



Revisión

## Aspectos técnicos y utilidades del trasplante pulmonar experimental murino



Daniel Ruiz-Pérez<sup>a</sup>, Carlota Largo<sup>a</sup> y Francisco García-Río<sup>b,c,d,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ), Madrid, España

<sup>b</sup> Servicio de Neumología, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, Madrid, España

<sup>c</sup> Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

<sup>d</sup> CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 4 de febrero de 2016

Aceptado el 15 de abril de 2016

On-line el 31 de mayo de 2016

#### Palabras clave:

Trasplante  
Modelo murino  
Experimental  
Pulmón

#### Keywords:

Transplantation  
Mouse model  
Experimental  
Lung

### R E S U M E N

A lo largo de las últimas décadas, el número de trasplantes pulmonares realizados como terapia final de muchas enfermedades respiratorias ha ido creciendo considerablemente, tanto en la población adulta como a nivel pediátrico. Sin embargo, se hace muy necesario estudiar las causas por las que su supervivencia es relativamente baja en comparación con otros trasplantes de órganos.

Por ello, desde mediados del siglo pasado comenzaron a realizarse trasplantes pulmonares experimentales, cuya técnica ha ido mejorando, y se ha ampliado a distintas especies animales hasta llegar a los roedores. La ventaja que presentan estas especies pequeñas ha facilitado que el modelo quirúrgico se haya extendido y estandarizado, permitiendo estudiar diferentes aspectos relacionados con las enfermedades respiratorias.

En esta revisión se analizan las distintas modalidades técnicas disponibles de trasplante experimental en rata y ratón, destacando tanto la técnica quirúrgica como la anestésica o la monitorización, así como las principales aportaciones generadas por el trasplante pulmonar murino.

© 2016 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

### Technical Aspects and Benefits of Experimental Mouse Lung Transplantation

#### A B S T R A C T

In recent years, the number of lung transplantations performed as the last option for many respiratory diseases has grown considerably, both in adults and children. However, the causes for the relatively short survival of lungs compared to other organ transplants still need to be studied.

Techniques have improved since the 1950s when experimental lung transplantation began, and the different animal species used now include rodents. The advantage of using these small species is that the surgical model has been expanded and standardized, and different respiratory problems can be studied.

In this review we examine the different technical strategies used in experimental transplantation in rats and mice, focusing on surgical techniques and anesthesia and monitoring methods, and highlighting the major contributions of mouse lung transplantation to the field.

© 2016 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

### Introducción

El trasplante pulmonar es, en ocasiones, la única opción terapéutica disponible para las fases finales de determinadas enfermedades

respiratorias, como enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad pulmonar intersticial difusa, bronquiectasias asociadas a fibrosis quística, bronquiolitis obliterante, sarcoidosis o hipertensión pulmonar arterial<sup>1-3</sup>.

Desde la realización del primer trasplante en animales en 1940<sup>4,5</sup>, estos modelos experimentales han favorecido el desarrollo del procedimiento quirúrgico y la prevención de las complicaciones asociadas al mismo, como el rechazo o la lesión por

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [fgr01m@gmail.com](mailto:fgr01m@gmail.com) (F. García-Río).

**Tabla 1**

Combinaciones anestésicas empleadas en la rata y el ratón para la realización de procedimientos quirúrgicos, incluido el trasplante pulmonar

Protocolo	Dosis (mg/kg)		Duración (min)
	Rata	Ratón	
Ketamina + medetomidina	75-100 + 0,25-0,5	75-150 + 0,5-1	40-50
Ketamina + xilacina	75-100 + 12	75-150 + 12-20	40-50
Ketamina + diazepam	80 + 20	75-100 + 5	30-40
Medetomidina + fentanilo	0,3 + 0,3	-	50-60
Atipamezol <sup>a</sup> (antagonista $\alpha$ 2-adrenérgico)	0,5-1	0,5-1	-

<sup>a</sup> La medetomidina y la xilacina pueden antagonizarse con atipamezol.

isquemia-reperfusión. Aunque el primer trasplante murino se efectuó en 1971<sup>6</sup>, durante el siglo pasado se realizaron fundamentalmente en el perro<sup>4,5</sup>, así como en cerdo, oveja<sup>7</sup> o mono<sup>8-10</sup>, ya que los animales de mayor tamaño presentan ventajas a la hora de desarrollar la técnica quirúrgica y de trasladar los resultados a la clínica humana. Actualmente, estas especies se siguen empleando, sobre todo para el entrenamiento quirúrgico, mientras que han adquirido un mayor protagonismo especies de menor tamaño como el conejo<sup>11</sup>, la rata o el ratón, que proporcionan ventajas económicas, logísticas y de manejo, así como menos limitaciones éticas.

En la rata, se desarrolló inicialmente el trasplante ortotópico de pulmón izquierdo<sup>6</sup>, mientras que el de todo el bloque cardiopulmonar tiene un uso más limitado por su elevada mortalidad<sup>12</sup>. Las mejoras en el procedimiento quirúrgico, en la técnica anestésica, en la ventilación mecánica y en las condiciones de preservación y perfusión han permitido no solo el éxito del modelo sino también su reproducibilidad. Además, se han desarrollado modelos de trasplantes heterotópicos, aunque estos carecen de ventilación y buena perfusión del injerto<sup>13,14</sup>. Por último, la disponibilidad de una gran diversidad de cepas, que permiten estudiar factores genéticos que afectan al trasplante, ha potenciado el modelo en ratón<sup>15,16</sup>.

En esta revisión pretendemos describir los distintos procedimientos disponibles para el trasplante pulmonar murino, incidiendo en la técnica quirúrgica y en aspectos perioperatorios relevantes, como anestesia-analgésia, ventilación mecánica, manejo del postoperatorio y prevención de complicaciones. Además, revisaremos las principales aportaciones generadas por el trasplante pulmonar en roedores.

## Anestesia y cuidados perioperatorios

Los protocolos anestésicos deben proporcionar un adecuado efecto anestésico y analgésico, manteniendo la estabilidad fisiológica del animal y ser fácilmente reversibles al finalizar la técnica quirúrgica. Aunque permite una rápida inducción y recuperación del animal, el uso de anestesia inhalatoria<sup>16</sup> (isoflurano al 1,5-2% o sevoflurano al 2,5-3%, cuyo efecto protector sobre el pulmón es conocido<sup>17</sup>) puede generar dificultades si no se dispone de los medios adecuados. En concreto, se requieren recursos económicos, debido al elevado coste y gasto de los anestésicos inhalatorios, así como la disponibilidad de un equipo de ventilación mecánica que permita la introducción de gases anestésicos. Por ello, cuando no es posible realizar una anestesia inhalatoria se puede recurrir a métodos parenterales (tabla 1).

La ketamina es uno de los fármacos más empleados y proporciona un efecto analgésico, potenciado cuando se administra conjuntamente con un agonista de los receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos, como la xilacina o la medetomidina, a la vez que reduce la rigidez muscular. Esta combinación anestésica se puede revertir fácilmente con la administración de un antagonista de los receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos como el atipamezol. Otras combinaciones emplean ketamina y la benzodiazepina diazepam, o el opioide fentanilo asociado a la medetomidina.

Es necesario compensar la diuresis causada por los agonistas de los receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos mediante fluidoterapia subcutánea. Además, resulta importante la aplicación de pomadas oftálmicas para evitar la sequedad corneal.

