della pressione di perfusione , danno meccanico e stress endoteliale . (28,29)

Una volta che l'edema si è stabilito, il trattamento prevede una ventilazione con alte pressioni e supporto emodinamico con alte dosi di inotropi.

E', tuttavia, proprio questo trattamento che esacerba i già preesistenti danni polmonari a causa dell'eccessiva espansione polmonare e conseguente aumento delle pressioni polmonari arteriolari.

Una ventilazione protettiva con pressioni di perfusione controllate, e basso volume *tidal* sono accettatamente riconosciute come fondamentali strategie di recupero di un polmone con danno da ri-perfusione.

4. EXTRACORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION (ECMO)

L'ECMO Venoso-Arterioso (V-A) e Venoso-Venoso (V-V) è stato utilizzato come terapia di salvataggio nel danno di *graft* conclamato (PGD severa) con ipossiemia refrattaria, làdove le misure anestesologiche e mediche di supporto quali la ventilazione protettiva, la restrizione di fluidi, l'NO o le prostacicline non sono state sufficienti.

Con ECMO si fa riferimento a una serie di metodi per la ossigenazione extracorporea e la rimozione di CO₂ per un prolungato, ma temporaneo, *life support* in pazienti con severe condizioni cardio-respiratorie.

La tecnica prevede la connessione del sistema di circolazione corporea ad una pompa sanguigna extracorporea e un "polmone artificiale".

L'ECMO si basa sul concetto di "mettere il *graft* a riposo", consentendo il mantenimento scambi gassosi con condizioni di riperfusione d'organo ottimali grazie a impostazioni di ventilazione protettive (bassa pressione di perfusione e basso volume Tidal).

L'applicazione dell'ECMO come supporto nel recupero dell'edema da riperfusione, dopo trapianto polmonare, può, come è riportato in letteratura, riportatamente garantire tassi di sopravvivenza potenzialmente buoni rispetto ai casi in cui questo support non era stato necessario.

Infatti, seppure la mortalità resta inizialmente maggiore nei primi, il rischio di morte nei pazienti dove è stata istituita l'ECMO che sopravvivono ad un anno è equivalente ai controlli. (30)

Un vasto studio retrospettivo del 2009 riporta l'applicazione di ECMO dopo trapianto polmonare (giorno 0-7) nei pazienti con PGD con una durata media del supporto di 5,5 giorni e ottenimento del *weaning* respiratorio in due terzi di pazienti. Lo studio ha dimostrato come nei pazienti svezzati dall'ECMO, seppure la sopravvivenza a 30 giorni, ad un anno e 5 anni (rispettivamente di 80, 59 e 33%) risulta ECMO (p 0,005), se si ottiene il recupero dell' *graft* dall'insulto iniziale le sopravvivenze a lungo termine dei due gruppi sono sovrapponibili.

Simili risultati erano stati registrati in altri studi. (31)

Nel ricevente con IPAH, a piu' alto rischio di sviluppare PGD, l'istituzione di ECMO profilattica intraoperatoria e il prolungamento di questa nel post-operatorio viene adottata oggi con soddisfacenti *outcome* a medio termine (sopravvivenza a un anno).

Un recentissimo lavoro pubblicato sull'European Journal of Cardio-Thoracic Surgery riporta un'esperienza su 38 pazienti con Ipertensione Arteriosa Polmonare severa sottoposti a trapianto bipolmonare ed ECMO "profilattica"prolungata nel post-operatorio.(32)

I risultati dello studio mostrano come la sopravvivenza a 1-3 e 5 anni non inferiore a quella di pazienti trapiantati per altre indicazioni e un miglioramento della funzionalità cardiaca a un anno.

I recenti sviluppi tecnici hanno visto la produzione di sistemi ECMO con membrane di alta prestazione e circuiti rivestiti che, insieme, hanno significativamente migliorato i risultati.

5. OBIETTIVO DELLA RICERCA

Studi clinici randomizzati (RCT) tesi a validare gli effetti dell'uso profilattico intra- e post-operatorio dell'ECMO nel trapianto polmonare per Ipertensione Arteriosa Polmonare PAH e il suo potenziale nella prevenzione del PGD non sono stati realizzati ad oggi.

Questa ricerca è stata mirata a sondare la sicurezza ed efficacia dell'uso prolungato dell'ECMO sul graft polmonare dopo trapianto bilaterale del polmone (BLTX) nei pazienti con PAH.

In particolare, sono stati investigati i fattori quali marginalità del donatore, caratteristiche del ricevente, preservazione del graft, tecniche di riperfusione, tempistiche dell'instaurazione dell'ECMO e tipologia di ECMO, che potrebbero predisporre alla disfunzione precoce da re-impianto.

6. PROTOCOLLO DI STUDIO

Database Clinico

Abbiamo realizzato un'analisi retrospettiva e un *trial* clinico randomizzato di tutti i casi di PAH (in accordo con la classificazione aggiornata di Ipertensione Polmonare, Dana Point 2008-Nice 2013) trattati con trapianto bilaterale del polmone presso il Policlinico S.Orsola –Malpighi.