La toracotomía es un potente estímulo nociceptivo, por lo que una analgesia apropiada resulta esencial. Normalmente, se basa en la administración preoperatoria subcutánea de opioides (como buprenorfina, a 10-50  $\mu$ g/kg/8 h en rata o 50-100  $\mu$ g/kg/8 h en ratón) asociados a antiinflamatorios no esteroideos (2 mg/kg/día de meloxicam). Finalmente, se recomienda realizar profilaxis antibiótica con cefazolina (30 mg/kg) o ceftriaxona (70 mg/kg).

## Ventilación

Una vez anestesiados, los animales deben ser intubados con catéteres de 14 G (ratas > 300 g), 16 G (rata de 200-300 g) o 22 G (ratones de unos 25 g) y ventilados mecánicamente. En el caso del receptor, suele recomendarse el modo de ciclado por presión, dado que su pulmón izquierdo no será funcional durante gran parte de la cirugía.

Para la programación del ventilador, se recomienda establecer un volumen corriente de 7-10 ml/kg (si está ciclado por volumen), una presión máxima de 10-12 cmH<sub>2</sub>O (si está ciclado por presión) y una frecuencia respiratoria de 60-100 respiraciones/min. Además, es muy recomendable aplicar una presión positiva al final de la espiración de 2-5 cmH<sub>2</sub>O para evitar la formación de atelectasias durante la espiración.

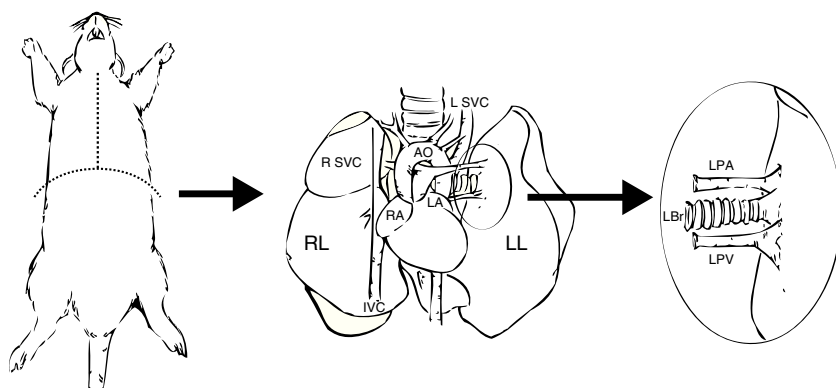
## Monitorización intraoperatoria

Existen equipamientos específicos para roedores que permiten el registro de pulsoximetría, capnografía, presiones arteriales no invasivas o electrocardiograma. En general, los equipos diseñados para humanos o para animales de mayor tamaño no son adecuados para roedores.

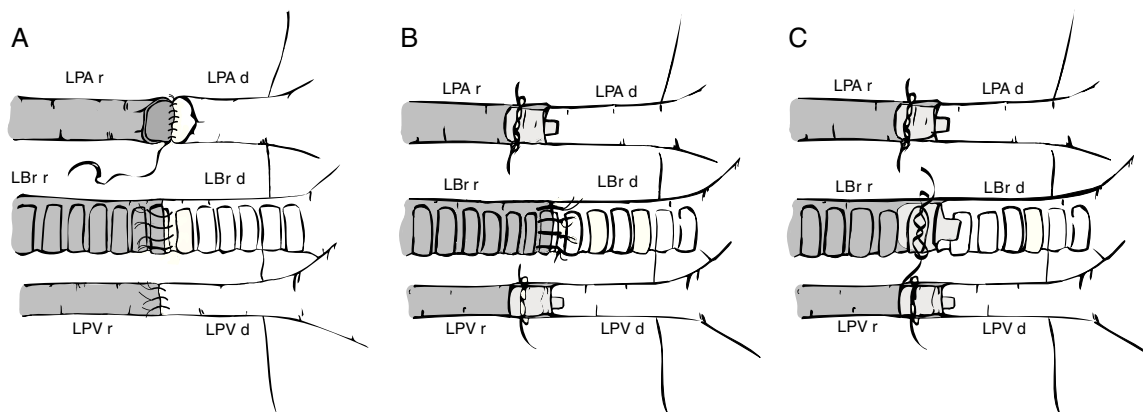
Además, es relevante monitorizar la temperatura corporal mediante un termómetro o sonda rectal para mantenerla entre 37,5-38,5 °C. La hipotermia es una complicación muy frecuente en roedores y produce muchos efectos adversos si se alcanzan temperaturas inferiores a 32 °C, incluyendo un retraso en la recuperación de la anestesia. Para mantener la temperatura corporal, se emplea una manta eléctrica o de agua caliente, aunque vigilando la posible hipertermia que pueda provocar. La saturación de oxihemoglobina suele mantenerse en niveles superiores al 99% cuando la fracción inspirada de oxígeno se incrementa entre un 30 o 60% con respecto al 21% del aire ambiental.

## Aspectos quirúrgicos del trasplante pulmonar ortotópico en rata y ratón

El modelo de trasplante ortotópico del pulmón izquierdo es el más utilizado por su viabilidad y mayor sencillez, ya que el pulmón izquierdo está formado por un único lóbulo, mientras que el



**Figura 1.** Extracción y preparación del pulmón donante. Realización de una estereotomía media y disección y extracción del bloque cardiopulmonar. Disección de la arteria pulmonar izquierda (LPA), vena pulmonares izquierdas (LPV) y del bronquio izquierdo (LBr). AO: aorta torácica; IVC: vena cava inferior; LA: aurícula derecha; L SVC: vena cava superior izquierda; LL: pulmón izquierdo; RA: aurícula izquierda; RL: pulmón derecho; R SVC: vena cava superior derecha.



**Figura 2.** Técnicas quirúrgicas descritas de trasplante pulmonar en modelos murinos. A) Anastomosis vascular y bronquial con puntos de sutura. B) Anastomosis bronquial con puntos de sutura y empleo de manguitos vasculares o *cuffs* en vena y arteria pulmonares. C) Anastomosis vascular y bronquial mediante manguitos o *cuffs*. LBr d: bronquio izquierdo de animal donante; LBr r: bronquio izquierdo de animal receptor; LPA d: arteria pulmonar izquierda de animal donante; LPA r: arteria pulmonar izquierda de animal receptor; LPV d: vena pulmonar izquierda de animal donante; LPV r: vena pulmonar izquierda de animal receptor.

derecho se divide en 4. No obstante, en el ratón también se ha utilizado el trasplante ortotópico del pulmón derecho<sup>18</sup>.

#### Preparación del donante

Suele recomendarse la extracción de todo el bloque cardiopulmonar. Bajo anestesia y con el animal en decúbito supino, se prepara el campo operatorio rasurando la piel del tórax y aplicando povidona yodada o clorhexidina de forma centrípeta desde el centro del tórax. Posteriormente, se realiza una estereotomía media con heparinización (100 UI/100 g) en vena cava inferior, subcutánea o intracardiaca, para evitar la formación de coágulos en el pulmón a trasplantar. Con un microscopio óptico, se procede a la disección del hilio pulmonar para localizar el cayado aórtico y pinzarlo. Simultáneamente, se realizan cortes a nivel de las aurículas y vena cava inferior.