Sono stati analizzati tutti i casi presenti nel database istituzionale dal Gennaio 2001 fino al termine del periodo di arruolamento nel programma, Giugno 2016

Sono stati inseriti nello studio i dati relativi sia ai pazienti sottoposti a trapianto polmonare presso il nostro Centro in cui il supporto ECMO è stato prolungato nel post-operatorio sia a pazienti che non ne hanno necessitato.

Dall'inizio del "programma Ecmo", Gennaio 2014, tutti i nuovi casi di trapianto polmonare per PAH, Classi WHO III-IV, sono stati registrati prospetticamente.

Pazienti e Metodi

I riceventi arruolati nel "programma ECMO" sono stati divisi in due gruppi di studio: Gruppo A che ha incluso tutti i casi di PAH dove l'ECMO è stata utilizzata durante il trapianto e discontinuata alla fine della procedura, e Gruppo B, dove il supporto è stato prolungato nel post-operatorio fino a quando le condizioni cliniche non hanno permesso la rimozione dello stesso.

La continuazione dell'assistenza ECMO nel post-operatorio è stata decisa sulla base di condizioni "donatore relate", "ricevente relate", o la commistione di entrambe.

"Organi marginali" sono stati considerati quelli di donatori con età maggiore di 45 anni, PaO₂/FiO₂ ratio <350, fumatori, con Radiografia del Torace non pulita, tempo di ischemia superiore a 6 ore.

I Riceventi sono stati considerati idonei a ricevere un supporto ECMO prolungato nel post-operatorio quando sono stati ritenuti "pazienti ad alto rischio" (diagnosi di PAH, lunga durata di ECMO intra-operatoria) o/e sono state registrati segni di deterioramento del *graft* (elevate pressioni post-impianto con Pressione arteriosa sistolica polmonare >90 mmHg), segni di edema da riperfusione precoce (PGD), ipossiemia (PaO₂ inferiore a 90 mmHg), necessità di alte dosi di inotropi, scarsa *compliance* polmonare e impossibilità alla ventilazione protettiva.

La diagnosi di PGD ha rispettato la definizione pubblicata nel 2005 dal gruppo di lavoro dell'ISHLT (33) sulla disfunzione di *graft* precoce (Tab 1). La PGD è stata valutata in due momenti: immediatamente dopo il trapianto (t0) e a 72 ore dal trapianto (t72).

La funzionalità del *graft* è stata comparata nei due gruppi sulla base della

misurazione quotidiana del P/F, la mPAP, la pressione di picco, la saturazione venosa mista (SVO2), la compliance dinamica polmonare, il peso del volume acquoso polmonare extravascolare (wet/dry weight ratio).

Monitoraggio

I valori delle resistenze aeree e della pressione di picco sono stati monitorati dal ventilatore, il volume acquoso polmonare misurato dal catetere Picco, la mPAP e SVO2 sono deducibili dal catetere Swan Ganz.

La frequenza cardiaca, la pressione arteriosa sistemica, la saturazione d'ossigeno, la pressione venosa centrale sono state continuamente monitorate.

L'Ecocardiogramma transesofageo (TEE) è stato eseguito durante l'induzione dell'anestesia. Durante le manovre di pneumonectomia il TEE è stato utilizzato per monitorare la contrattilità ed il volume delle camere cardiache o la presenza di embolismo gassoso.

Cinque biopsie polmonari, contenenti almeno 5 alveoli ciascuna, sono state eseguite da due diversi lobi polmonari (solitamente il lobo polmonare inferiore destro e il lobo medio) per esame istopatologico teso ad individuare segni precoci di PGD.

Strategia per l'ECMO prolungato

L'assistenza ECMO è stata impiantata tramite cannulazione veno-arteriosa femorale nella maggior parte dei casi. In un solo caso (3%) è stata realizzata una cannulazione centrale.

L'intero apparato ECMO è un sistema chiuso costituito dal circuito pre-eparinato Medtronic Carmeda, Inc (Minneapolis, MN, USA), un ossigenatore a membrana del tipo a fibra cava di polimetilpentene (PMP) con scambiatore di calore incorporato, una pompa centrifuga (Bio-Medicus), un sensore di flusso e cannule (una cannula di afflusso, venosa, e una cannula di deflusso, arteriosa) rivestite di eparina.

Albumina Umana (5%, 500 mL) in 500 mL di Soluzione fisiologica con 1000 UI di Eparina sono state usate come *priming*.

Il flusso dell'ECMO è stato impostato al 50% della portata cardiaca (CO) predetta.

Dopo l'impianto del primo *graft* polmonare la velocità di flusso è stata modulata al fine di mantenere una mPAP <35 mmHg, una pressione parziale di CO₂ di fine espirazione (ETCO₂) di circa 20 mmHg, una pressione parziale di O₂ di almeno 80 mmHg in Arteria Radiale destra, una MAP > 60 mmHg e un ematocrito (HCT) > 30%.

La SVO₂ è stata mantenuta ad un valore > 60% con normale indice e portata cardiaca.

Durante l'ECMO è stata perseguita una Ventilazione Protettiva (Bi-PAP, TV 4-6ml/kg, 5PEEP, FIO₂ 40%).