En la mayoría de los modelos se lleva a cabo una perfusión anterógrada, a través del ventrículo derecho<sup>19,20</sup> o del tronco pulmonar<sup>15,21-23</sup>, aunque es conveniente combinarla con la perfusión retrógrada desde la aurícula izquierda<sup>22</sup> para simular las condiciones fisiológicas. Los pulmones deben ser perfundidos a una presión mantenida (10-15 cmH<sub>2</sub>O), de forma homogénea, con una solución de preservación fría (4 °C) de glucosa dextrano bajo en potasio (LDPG).

A continuación, se liga y secciona la tráquea para extraer todo el bloque cardiopulmonar con el pulmón insuflado, para evitar la formación de atelectasias y mejorar la oxigenación y la presencia de

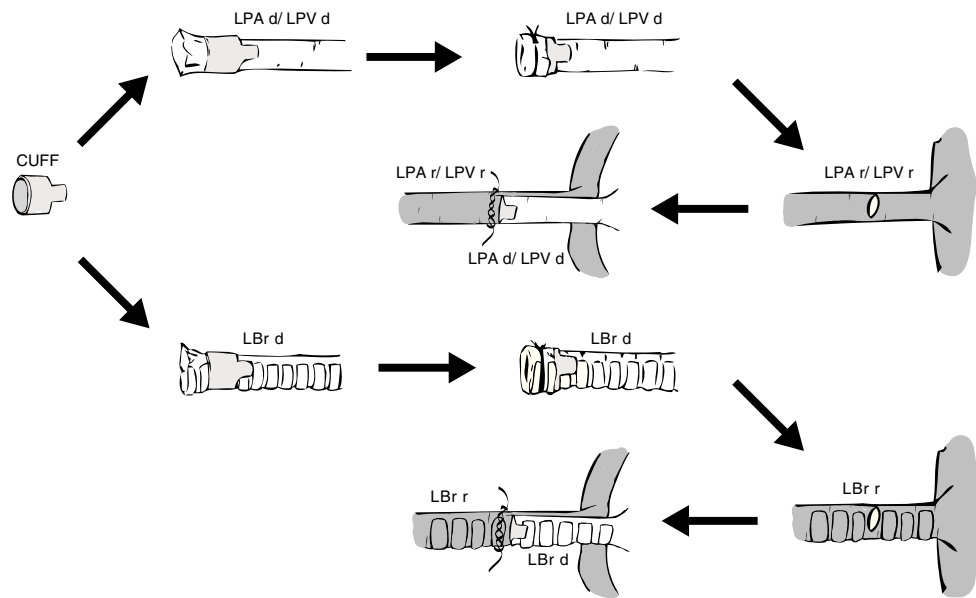
surfactante, lo que reduce el daño isquemia-reperfusión<sup>24,25</sup>. Las recomendaciones de inflado varían entre un 50% de la capacidad pulmonar total<sup>22,25</sup> y un 75-100%<sup>26</sup> sin llegar a provocar barotrauma. Además, el insuflado previo a la preservación reduce la expresión de marcadores proinflamatorios tras la reperusión<sup>26</sup>.

Con respecto a la preservación del órgano trasplantado, el pulmón donante se suele mantener a 4 °C para minimizar el daño isquémico del injerto pulmonar<sup>27</sup>. La solución de preservación más utilizada es el dextrano bajo en potasio (Perfadex)<sup>16,28-30</sup>, aunque también se emplean otras soluciones, como Celsior<sup>31</sup>, Euro-Collins o Wisconsin<sup>24</sup>.

#### Preparación del injerto

Una vez extraído el bloque pulmonar, se debe individualizar el pulmón izquierdo pinzando el bronquio para mantenerlo insuflado. Junto con la arteria y vena pulmonares, se secciona el bronquio lo más distal posible al pulmón para facilitar las anastomosis (fig. 1).

La preparación del pulmón izquierdo variará en función de la forma de realizar las anastomosis: anastomosis vascular y bronquial con puntos de sutura<sup>6,19,21,32</sup>, anastomosis bronquial con puntos de sutura y empleo de manguitos vasculares o *cuffs*<sup>30,33-36</sup>, y anastomosis vascular y bronquial mediante manguitos<sup>20,22,23,35-39</sup> (fig. 2). En el primer caso, se procede a la disección del hilio pulmonar individualizando cada estructura a anastomosar y manteniendo el pulmón en el medio de conservación a baja temperatura. En los 2 últimos casos, las uniones vasculares y bronquiales se



**Figura 3.** Esquema de colocación de un manguito o *cuff* en el pulmón donante y su anastomosis en el pulmón receptor. LBr d: bronquio izquierdo de animal donante; LBr r: bronquio izquierdo de animal receptor; LPA d: arteria pulmonar izquierda de animal donante; LPA r: arteria pulmonar izquierda de animal receptor; LPV d: vena pulmonar izquierda de animal donante; LPV r: vena pulmonar izquierda de animal receptor.

simplifican al no emplear suturas sino unos manguitos, usados tanto en el trasplante pulmonar<sup>33</sup> como de otros órganos<sup>40-42</sup>. Se trata de estructuras anulares constituidas por policloruro de vinilo o teflón, fabricadas a partir de cánulas o catéteres, cuyo tamaño en la rata oscila de 18 a 14 G, siendo los de mayor diámetro los empleados en el bronquio, y los más pequeños, en la arteria pulmonar<sup>22</sup>. Los manguitos tradicionales están constituidos por un cuerpo, que es donde se fijan los vasos o el bronquio, y una lengüeta para permitir una fácil manipulación de los mismos (fig. 3). Su longitud es de 2-3 mm (cuerpo de 1, 1,5 o 2 mm y lengüeta de 1 o 1,5 mm). Existe un modelo modificado de manguitos en el que se ha eliminado la lengüeta<sup>32,36,43</sup>, pero ello complica su manipulación. Por este motivo, algunos grupos utilizan el manguito convencional y, tras realizar la anastomosis, eliminan la lengüeta<sup>33</sup>.

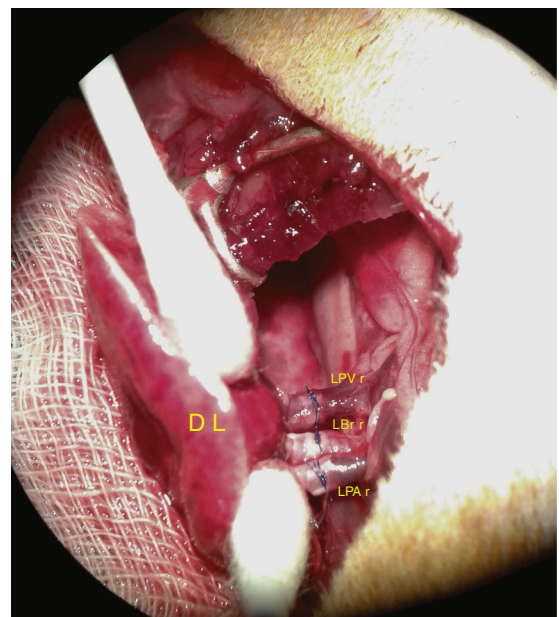
Independientemente del tipo de manguito utilizado, la colocación se realiza introduciendo la vena, arteria o bronquio del pulmón donante a través del orificio del cuerpo del manguito, para posteriormente evertirlos fijando los tejidos con sutura de polipropileno de 7/0 o 8/0 en la rata<sup>22,23</sup> y de 10/0 en el ratón<sup>18</sup>. En ocasiones, el bronquio es preparado justo antes del momento del implante para evitar la entrada de líquido de preservación<sup>18,20</sup>.

#### Preparación del receptor

Bajo anestesia y una adecuada analgesia, se coloca al animal en decúbito lateral derecho. Se prepara el campo quirúrgico como en el animal donante y se realiza una toracotomía lateral a través del cuarto espacio intercostal. Se extrae el pulmón izquierdo y se aíslan las principales estructuras pinzando la arteria, vena y bronquio pulmonares izquierdos, siempre lo más distal posible al pulmón. La sección de dichas estructuras se realiza lo más próximo posible al parénquima pulmonar. Para evitar la formación de coágulos, se aplica suero heparinizado (0,5-1 UI/ml) a la arteria y vena. La manipulación de todas las estructuras debe ser cuidadosa para evitar desgarros vasculares.

A continuación, se procede a realizar las anastomosis de las estructuras vasculares y del bronquio. En la figura 4 aparecen reflejadas, en una imagen real, las anastomosis realizadas con manguitos.

Una vez anastomosado el bronquio, se debe ventilar el pulmón donante para evitar la formación de atelectasias y favorecer el



**Figura 4.** Imagen real del trasplante pulmonar realizado mediante la técnica de *cuff* a nivel vascular y bronquial. DL: pulmón donante; LBr r: bronquio izquierdo de animal receptor; LPA r: arteria pulmonar izquierda de animal receptor; LPV r: vena pulmonar izquierda de animal receptor.

reclutamiento alveolar. Una rápida reperusión del pulmón indica que la permeabilidad vascular de las anastomosis es adecuada. Por último, se extrae el pulmón nativo del animal receptor, dejando únicamente el pulmón donante.

La colocación de un drenaje es fundamental para eliminar los restos de sangre, líquido o aire alrededor de los pulmones y que estos se puedan expandir con normalidad. El cierre de la cavidad torácica se realiza por planos, retirando el drenaje cuando el animal se recupera de la anestesia y comienza su ventilación espontánea.

En función del grupo de trabajo y de la técnica empleada, el tiempo necesario para completar la cirugía varía. Por lo general, se observan tiempos más bajos cuando se emplea la técnica de *cuff* que cuando se emplean suturas convencionales, especialmente, cuando

**Tabla 2**  
Comparación de distintos protocolos de trasplante pulmonar en modelo murino

Técnica	Tiempo de cirugía (min)	Tipo de anastomosis	Orden anastomosis	Longitud cuff (mm)	Diámetro cuff (mm)	Supervivencia (%)
<i>Sutura</i>						
Asimacopoulos <sup>6</sup> , 1971	No descrito	Sutura	B-A-V	-	-	50
Marck <sup>32</sup> , 1982	240	Sutura	V-A-B	-	-	80 <sup>a</sup> 50 <sup>b</sup>
Prop <sup>19</sup> , 1984	210 ± 31 y 238 ± 19	Sutura	V-A-B	-	-	89 y 75
Zhang <sup>21</sup> , 2008	78,4 ± 5,2	Sutura	B-A-V	-	-	89 <sup>a</sup> 50 <sup>b</sup>
<i>Manguitos vasculares y sutura bronquial</i>						
Mizuta <sup>33</sup> , 1989	101 ± 4,8	Manguito convencional	V-A-B	2 (cuerpo: 1; lengüeta: 1)	2 y 1,65	88,8
Kubisa <sup>34</sup> , 2003	120	Manguito convencional	V-A-B	No descrito	0,8	96,57
Mizobuchi <sup>35</sup> , 2004	116 ± 1,6	Manguito convencional	V-A-B	4 (cuerpo: 2,5; lengüeta: 1,5)	1,65	95,6
Zhai <sup>36</sup> , 2008	No descrito	Manguito modificado	A-B-V	2,5 (cuerpo: 1; lengüeta: 1,5)	1,65	No descrito
Habertheuer <sup>30</sup> , 2013	130 ± 9	Manguito convencional	B-A-V	No descrito	No descrito	100 (70-90-100)
<i>Manguitos vasculares y bronquiales</i>						
Mizuta <sup>37</sup> , 1991	64,1 ± 3,6	No descrito	No descrito	No descrito	No descrito	90 <sup>b</sup>
Reis <sup>38</sup> , 1995	108,6 ± 4,2	Manguito convencional	A-V-B	3 (cuerpo: 2; lengüeta: 1)	1,65	No descrito
Santana Rodríguez <sup>23</sup> , 2004	110 ± 12,7	Manguito convencional	V-B-A	3 (cuerpo: 1,5; lengüeta: 1,5)	2,2 y 1,65	No descrito
Mizobuchi <sup>35</sup> , 2004	84,8 ± 0,6	Manguito convencional	V-B-A	4 (cuerpo: 2,5; lengüeta: 1,5)	2,1 y 1,65	91,8
Zhai <sup>36</sup> , 2008	No descrito	Manguito modificado	A-B-V	2,5 (cuerpo: 1; lengüeta: 1,5)	1,65	No descrito
Sugimoto <sup>39</sup> , 2009	110 aprox.	No descrito	A-B-V	No descrito	No descrito	93,6
Jungrathmayr <sup>16</sup> , 2009	95,6 ± 8,5	Manguito convencional	A-B-V	Diferentes tamaños	0,64-0,51-0,4	80
Santana Rodríguez <sup>22</sup> , 2011	107,7 ± 6,2	Manguito convencional	A-B-V	3 (cuerpo: 1,5; lengüeta: 1,5)	1,65	87,6
Zheng <sup>43</sup> , 2013	96,8 ± 6,2	Manguito convencional	A-V-B	Diferentes tamaños	0,81-0,64-0,51	96,7
Zheng <sup>43</sup> , 2013	85,3 ± 6,9	Manguito modificado	A-V-B	No descrito	0,81-0,64-0,51	80

Orden de anastomosis: A: arteria; B: bronquio; V: vena.

<sup>a</sup> Mortalidad perioperatoria.

<sup>b</sup> Mortalidad postoperatoria.

esto último se realiza en vasos y bronquio. De igual manera, el índice de supervivencia es mejor cuando en las anastomosis se utilizan manguitos frente a puntos de sutura (tabla 2).

### Cuidados postoperatorios

Tras la cirugía, se debe mantener el tratamiento analgésico y antibiótico durante al menos 5-6 días, incrementándose la analgesia si se detecta dolor. La herida quirúrgica se debe limpiar y desinfectar para favorecer la cicatrización. También es necesario establecer protocolos de supervisión e incluir criterios de punto final, valorar aspectos como la pérdida de peso, el aspecto físico, el patrón ventilatorio, la presencia de cianosis o el comportamiento del animal. Cuando se produzcan alteraciones de los mismos, será necesario llevar a cabo actividades correctoras inmediatas.

### Complicaciones perioperatorias y su manejo

Las más importantes son derivadas del procedimiento quirúrgico, tanto en la preparación del donante como del receptor<sup>44</sup>. Para lograr habilidad en el manejo del material microquirúrgico y, por tanto, alcanzar éxito en la técnica quirúrgica, se requiere una curva de aprendizaje relativamente larga, con una alta mortalidad durante la puesta a punto de la cirugía<sup>15</sup>. Algunos autores establecen en 50 trasplantes el umbral para dominar la técnica<sup>20</sup>. Además, la duración del procedimiento quirúrgico y el tiempo empleado en la realización de las anastomosis influyen en la aparición de complicaciones y en la supervivencia de los animales<sup>6,16,30,32,44</sup>.