L'ECMO è corredato di diversi presidii che consentono il monitoraggio continuo di parametri quali la saturazione di ossigeno venosa e arteriosa, l'emoglobinemia, l'ematocrito, la temperatura nasofaringea, l'EKG, la pulsossimetria, il volume urinario, la pressione colloidale-osmotica e le pressioni arteriosa, venosa e polmonari centrali.

Si è evitata la scoagulazione per le prime 48-72 ore o fino a risoluzione delle perdite ematiche.

Il Tempo di Coagulazione Attivata (ACT) è stato costantemente misurato; esso permette di valutare lo stato attuale dell'anticoagulazione del sistema, situazione che generalmente deve corrispondere a 1.5 volte il livello normale del paziente. Nel nostro campione di studio è stato mantenuto tra 180-200 secondi.



Fig .2 Paziente sottoposto a trapianto bilaterale del polmone per PAH in V-A ECMO femoro-femorale.

7. RISULTATI

Dati Demografici

Nel contesto del Programma Trapianto di Cuore e Polmone del Policlinico S.Orsola Malpighi 31 pazienti (64,58% delle totali indicazioni) con diagnosi di ipertensione polmonare (PH) sono stati sottoposti a trapianto di polmone o cuore-polmone dal Gennaio 2001 al Novembre 2016.

Sono stati eseguiti 26 trapianti bi-polmonari (84%), 1 trapianto bi-lobare (3%), 4 trapianti cuore-polmone (13%).

In tutti casi di IPAH (PAH, Categoria 1.1, Nice 2013) sono stati eseguiti trapianti bi-polmonari (BLTX).

Del totale dei pazienti con Ipertensione Polmonare le sottostanti diagnosi erano prevalentemente appartenenti al Gruppo 1, PAH (Pulmonary Arterial Hypertension), della Classificazione Diagnostica corrente (Nice 2013) : IPAH in 16 casi (48%), PAH in Eisenmenger Syndrome in 7 (23%), APHA (ipertensione arteriosa polmonare associata) in 5 casi (16%), disordine veno-occlusivo in 1 paziente (3%).

2 trapianti sono stati invece effettuati su pazienti con CTPH (Ipertensione polmonare da tromboembolismo polmonare cronico), ovvero Gruppo 4.

L'età media dei riceventi è risultata essere di $35,8 \pm 11,4$ anni (range 14-63) con una prevalenza di femmine, 19(61%).

La Pressione Arteriosa Polmonare Sistolica (PAPs) corrispondeva, al momento del trapianto, a $94,2 \pm 29,4$ mmHg (range 53-180), la pressione in atrio destro (PADX) risultava essere $12 \pm 4,4$ mmHg (range 4-20), le resistenze arteriose polmonari (RAP) corrispondevano invece a $12,5 \pm 5,9$ UI (range 6,2-29,9).

In 11 casi di trapianto polmonare per PAH è stato necessario effettuare contestualmente altre procedure chirurgiche: 2 chiusure di difetto interventricolare (DIV), 1 chiusura di dotto arterioso pervio (PDA), 6 chiusure di difetto interatriale (DIA)/forame ovale pervio (PFO), 2 sostituzioni dell'arteria polmonare principale.

Tecnica di Trapianto Bilaterale del Polmone (BLTX)

Tutti i polmoni dei donatori sono stati espantati *en bloc* nel contesto di un multi-organ *procurement*. Per la preservazione del *graft* è stata usata una soluzione di dextrans a basso contenuto di potassio. Il BLTX è stato tecnicamente eseguito con tecnica standard attraverso un'incisione toracotomica anteriore bilaterale.

I polmoni del donatore sono stati impiantati con suture continue di 4-0 PDS per l'anastomosi bronchiale e 5-0 Prolene per l'arteria polmonare e l'anastomosi atriale sinistra. Dopo il completamento delle anastomosi vascolari il *graft* veniva perfuso in

direzione retrograda e anterograda. La ventilazione dello stesso veniva iniziata appena dopo la riperfusione.

Durata del supporto ECMO

La totalità dei trapianti per Ipertensione Polmonare eseguiti presso il nostro Centro sono stati eseguiti in Circolazione Extra-Corporea (CEC).

Il tempo medio di CEC è stato 290 ± 73 minuti (range 146-465).

Un paziente è arrivato al trapianto in assistenza ECMO; in 16 pazienti nei quali non è stato possibile lo svezzamento dalla circolazione extra-corporea al termine del trapianto, nonostante terapia convenzionale massimale, l'ECMO è stato prolungato per le ore successive alla procedura; in 9 casi, invece, l'ECMO è stato sospeso al termine della procedura e re-istituito in UTI (in 2 casi per supporto emodinamico, in 7 casi per PGD).

La durata dell'ECMO è stata calcolata come periodo di tempo dall'istituzione del supporto alla rimozione dello stesso o al momento del decesso in ECMO.

La durata media dell'ECMO intra-operatorio prolungato nel periodo post-operatorio è stata di $3,1 \pm 3,6$ giorni (range 1-7); nel caso invece di pazienti che hanno necessitato di supporto in UTI la durata media dell'ECMO è stata di $5,2 \pm 5,2$ giorni (range 2-11).

Outcome

Il principale *outcome* analizzato è stata la mortalità per tutte le cause. La durata media del follow-up è stata di $35,9 \pm 35$ SD mesi (range 3-112).

Le stime di sopravvivenza dopo trapianto nei pazienti con PAH e dove l'ECMO è stato prolungato nel post-operatorio sono state ottenute con metodo Kaplan-Meier.

La ventilazione artificiale meccanica (VAM) è stata proseguita in media per $57,6 \pm 38,4$ ore (range 6-240).

I pazienti hanno richiesto un'a degenza in UTI di $22,3 \pm 22,4$ giorni (range 6-90).

Per quanto riguarda le complicazioni post-trapianto, non PGD, si sono registrate problematiche di tipo infettivo (non-CMV relate) in 13 pazienti (41.9%) , IRA in 8 pazienti (26%).

La disfunzione d'organo precoce è occorsa in 12 casi (39%). In 7 dei 15 pazienti che non avevano ricevuto ECMO (46%) ed in 5 di 16 pazienti (31.2%) dove era stata istituita l' ECMO ($p=0.04$).

Sono stati registrati 8 decessi (26%) : 2 intra-operatori, 3 post-operatori per sepsi e *multi-organ- failure* (MOF), 3 per PGD.

Sono stati calcolati i tassi di sopravvivenza nei pazienti sottoposti a trapianto

(BLTX) per PAH che hanno ricevuto ECMO intra-operatorio e “preventivo”, prolungato al termine della procedura nelle ore successive, e nei pazienti dove l’ECMO era stato discontinuato al termine del trapianto ed è stato re-impiantato nel post-operatorio in UTI.

Come si evince dalla curva Kaplan-Meier nel grafico sottostante (Fig 3) il gruppo di pazienti nei quali l’ ECMO è stato continuato dalla sala operatoria durante il corso della degenza in UTI hanno registrato un tasso di mortalità a un anno significativamente inferiore (12,6%) a quello dei pazienti che erano stati “svezzati” dall’assistenza ECMO in sala operatoria ma hanno successivamente necessitato di supporto in UTI per la comparsa di segni di PGD (44,4%) (p = 0,001).

Sono stati analizzati, poi, i possibili fattori di rischio per mortalità ospedaliera in tutti i pazienti sottoposti a trapianto polmonare con tutte le diagnosi.

Come mostra la tabella (Tab 2) la diagnosi di PAH nei pazienti sottoposti a trapianto polmonare ha rappresentato nel nostro studio il principale fattore di rischio per mortalità peri-operatoria (p=0.001).

Sono stati, quindi, analizzati tutti i possibili fattori di rischio per PGD in tutti i casi di trapianto polmonare per qualunque indicazione.

Ad avere un impatto statisticamente significativo sullo sviluppo di disfunzione d’organo precoce (PGD) sono la diagnosi di IPAH (p= 0.001), la discontinuazione dell’ECMO in sala operatoria e il re-impianto dello stesso in UTI (p= 0.01), la durata della circolazione extracorporea (CEC) (p= 0.01) (Tab3).

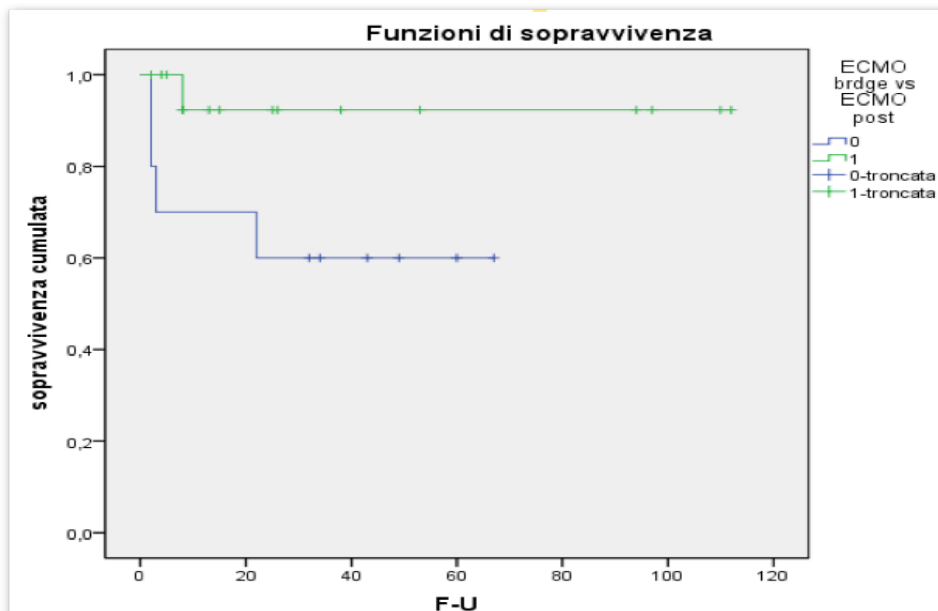


Fig 3 Kaplan-Meier sopravvivenze nei pazienti dove l’ECMO è stata proseguita preventivamente nel post-operatorio (in verde) e nei pazienti che hanno richiesto ECMO nel post-operatorio (in viola). F-U espresso in giorni