En general, el uso de manguitos requiere menor habilidad y experiencia, resultando un procedimiento más rápido que la sutura con puntos simples<sup>38,45</sup>. Los manguitos vasculares reducen el riesgo de sangrado y, por ello, se produce menos tejido de granulación, disminuyendo la posibilidad de trombosis o estenosis a largo plazo de las zonas de anastomosis<sup>38</sup>. En el bronquio, se detecta una

menor presencia de fugas, factor causante de neumotórax, lo que condiciona la funcionalidad del injerto<sup>35</sup>. No obstante, el uso de manguitos puede originar una disminución de la luz si la elección de su diámetro no es adecuada, y puede provocar una reacción de cuerpo extraño<sup>35,38,45</sup>. Los manguitos modificados, sin extensiones o lengüetas, reducen el riesgo de torsión de los vasos o bronquios tras realizar la anastomosis y el daño producido por dicha extensión. Además, al ser más pequeños producen menos reacción de cuerpo extraño<sup>36</sup>. Otras complicaciones perioperatorias referidas incluyen la rotura de la vena cava, el empiema pleural<sup>34</sup>, la parada respiratoria<sup>38</sup> o la trombosis venosa<sup>43</sup>.

En cuanto a complicaciones postoperatorias, son importantes la insuficiencia respiratoria, la hemoptisis, la trombosis de una vena o arteria bronquial, el neumotórax, las infecciones respiratorias, los derrames pleurales, el edema pulmonar y el rechazo del injerto<sup>19,46</sup>.

### Principales aportaciones científicas

Pese a la complejidad quirúrgica, los modelos de trasplante pulmonar en roedores están suficientemente estandarizados y son reproducibles, lo que permite evaluar diferentes aspectos técnicos y los mecanismos de las principales complicaciones del trasplante en humanos. Hasta el momento, el trasplante pulmonar murino ha facilitado la generación de conocimiento sobre las características de los donantes<sup>22,47</sup>, modelos de conservación y preservación pulmonar<sup>26,48,49</sup>, lesión por isquemia-reperusión<sup>48,50-52</sup> y, sobre todo, rechazo agudo y crónico (tabla 3)<sup>48,53-66</sup>.

#### Disfunción primaria del injerto por lesión isquemia-reperusión

Aparece en las primeras 72 h y se gradúa en función de la relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> y la presencia de infiltrados radiológicos, siendo una causa muy importante de morbimortalidad durante el postoperatorio inmediato.



**Tabla 3**  
Resumen de los principales aspectos evaluados mediante modelos murinos de trasplante pulmonar

Autor y año	Especie	Sexo	Cepas	Modelo	Objetivo
Aeba et al. <sup>49</sup> , 1992	Rata	Machos	Lewis (donante y receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo tras 6 o 12 h de isquemia fría	Comparación de diferentes soluciones de preservación pulmonar (Wisconsin y Euro-Collins)
Zweers et al. <sup>47</sup> , 2004	Rata	Machos	Fisher 344 (donante); Wistar Kyoto WKY (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de sutura convencional e inducción de muerte cerebral en el donante durante 6 h	Estudio del efecto de la muerte cerebral en el rechazo crónico tras el trasplante pulmonar
Okazaki et al. <sup>58</sup> , 2007	Ratón	Machos	BALB/c, C57BL/6 (B6) <sup>a</sup> (donante); B6 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff y trasplante heterotópico de tráquea	Comparativa del trasplante de tráquea y trasplante pulmonar en el estudio del rechazo agudo
Greschus et al. <sup>53</sup> , 2009	Rata	Machos	F344, Dark Agouti, WKY (donantes); WKY, Lewis, F344	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff vascular y sutura bronquial	Monitorización y evaluación del pulmón trasplantado mediante tomografía volumétrica
Santana-Rodríguez et al. <sup>52</sup> , 2011	Rata	Machos	Sprague-Dawley (donante y receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Evaluación del efecto del estradiol en la lesión pulmonar por isquemia-reperfusión
Santana Rodríguez et al. <sup>22</sup> , 2011	Rata	Machos	Sprague-Dawley (donante y receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff e inducción de muerte cerebral en el donante	Evaluación de la permeabilidad de las anastomosis y de los signos de lesión por isquemia-reperfusión similares al rechazo agudo en 2 modelos técnicos
Kreisel et al. <sup>50</sup> , 2011	Ratón	Machos	Balb/c, B6, B10.BR CD11c-EYFP (donante); B6 LysM-GFP, B6 TNF- $\alpha^{-/-}$ (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff tras 1 y 18 h de isquemia fría	Estudio de la disfunción primaria del injerto por isquemia-reperfusión
Kreisel et al. <sup>51</sup> , 2011	Ratón	Machos	B6 (donante)-B6 (B6), B6 (Bcl3)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Estudio del factor transcripcional Bcl3 y su relación con el rechazo agudo tras el trasplante pulmonar
Dodd-o et al. <sup>59</sup> , 2011	Ratón	Machos	B6, BALB/c (donante); B6 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Estudio de la atenuación del rechazo agudo mediante el uso de anticuerpos anti-CD-154
Jungraithmayr et al. <sup>55</sup> , 2012	Ratón	Machos	BALB/c (H-2Kd) (donante); B6 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Evaluación y estudio del rechazo agudo mediante microscopía electrónica de barrido
Santana-Rodríguez et al. <sup>66</sup> , 2012	Rata	Machos	Sprague-Dawley (donante y receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Evaluación del rechazo agudo en el trasplante pulmonar mediante el estudio de microarrays de ADN
Chen et al. <sup>57</sup> , 2013	Ratón	Machos	B6, BALB/c (donante); B6 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Identificación del rechazo agudo mediante el estudio del metabolismo de las células T con técnicas de imagen (microtomografía de emisión de positrones)
Erne et al. <sup>62</sup> , 2013	Rata	Machos	Brown-Norway (donante); Lewis (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Atenuación del rechazo pulmonar agudo mediante la administración de N-acetilcisteína
Tanaka et al. <sup>26</sup> , 2014	Rata	Machos	Lewis (donante y receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff tras 6 h de preservación a distintos porcentajes de inflado	Evaluación del efecto de inflado de los pulmones donantes durante la preservación pulmonar
Takahashi et al. <sup>56</sup> , 2014	Rata	Machos	Brown-Norway (BN) (donante); BN, Lewis (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Estudio de la función pulmonar en el rechazo agudo mediante técnicas no invasivas como la oscilación forzada
Kreisel et al. <sup>61</sup> , 2010	Ratón	Machos	B6 <sup>CD45.1</sup> , B6II <sup>-</sup> (donante); B6, B6Rag <sup>-/-</sup> , B6/B6II <sup>-</sup> F1 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff, así como de médula ósea	Estudio del efecto de las células pulmonares no hematopoyéticas y su acción sobre las células T CD4+
Zhou et al. <sup>60</sup> , 2015	Ratón	Machos	B6, BALB/c (donante); B6 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Relación entre el rechazo agudo y la producción de IL-17
Raissadati et al. <sup>63</sup> , 2015	Ratón	Machos	BALB/c (donante); B6 (receptor)	Trasplante heterotópico de tráquea	Estudio del efecto de la proteína CCN1 en un modelo de bronquiolitis obliterante
Wu et al. <sup>64</sup> , 2015	Ratón	Machos	C57Bl/10, B6 (donante); B6 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Estudio de la influencia de las células T CD4+ y la producción de IL-17 en un modelo de bronquiolitis obliterante
Chuck et al. <sup>54</sup> , 2016	Ratón	Machos	B6, BALB/c (H-2Kd) (donante); B6 (receptor)	Trasplante pulmonar ortotópico izquierdo con la técnica de cuff	Evaluación de los cambios producidos en el pulmón trasplantado por el rechazo agudo y lesión por isquemia-reperfusión mediante resonancia magnética ultracorta

<sup>a</sup> La cepa de ratones C57BL/6 aparece reflejada como B6.