MODELLO MULTIVARIATO PER MORTALITA'OSPEDALIERA

Variabile	OR	95% CI	P-Value
Diagnosi di PAH	3.9	2.1-11.2	0.001
Pre-op CI	1.6	1.2-2.3	0.04
ECMO post-op	1.1	1.0-1.3	0.04
IRA	3.5	1.6-7.7	0.002

Tab 2 PAH (Ipertensione Arteriosa Polmonare) ; Pre-op CI (*cardiac index* al cateterismo cardiaco pre-operatorio) ; IRA (insufficienza renale acuta)

MODELLO MULTIVARIATO PER PGD

Variabile	OR	95% CI	P-Value
PAH	3.4	1.8-6.9	0.001
CEC time	1.1	1.0-1.2	0.01
Non bridge con ECMO	1.9	1.1-3.2	0.01
IRA	2.7	1.9-3.3	0.003

Tab 3 PAH (Ipertensione Arteriosa Polmonare –gruppo 1, Nice 2013) ;Non bridge con ECMO (ECMO discontinuato a fine trapianto e re-istituito in ICU ; IRA (insufficienza renale acuta).

8. CONCLUSIONI

La *primary graft dysfunction* (PGD) rappresenta un problema comune dopo il trapianto polmonare.

E', infatti, insieme alle complicazioni infettive non-CMV, la principale causa di mortalità entro il primo anno (ISHLT Report 2016).

I pazienti con IPAH, come tutti i riceventi con ipertensione polmonare, che vengono sottoposti a trapianto bipolmonare, hanno un rischio aumentato di sviluppare disfunzione di *graft* precoce.(34)

Questo studio mostra come, in particolare, la diagnosi di Ipertensione Arteriosa Polmonare (IPAH, APAH, disordine veno-occlusivo), rispetto a tutte le indicazioni per BLTX, si è dimostrata il principale fattore di rischio per lo sviluppo di PGD (OR 3.4; 95% CI 1.8-6.9).

La patogenesi della PGD non è ancora completamente compresa; tuttavia, l'ipertensione polmonare è stata costantemente associate ad un rischio aumentato di danno d'organo precoce.

Esiste, infatti una forte evidenza, che elevate pressioni arteriose polmonari del ricevente siano associate a rischio di PGD.

L'ipotesi dominante è che alla base vi sia un danno meccanico da sfregamento in corso di riperfusione con alte pressioni polmonari.(35)

In particolare, sembra che la permeabilità endoteliale sia di primaria importanza nelle fasi precoci (primi 10 minuti) della riperfusione del *graft* . Danno polmonare irreversibile , edema polmonare e sequestrazione dei leucociti avvengono a seguito della rapida riperfusione dopo il periodo di ischemia.

Una re-introduzione progressiva del flusso di sangue sembra ridurre questi fenomeni.(36)

La difficoltà con la maggior parte degli studi in letteratura sta, tuttavia, nell'impossibilità di isolare i fattori di rischio IPAH e pressioni arteriose polmonari da altre variabili quali l'uso del by-pass cardiopolmonare (CPB) e dei derivati sanguigni in corso di trapianto. (28)

Quando viene utilizzato il by-pass cardiopolmonare, questa graduale riperfusione puo'essere controllata.

Lo stesso CPB ha lo svantaggi di un alto turnover di sangue e favorisce il ricircolo di mediatori dell'infiammazione attivati .(37,38,39)

Una volta che il *graft* ha sviluppato edema da riperfusione, il trattamento successivo è basato sulla ventilazione con alte pressioni per minimizzare la produzione di liquido intra-alveolare.

E'oggi, tuttavia, ampiamente riportato in letteratura come questa modalità aggressiva di ventilazione sia causa di danno epiteliale ed endoteliale polmonare con ulteriore produzione di mediatori dell'infiammazione.

L'utilizzo, invece, di volumi Tidal più bassi puo'evitare questa cascata di eventi.

Negli ultimi dieci anni l'ECMO è stato sempre più frequentemente utilizzato allo

scopo di offrire al *graft* una riperfusione controllata e una ventilazione protettiva .(40)

L'ECMO veno-arterioso (V-A ECMO), utilizzato nella maggior parte dei casi nel nostro studio, offre il vantaggio di bypassare una quantità significativa di CO₂ al letto vascolare polmonare. Questo risulta in una riduzione della pressione di perfusione, ovvero, minor stress meccanico endoteliale.

Non solo. Affianco all'effetto emodinamico nel momento della riperfusione del *graft*, il support ECMO, prolungato per le successive ore nel post-operatorio, permette di proseguire una ventilazione polmonare cauta. Mantenendo pressioni di fine espirazione positive (PEEP), e pressioni di di picco limitate si riduce l'incidenza del danno polmonare da riperfusione.

Il sistema ECMO permette anche, essendo esso stesso completamente eparinizzato, di evitare la totale scoagulazione.

La metodologia e tecnica di BLTX utilizzata nella nostra esperienza è stata ispirata dal lavoro di Pereszlenyi et al. pubblicato sull'European Journal of Cardiothoracic Surgery nel 2002.