Su análisis en modelos murinos ha permitido una mejor caracterización de los mecanismos desencadenantes, en los que la lesión primaria de los neutrófilos originada por la isquemia-reperusión parece desempeñar un papel nuclear. Así, se ha demostrado que neutrófilos aislados de las vías aéreas de receptores de trasplante estimulan las células dendríticas del donante, por un mecanismo dependiente de contacto, para inducir la producción de IL-12 y expandir linfocitos T específicos del aloantígeno<sup>50</sup>. A su vez, se ha demostrado que este fenómeno es regulado por la degranulación inducida por el TNF- $\alpha$  asociado a la membrana plasmática de los neutrófilos<sup>50</sup>. También ha sido posible identificar algunos factores moduladores de esta respuesta celular, que podrían resultar de potencial interés en la identificación de futuras vías terapéuticas. Se ha mostrado que el factor transcripcional Bcl3 limita la granulopoyesis por una vía NF-kB dependiente<sup>51</sup>.

### Rechazo celular agudo

Los modelos murinos proporcionan un medio ideal para el estudio del rechazo celular agudo, al poder evaluar en cepas puras el grado de concordancia o discordancia del antígeno mayor de histocompatibilidad. Esto resulta particularmente favorecido por el desarrollo de sistemas de monitorización específicos para este modelo de trasplante. Además de los lavados broncoalveolares para el estudio de la celularidad de las vías aéreas y de medir la capacidad de oxigenación a través de los gases en sangre arterial, se han generado técnicas de imagen propias, como la tomografía volumétrica<sup>53</sup> o la resonancia magnética ultracorta<sup>54</sup>, que junto con la evaluación histológica de los cambios ultraestructurales del rechazo agudo mediante microscopia de barrido<sup>55</sup> facilitan una mejor monitorización del pulmón trasplantado.

También se han desarrollado procedimientos complementarios para la evaluación de la función pulmonar. Así, la oscilación forzada resulta muy útil en los modelos murinos, ya que tanto la elasticidad dinámica como la dependencia de frecuencia de las resistencias parecen tener capacidad predictiva del grado de rechazo agudo<sup>56</sup>, constituyéndose como índices no invasivos para la detección y monitorización de su progresión. En un ámbito de imagen-función, la microtomografía de emisión de positrones permite identificar un mayor consumo de <sup>18</sup>fluorodesoxiglucosa por neutrófilos y linfocitos CD8<sup>57</sup>, pudiendo identificar más precisamente el rechazo agudo a través de la valoración del metabolismo de las células T.

La evaluación de los mecanismos patogénicos del rechazo agudo en modelos murinos ha facilitado el desarrollo de intervenciones para prolongar la supervivencia del injerto, por ejemplo, mediante el bloqueo de los coestimuladores anti-CD28-B7 y del ligando CD40-CD40<sup>58</sup>. Otros autores han demostrado en un modelo de trasplante pulmonar ortotópico murino MHC-discordante que la monoterapia con anticuerpos anti-CD154 podría ser suficiente para atenuar el rechazo agudo<sup>59</sup>, debido a un bloqueo de la coestimulación CD154/CD40, que favorece un desplazamiento del entorno del injerto hacia un predominio de células T reguladoras CD4(+) CD25(+) Foxp3(+)<sup>60</sup>. También se ha referido que algunas células pulmonares no hematopoyéticas pueden desempeñar un importante papel en la supresión in vivo de las respuestas inmunes mediadas por células T CD4(+)<sup>61</sup>.

Aunque todavía muy incipiente, estos hallazgos podrían tener una potencial traslación clínica mediante el tratamiento con N-acetilcisteína. En modelos murinos, se ha demostrado que su administración tiene capacidad para atenuar el rechazo pulmonar agudo por reducción del infiltrado de macrófagos y células T, que está íntimamente relacionada con la disminución de la vía de señalización inflamatoria mediada por NF-kB<sup>62</sup>.

### Rechazo crónico

Suele manifestarse mediante el desarrollo de bronquiolitis obliterante, debida a una infiltración celular de linfocitos y neutrófilos atribuida a un conjunto de factores, como una activación excesiva de la respuesta del sistema inmune innato, una angiogénesis anormal o una inadecuada regeneración epitelial y remodelado del tejido linfoproliferativo<sup>48</sup>.

Aunque cada modelo animal tiene ventajas y limitaciones para el estudio de la bronquiolitis obliterante, el modelo de bronquiolitis obliterante secundario al trasplante pulmonar murino resulta más próximo al rechazo crónico humano que otros modelos de bronquiolitis obliterante inducida por agentes químicos. Además, permite valorar de forma seriada tanto la función pulmonar como múltiples alteraciones morfológicas o en la función celular, y probar la eficacia de diversos fármacos. Otra ventaja sustancial viene dada por la disponibilidad de cepas knock-out y transgénicas de modelos de múltiples enfermedades humanas, lo que permite reproducir situaciones de rechazo crónico relativamente similares a las desarrolladas en distintas enfermedades respiratorias terminales, así como evaluar la contribución de potenciales vías de señalización.

Sin embargo, algunos factores de la anatomía y fisiología del pulmón murino ocasionan dificultades de traslación. En relación con los pulmones humanos, los bronquiolos murinos tienen una disminución de las glándulas submucosas y un mayor número de células Clara, lo que genera un entorno protector frente a la lesión del epitelio bronquiolar, principalmente mediante la secreción de proteína secretada por las células Clara y una solución similar al surfactante pulmonar, lo que determina una mayor lesión vascular que epitelial en estos modelos de rechazo<sup>58</sup>. No obstante, en los últimos años se han realizado importantes avances en el desarrollo de diversos modelos de bronquiolitis obliterante en el ratón<sup>63-65</sup>, así como estudios con microarrays de ADN para evaluar el rechazo crónico tras el trasplante<sup>66</sup>.

En conclusión, se han producido importantes desarrollos técnicos en el trasplante pulmonar murino, permitiendo la elección de diversas alternativas quirúrgicas con una notable viabilidad de los animales trasplantados. Esto determina una mayor accesibilidad a estos modelos experimentales quirúrgicos, que han demostrado su capacidad para generar conocimiento sobre los mecanismos patogénicos de la lesión por isquemia-reperusión y del rechazo, con una potencial traslación al ser humano a medio plazo.