Nell'importante lavoro Viennese si riporta l'esperienza, seconda in letteratura solo al lavoro di Ko et al. del 1999, dell'utilizzo dell'ECMO intra-operatorio e il suo prolungamento nel post-operatorio, profilattico, per consentire un graduale riadattamento del *graft*.(41)

Lo studio austriaco riporta una serie consecutiva di 17 pazienti con PAPs >70mmHg sottoposti a trapianto bipolmonare. Tutti i pazienti con Ipertensione polmonare di ogni origine ricevevano ECMO intra-operatoriamente . In 14 pazienti l'ECMO era stato proseguito nel post-operatorio per un minimo di 6 ore.

Il gruppo di Pereszlenyi ha registrato un solo decesso peri-peratorio, un eccellente *performance* del *graft* nell'immediato post-operatorio e un incidenza di rigetto entro i primi 100 giorni di 0.4 per paziente, sorprendentemente bassa se paragonata alla media in letteratura. (42)

Il nostro studio mostra come nei pazienti con PAH, la comparsa di segni riconducibili a PGD, nonostante terapia medica massimale e l'utilizzo di ECMO di salvataggio, predisponga a un alto tasso di mortalità.

Allo stesso tempo, l'uso "preventivo" dell'ECMO fin dalla sala operatoria si è, invece, dimostrato efficace nel ridurre l'incidenza della PGD e migliorare quindi la sopravvivenza.

Pertanto riteniamo opportuno candidare a ECMO di profilassi, intra-operatorio e post-operatorio, i pazienti che sappiamo essere ad alto rischio per *primary graft disfunction*. Pazienti predisposti al PGD , risultano infatti essere, dalla nostra esperienza, i pazienti con Ipertensione Ateriosa Polmonare (PAH), insufficienza renale cronica o acuta, sottoposti a una lunga CEC, e, dalla letteratura, i casi dove vi è un'aumentata bilirubinemia, avanzata età, uno scarso *cardiac output*, aumentata richiesta di ossigeno a riposo del ricevente, un lungo tempo di ischemia del *graft* o i re-trapianti.

Se l'IPAH rappresenta il principale fattore di rischio per mortalità a un anno dal trapianto polmonare è pensabile che un Centro ad alto volume che si specializzi nel trapianto per IPAH possa ambire a risultati migliori di sopravvivenza.

In uno studio retrospettivo dell'Università di Pittsburg sui pazienti con PAH trapiantati tra il 1994 e il 2006, la sopravvivenza a un anno risultava dell'86%, di molto superiore a quella dello stesso Centro ma relativa al campione di pazienti con PAH sottoposti a trapianto nei dieci anni precedenti, 1982-1993, o se confrontata con la equiparabile coorte dell'ISHLT(66%).

Il merito di tale eccellente riscontro è stato attribuito al miglioramento delle tecniche chirurgiche e del *management* farmacologico e medico dei riceventi nel post-operatorio. (43)

Similarmente, lo studio retrospettivo su 220 pazienti trapiantati, tra il 1986 e il 2008, al Marie-Lannelongue Hospital di Parigi ha registrato una sopravvivenza a un anno del 79% nei pazienti sottoposti a BLTX per IPAH. (44)

Possiamo concludere che la *primary graft dysfunction* resta un'importante causa di insuccesso dei trapianti polmonari.

L'utilizzo dell'ECMO intra-e post-operatorio si è fino ad ora dimostrato una misura efficace in grado di prevenire la PGD. (45)

L'utilizzo sempre piu' frequente di organi marginali e le nuove forme di donazione d'organo impongono una continua ricerca e studio della PGD.

L'individuazione di una strategia terapeutica che possa ridurre l'incidenza della principale causa di fallimento del trapianto bi-polmonare per PAH, permetterebbe, di poter espandere l'attuale *pool* di donatori.

L' impatto di donazioni "meno perfette" potrebbe, infatti, essere alleviato da una gestione post-operatoria attenta e competente, in Centri specializzati. L'*outcome*, per la gran maggioranza dei riceventi, sarebbe, comunque, migliore di quello di un trapianto mai realizzato.(25)

9. BIBLIOGRAFIA

1. Newman JH. Pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Nov 1;172(9):1072-7. Epub 2005 Jun 30.
2. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, et al. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Ann Intern Med* 1991;115:343-9.
3. Dresdale DT, Schultz M, Michtom RJ. Primary pulmonary hypertension I. Clinical and hemodynamic study. *Am J Med* 1951;11:686-705.
4. Simonneau G, Robbins IM, Beghetti M, Channick RN, Delcroix M, Denton CP, et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:S43-54.
5. Harvey W. *Exercitatio de motu cordis et sanguinis in animalibus*. Francoforti Guilelmi Fitzeri, 1628 [translated by CD Leake]. Springfield,IL: Charles C. Thomas; 1928.
6. Romberg E. Uebere Sklerose der Lungenarterien. *Dtsch Arch Klin Med*.1891;48:197-206.
7. Brenner O. Pathology of the vessels of the pulmonary circulation. *Arch Intern Med* 1935;56:211.
8. Forssmann W. Nobel lecture: the role of heart catheterization and angiocardiology in the development of modern medicine. In: Nobel lectures, physiology or medicine. Amsterdam: Elsevier Publishing; 1964 Available from: <http://nobelprize.org/medicine/laureates/1956/forssmannlecture.html> (accessed April 24, 2005).
9. Dexter L, Dow JW, Haynes FW, Whittenberger JL, Ferris BG, Goodale WT, Hellems HK. Studies of the pulmonary circulation in man at rest: normal variations and the interrelations between increased pulmonary blood flow, elevated pulmonary arterial pressure, and high pulmonary "capillary" pressures. *J Clin Invest* 1950;29:602-613.
10. Swan JH, Ganz W. Hemodynamic measurements in clinical practice: a decade in review. *J Am Coll Cardiol* 1983;1:103-113.
11. Dresdale DT, Schultz M, Michtom RJ. Primary pulmonary hypertension: Clinical and hemodynamic study. *Am J Med* 1951;11:686.
12. Wagenvoort CA. Primary pulmonary hypertension: a pathological study of the lung vessels in 156 clinically diagnosed cases. *Circulation* 1970; 42:1163.
13. Hatano E, Strasser T. Primary pulmonary hypertension: report on a WHO meeting, Geneva, 15-17 October, 1973. Geneva: World Health Organization; 1975.

14. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Koerner SK, et al. Centennial Review 1077 Primary pulmonary hypertension: a national prospective study. *Ann Intern Med* 1987;107:216–228.
15. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Rich S, Badesch DB, Groves BM, Tapson VF, Bourge RC, Brundage BH. A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. The Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N Engl J Med* 1996;334:296–302.
16. Galie N, Manes A, Negro L, Palazzini M, Bacchi-Reggiani ML, Branzi A. A meta-analysis of randomized controlled trials in pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2009;30:394–403
17. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, Fleming T, Parpia T, Burgess G, Branzi A, Grimminger F, Kurzyna M, Simonneau G; Sildenafil Use in Pulmonary Arterial Hypertension (SUPER) Study Group. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2005 Nov 17;353(20):2148-57.
18. Reitz BA. The first successful combined heart-lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2011 Apr;141(4):867-9. doi: 10.1016/j.jtcvs.2010.12.014.
19. M.Patricia George, Hunter C. Champion and Joseph M. Pilewski. Lung Transplantation for Pulmonary Hypertension. *Pulmonary circulation*. April-June 2011/Vol 1-No 2.
20. Roger D. Yusen, MD, MPH, Leah B. Edwards, PhD, Anne I. Dipchand, MD, FRCPC, Samuel B. Goldfarb, MD, Anna Y. Kucheryavaya, MS, Bronwyn J. Levvey, RN, Lars H. Lund, MD, PhD, Bruno Meiser, MD, Joseph W. Rossano, MD, Josef Stehlik, MD, MPH The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Lung and Heart–Lung Transplant Report—2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant *The Journal of Heart and Lung Transplantation* Volume 35, Issue 10, Pages 1170-1184 (October 2016) DOI: 10.1016/j.healun.2016.09.001
21. Yusen, Roger D. et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Lung and Heart-Lung Transplantation Report—2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* , Volume 34 , Issue 10 , 1264 – 1277
22. Jason D. Christie, MD, MS, Leah B. Edwards, PhD, Anna Y. Kucheryavaya, MS, Christian Benden, MD, Anne I. Dipchand, MD, FRCPC, Fabienne Dobbels, PhD, Richard Kirk, MA, FRCP, FRCPC, Axel O. Rahmel, MD, Josef Stehlik, MD, MPH, and Marshall I. Hertz, MD, for the International Society of Heart and Lung Transplantation- The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: 29th Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report—2012
23. Takahiho Oto, MD, Franklin Rosenfeldt, MD, FRACS, Michael Rowland, FRACS, Adrian Pick, FRACS, Marc Rabinov, FRACS, Arthur Prevolos, CCP, Gregory Snell,

FRACP, Trevor Williams, FRACP, and Donald Esmore, FRACS. Extracorporeal Membrane Oxygenation After Lung Transplantation: Evolving Technique Improves Outcomes. *Ann Thorac Surg* 2004;78:1230-5