### Financiación

Este trabajo ha sido subvencionado por la ayuda FPU2013-01638 a Daniel Ruiz-Pérez otorgada por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, España. El financiador no tiene ningún papel en el diseño del estudio, recogida y análisis de los datos, ni en la preparación del manuscrito.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

- Whitson BA, Hayes D. Indications and outcomes in adult lung transplantation. *J Thorac Dis.* 2014;6:1018-23.
- Kirkby S, Hayes D. Pediatric lung transplantation: Indications and outcomes. *J Thorac Dis.* 2014;6:1024-31.
- Moreno Galdó A, Solé Montserrat J, Roman Broto A. Lung transplantation in children. Specific aspects. *Arch Bronconeumol.* 2013;49:523-8.
- Konstantinov IE. At the cutting edge of the impossible. *Tex Heart Inst J.* 2009;36:453-8.
- Langer RM, Vladimir P, Demikhov, a pioneer of organ transplantation. *Transplant Proc.* 2011;43:1221-2.

6. Asimacopoulos PJ, Molokhia FA, Pegg CA, Norman JC. Lung transplantation in the rat. *Transplant Proc.* 1971;3:583.
7. Lillehei CW, Everts E, Shamberg RC. Reduced-size lung transplantation from adult to neonatal sheep. *J Pediatr Surg.* 1992;27:1153-6.
8. Hausen B, Gummert J, Berry GJ, Christians U, Serkova N, Ikonen T, et al. Prevention of acute allograft rejection in nonhuman primate lung transplant recipients: Induction with chimeric anti-interleukin-2 receptor monoclonal antibody improves the tolerability and potentiates the immunosuppressive activity of a regimen using low doses of both microemulsion cyclosporine and 40-O-(2-hydroxyethyl)-rapamycin. *Transplantation.* 2000;69:488-96.
9. Platt J, DiSesa V, Gail D, Massicot-Fisher J, National Heart, Lung, and Blood Institute Heart, Lung Xenotransplantation Working Group. Recommendations of the National Heart, Lung, and Blood Institute Heart and Lung Xenotransplantation Working Group. *Circulation.* 2002;106:1043-7.
10. Lambripts D, Sachs DH, Cooper DK. Discordant organ xenotransplantation in primates: World experience and current status. *Transplantation.* 1998;66:547-61.
11. Yoshida S, Sekine Y, Saitoh Y, Yasufuku K, Iwata T, Fujisawa T. Surgical technique of experimental lung transplantation in rabbits. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;11:7-11.
12. Herr NG. Orthotopic transplantation of the rat heart and lungs. *Bull N Y Acad Med.* 1971;47:1227.
13. Maruyama T, Swartz MT, McBride LR, Pennington DG. Working heart model of heterotopic heart-lung transplantation in rats. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;107:210-5.
14. Lee S, Willoughby WF, Smallwood CJ, Dawson A, Orloff MJ. Heterotopic heart and lung transplantation in the rat. *Am J Pathol.* 1970;59:279-98.
15. Okazaki M, Krupnick AS, Kornfeld CG, Lai JM, Ritter JH, Richardson SB, et al. A mouse model of orthotopic vascularized aerated lung transplantation. *Am J Transplant.* 2007;7:1672-9.
16. Jungraithmayr WM, Korom S, Hillinger S, Weder W. A mouse model of orthotopic, single-lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;137:486-9.
17. Kalimeris K, Zerva A, Matsota P, Nomikos T, Fragopoulou E, Politi AN, et al. Pre-treatment with sevoflurane attenuates direct lung injury. *Minerva Anesthesiol.* 2014;80:635-44.
18. Li W, Sugimoto S, Lai J, Patterson GA, Gelman AE, Krupnick AS, et al. Orthotopic vascularized right lung transplantation in the mouse. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;139:1637-43.
19. Prop J, Ehrle MG, Crapo JD, Nieuwenhuis P, Wildevuur CR. Reimplantation response in isografted rat lungs. Analysis of causal factors. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1984;87:702-11.
20. Krupnick AS, Lin X, Li W, Okazaki M, Lai J, Sugimoto S, et al. Orthotopic mouse lung transplantation as experimental methodology to study transplant and tumor biology. *Nat Protoc.* 2009;4:86-93.
21. Zhang Q, Wang D, Yin N, Yin B, Fang R, Xiao X, et al. The orthotopic left lung transplantation in rats: A valuable experimental model without using cuff technique. *Transpl Int.* 2008;21:1090-7.
22. Santana Rodríguez N, Llontop Santisteban P, López García A, Clavo B, Ponce González MA, Rodríguez Bermejo JC, et al. Technical modifications of the orthotopic lung transplantation model in rats with brain-dead donors. *Arch Bronconeumol.* 2011;47:488-94.
23. Santana Rodríguez N, Martín Barrasa JL, López García A, Rodríguez Suárez P, Ponce González M, Freixinet Gilart J. [Lung transplantation in rats: A viable experimental model]. *Arch Bronconeumol.* 2004;40:438-42.
24. Kayano K, Toda K, Naka Y, Pinsky DJ. Identification of optimal conditions for lung graft storage with Euro-Collins solution by use of a rat orthotopic lung transplant model. *Circulation.* 1999;100 Suppl. 19:I257-61.
25. DeCampos KN, Keshavjee S, Liu M, Slutsky AS. Optimal inflation volume for hypothermic preservation of rat lungs. *J Heart Lung Transplant.* 1998;17:599-607.
26. Tanaka Y, Shigemura N, Noda K, Kawamura T, Isse K, Stolz DB, et al. Optimal lung inflation techniques in a rat lung transplantation model: A revisit. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;62:427-33.
27. De Perrot M, Keshavjee S. Lung preservation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;16:300-8.
28. Fischer S, Matte-Martyn A, de Perrot M, Waddell TK, Sekine Y, Hutcheon M, et al. Low-potassium dextran preservation solution improves lung function after human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001;121:594-6.
29. Strüber M, Hohlfeld JM, Fraund S, Kim P, Warnecke G, Haverich A. Low-potassium dextran solution ameliorates reperfusion injury of the lung and protects surfactant function. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;120:566-72.
30. Habertheuer A, Kocher A, Laufer G, Petzelbauer P, Andreas M, Aharinejad S, et al. Innovative, simplified orthotopic lung transplantation in rats. *J Surg Res.* 2013;185:419-25.
31. Gohrbandt B, Simon AR, Warnecke G, Fischer S, Hagl C, Niehaus A, et al. Lung preservation with perfadex or celsior in clinical transplantation: A retrospective single-center analysis of outcomes. *Transplantation.* 2015;99:1933-9.
32. Marck KW, Wildevuur CR. Lung transplantation in the rat: I. Technique and survival. *Ann Thorac Surg.* 1982;34:74-80.
33. Mizuta T, Kawaguchi A, Nakahara K, Kawashima Y. Simplified rat lung transplantation using a cuff technique. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1989;97:578-81.
34. Kubisa B, Schmid RA, Grodzki T. Model of single left rat lung transplantation. Relation between surgical experience and outcomes. *Rocz Akad Med W Białymst.* 2003;48:70-3.
35. Mizobuchi T, Sekine Y, Yasufuku K, Fujisawa T, Wilkes DS. Comparison of surgical procedures for vascular and airway anastomoses that utilize a modified non-suture external cuff technique for experimental lung transplantation in rats. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23:889-93.
36. Zhai W, Ge J, Inci I, Hillinger S, Markus C, Korom S, et al. Simplified rat lung transplantation by using a modified cuff technique. *J Investig Surg.* 2008;21:33-7.
37. Mizuta T, Nakahara K, Shirakura R, Fujii Y, Kawaguchi A, Minami M, et al. Total nonmicrosuture technique for rat lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1991;102:159-60.
38. Reis A, Gaiad A, Serrick C, Shennib H. Improved outcome of rat lung transplantation with modification of the nonsuture external cuff technique. *J Heart Lung Transplant.* 1995;14:274-9.
39. Sugimoto R, Nakao A, Nagahiro I, Kohmoto J, Sugimoto S, Okazaki M, et al. Experimental orthotopic lung transplantation model in rats with cold storage. *Surg Today.* 2009;39:641-5.
40. Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation.* 1979;28:47-50.
41. Kamada N, Calne RY. A surgical experience with five hundred thirty liver transplants in the rat. *Surgery.* 1983;93:64-9.
42. Miyata M, Fischer JH, Fuhs M, Isselhard W, Kasai Y. A simple method for orthotopic liver transplantation in the rat. Cuff technique for three vascular anastomoses. *Transplantation.* 1980;30:335-8.
43. Zheng Z, Wang J, Huang X, Jiang K, Nie J, Qiao X, et al. Improvements of the surgical technique on the established mouse model of orthotopic single lung transplantation. *PLoS One.* 2013;8:e81000.
44. Tsushima Y, Jang J-H, Wurnig MC, Boss A, Suzuki K, Weder W, et al. Mastering mouse lung transplantation from scratch — a track record. *J Surg Res.* 2013;185:426-32.
45. Hirschburger M, Greschus S, Kuchenbuch T, Plötz C, Obert M, Traupe H, et al. Lung transplantation in the Fischer 344→Wistar Kyoto rat strain combination is not suitable to study bronchiolitis obliterans. *J Heart Lung Transplant.* 2007;26:390-8.
46. Khan SU, Salloum J, O'Donovan PB, Mascha EJ, Mehta AC, Matthay MA, et al. Acute pulmonary edema after lung transplantation: The pulmonary reimplantation response. *Chest.* 1999;116:187-94.
47. Zweers N, Petersen AH, van der Hoeven JAB, de Haan A, Ploeg RJ, de Leij LF, et al. Donor brain death aggravates chronic rejection after lung transplantation in rats. *Transplantation.* 2004;78:1251-8.
48. Lin X, Li W, Lai J, Okazaki M, Sugimoto S, Yamamoto S, et al. Five-year update on the mouse model of orthotopic lung transplantation: Scientific uses, tricks of the trade, and tips for success. *J Thorac Dis.* 2012;4:247-58.
49. Aeba R, Keenan RJ, Hardesty RL, Yousem SA, Hamamoto I, Griffith BP. University of Wisconsin solution for pulmonary preservation in a rat transplant model. *Ann Thorac Surg.* 1992;53:240-5, discussion 245-6.
50. Kreisel D, Sugimoto S, Zhu J, Nava R, Li W, Okazaki M, et al. Emergency granulopoiesis promotes neutrophil-dendritic cell encounters that prevent mouse lung allograft acceptance. *Blood.* 2011;118:6172-82.
51. Kreisel D, Sugimoto S, Tietjens J, Zhu J, Yamamoto S, Krupnick AS, et al. Bcl3 prevents acute inflammatory lung injury in mice by restraining emergency granulopoiesis. *J Clin Invest.* 2011;121:265-76.
52. Santana-Rodríguez N, Clavo B, Llontop P, López A, García-Castellano JM, Machín RP, et al. Estradiol worsens the syndrome of ischemia-reperfusion injury in an experimental lung transplantation model. *Lung.* 2011;189:251-5.
53. Greschus S, Kuchenbuch T, Plötz C, Obert M, Traupe H, Padberg W, et al. Monitoring of experimental rat lung transplants by high-resolution flat-panel volumetric computer tomography (fpVCT). *J Investig Surg.* 2009;22:69-75.
54. Chuck NC, Boss A, Wurnig MC, Weiger M, Yamada Y, Jungraithmayr W. Ultra-short echo-time magnetic resonance imaging distinguishes ischemia/reperfusion injury from acute rejection in a mouse lung transplantation model. *Transpl Int.* 2016;29:108-18.
55. Jungraithmayr W, Draenert A, Marquardt K, Weder W. Ultrastructural changes in acute lung allograft rejection: Novel insights from an animal study. *J Heart Lung Transplant.* 2012;31:94-100.
56. Takahashi A, Hamakawa H, Sakai H, Zhao X, Chen F, Fujinaga T, et al. Noninvasive assessment for acute allograft rejection in a rat lung transplantation model. *Physiol Rep.* 2014;2:e12244.
57. Chen DL, Wang X, Yamamoto S, Carpenter D, Engle JT, Li W, et al. Increased T cell glucose uptake reflects acute rejection in lung grafts. *Am J Transplant.* 2013;13:2540-9.
58. Okazaki M, Gelman AE, Tietjens JR, Ibricevic A, Kornfeld CG, Huang HJ, et al. Maintenance of airway epithelium in acutely rejected orthotopic vascularized mouse lung transplants. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007;37:625-30.
59. Dodd-o JM, Lendermon EA, Miller HL, Zhong Q, John ER, Jungraithmayr WM, et al. CD154 blockade abrogates allospecific responses and enhances CD4(+) regulatory T-cells in mouse orthotopic lung transplant. *Am J Transplant.* 2011;11:1815-24.
60. Zhou W, Zhou X, Gaowa S, Meng Q, Zhan Z, Liu J, et al. The critical role of induced CD4+ FoxP3+ regulatory cells in suppression of interleukin-17 production and attenuation of mouse orthotopic lung allograft rejection. *Transplantation.* 2015;99:1356-64.
61. Kreisel D, Richardson SB, Li W, Lin X, Kornfeld CG, Sugimoto S, et al. Cutting edge: MHC class II expression by pulmonary nonhematopoietic cells plays a critical role in controlling local inflammatory responses. *J Immunol.* 2010;185:3809-13.
62. Erne BV, Jungraithmayr W, Buschmann J, Arni S, Weder W, Inci I. Effect of N-acetylcysteine on acute allograft rejection after rat lung transplantation. *Ann Thorac Surg.* 2013;95:1021-7.



63. Raissadati A, Nykänen AI, Tuuminen R, Syrjälä SO, Krebs R, Arnaudova R, et al. Systemic overexpression of matricellular protein CCN1 exacerbates obliterative bronchiolitis in mouse tracheal allografts. *Transpl Int*. 2015;28:1416–25.
64. Wu Q, Gupta PK, Suzuki H, Wagner SR, Zhang C, Cummings OW, et al. CD4T cells but not Th17 cells are required for mouse lung transplant obliterative bronchiolitis. *Am J Transplant*. 2015;15:1793–804.
65. Bribiesco AC, Li W, Nava RG, Spahn JH, Kreisel D. Experimental models of lung transplantation. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2013;5:266–72.
66. Santana-Rodríguez N, García-Herrera R, Clavo B, Llontop P, Ponce-González MA, Villar J, et al. Searching for novel molecular targets of chronic rejection in an orthotopic experimental lung transplantation model. *J Heart Lung Transplant*. 2012;31:213–21.