24. György Lang, MD, Clemens Aigner, MD, Günther Winkler, MD, Keso Shkirdladze, MD, Wilfried Wisser, MD, Gerhard Dekan, MD, Masaya Tamura, MD, Georg Heinze, PhD, Dirk Van Raemdonck, MD, and Walter Klepetko, MD. Prolonged venoarterial extracorporeal membrane oxygenation after transplantation restores functional integrity of severely injured lung allografts and prevents the development of pulmonary graft failure in a pig model. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* Volume 137, Number 6 .2009.
25. Dirk Van Raemdonck, Arne Neyrinck, Geert M. Verleden, Lieven Dupont, Willy Coosemans, Herbert Decaluwe, Georges Decker, Paul De Leyn, Philippe Naftoux, and Toni Lerut. Lung Donor Selection and Management. *Proceedings of The American Thoracic Society* Vol 6 2009
26. Fischer S, Bohn D, Rycus P, Pierre AF, de Perrot M, Waddell TK, Keshavjee S. Extracorporeal membrane oxygenation for primary graft dysfunction after lung transplantation: analysis of the Extracorporeal Life Support Organization (ELSO) registry. *J Heart Lung Transplant*. 2007 May;26(5):472-7.
27. Christie JD, Carby M, Bag R, Corris P, Hertz M, Weill D. Report of the ISHLT working group on primary lung graft dysfunction: Part II. Definition. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:1454-1459.
28. Mason DP, Boffa DJ, Murthy SC, Gildea TR, Budev NM, Metha AC, McNeill AM, Smedra NG, Feng J, Rice TW, Blackstone EH, Petterson BG. Extended use of extracorporeal membrane oxygenation after lung transplantation. *Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2006.
29. Shinichiro Miyoshi, Yoshihiko Mochizuki, Sensuke Nagai, Satoru Kobayashi and Norio Seki. Physiologic Aspects in Human Lung Transplantation. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* Vol. 11, No 2 (2005)
30. Mason DP, Boffa DJ, Murthy SC, Gildea TR, Budev NM, Metha AC, McNeill AM, Smedra NG, Feng J, Rice TW, Blackstone EH, Petterson BG. Extended use of extracorporeal membrane oxygenation after lung transplantation. *Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 2006.
31. Wigfield CH, Lindsey JD, Steffens TG, Edwards NM, Love RB. Early institution of extracorporeal membrane oxygenation for primary graft dysfunction after lung transplantation improves outcome. *J Heart Lung Transplant*. 2007 Apr;26(4):331-8.
32. Jawad Salman, Fabio Ius, et al. Mid-term results of bilateral lung transplant with postoperatively extended intraoperative extracorporeal membrane oxygenation

for severe pulmonary hypertension Eur J Cardiothorac Surg ezx047

33. Christie JD1, Carby M, Bag R, Corris P, Hertz M, Weill D; ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction. 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*. 2005 Oct;24(10):1454-9.
34. Ailawadi, Gorav et al. Does reperfusion injury still cause significant mortality after lung transplantation? *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, Volume 137, Issue 3, 688 - 694.
35. Lee J, Kuntz C, Kawut S, Hadjiliadis D, Ahya V, Wille K, et al. 21: Clinical risk factors for the development of primary graft dysfunction. *J Heart Lung Transplant*. 2008;27:S67-8.
36. Marc de Perrot, Mingyao Liu, Thomas K. Waddell, and Shaf Keshavjee-Ischemia-Reperfusion-induced Lung Injury. *American Journal of Respiratory and Critical Medicine*, 2003.
37. Lee JC, Kuntz CL, Hadjiliadis D, Ahya VN, Kawut SM, Wille K, et al. Risk factors for early vs late primary graft dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:A396. 21
38. De Perrot M, Bonser RS, Dark J, Kelly RF, McGiffin D, Menza R, et al. Report of the ISHLT working group on primary lung graft dysfunction: Part III. Donor-related risk factors and markers. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24:1460---7.
39. Whitson BA, Nath DS, Johnson AC, Walker AR, Prekker ME, Radosevich DM, et al. Risk factors for primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;131:73---80.
40. Extracorporeal Membrane Oxygenation for Primary Graft Dysfunction After Lung Transplantation: Long-Term Survival Christian A. Bermudez, MD, Prasad S. Adusumilli, MD, Kenneth R. McCurry, MD, Diana Zaldonis, MPH, BSN, Maria M. Crespo, MD, Joseph M. Pilewski, MD, and Yoshiya Toyoda, MD, PhD *Ann Thorac Surg* 2009;87:854-60).
41. KoWJ, ChenYS, LuhSP, ChuSH. Extracorporeal membrane oxygenation support for single-lung transplantation in patients with primary pulmonary hypertension. *Transplant Proc* 1999;31:166-168.
42. Arpad Pereszlenyi, Georg Lang, Heinz Steltzer, Hubert Hetz, Alfred Kocher, Petra Neuhauser, Wilfried Wissner, Walter Klepetko. Bilateral lung transplantation with intra- and postoperatively prolonged ECMO support in patients with pulmonary hypertension. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 2002. 21:858-863

43. Toyoda Y, Thacker J, Santos R, Nguyen D, Bhama J, Bermudez C, et al. Long-term outcome of lung and heart-lung transplantation for idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Ann Thorac Surg*. 2008;86:1116–22.
44. Elie Fadel, Olaf Mercier, Sacha Mussot, François Leroy-Ladurie, Jacques Cerrina, Alain Chapelier, Gérald Simonneau, Philippe Dartevelle; Long-term outcome of double-lung and heart–lung transplantation for pulmonary hypertension: a comparative retrospective study of 219 patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 38 (3): 277-284. doi: 10.1016/j.ejcts.2010.02.039
45. Takahiho Oto, MD, Franklin Rosenfeldt, MD, FRACS, Michael Rowland, FRACS, Adrian Pick, FRACS, Marc Rabinov, FRACS, Arthur Prevolos, CCP, Gregory Snell, FRACP, Trevor Williams, FRACP, and Donald Esmore, FRACS. Extracorporeal Membrane Oxygenation After Lung Transplantation: Evolving Technique Improves Outcomes. *Ann Thorac Surg* 2004;78:1230–5