DOI:10.23873/2074-0506-2018-10-4-308-326

Увеличит ли аппаратная перфузия печени количество донорских органов, пригодных для трансплантации?

В.А. Гуляев[1], С.В. Журавель[1], М.С. Новрузбеков[1], О.Д. Олисов[1], К.Н. Луцык[1], М.Г. Минина[2], А.С. Миронов[1], Н.К. Кузнецова[1], К.М. Магомедов[1], М.Ш. Хубутия[1]

[1] ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», 129090, Россия, Москва, Большая Сухаревская площадь, д. 3;

[2] МКЦОД ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ», 125284, Россия, Москва, 2-й Боткинский пр-д, д. 5

Контактная информация: Владимир Алексеевич Гуляев, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения трансплантации почки и поджелудочной железы НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, e-mail: vgulyaev-8@yandex.ru

Дата поступления статьи: 29.08.2018

Принята в печать: 13.09.2018

Во всем мире наблюдается тенденция к росту числа пациентов, ожидающих трансплантацию печени, несмотря на увеличение общего количества операций по трансплантации печени. Решение проблемы дефицита донорских органов возможно за счет использования органов от маргинальных доноров, а именно органов, изъятых после остановки сердца, органов с большим процентом жирового гепатоза, а также органов от доноров в возрасте старше 60 лет. Основная причина отказа от их применения – риск развития тяжелых осложнений и неблагоприятного исхода операции. Статическая холодовая консервация на сегодняшний день – основной метод защиты донорских органов от тепловых повреждений, обладающий достаточно эффективными протективными свойствами. В то же время продолжительность холодовой консервации имеет ограниченный временной интервал. Всегда существует неопределенность относительно жизнеспособности органа. Современные методы оценки донорских органов – анамнез донора, лабораторные данные, визуальный осмотр и морфология – не позволяют достоверно прогнозировать функцию печени после трансплантации. В связи с этим разработка методов консервации органа после изъятия, которые не ухудшают качество органа или даже способны восстановить утраченные функции, является актуальной. Аппаратная перфузия печени представляет собой одну из новых концепций, направленных на решение данной проблемы. В статье освещен международный опыт применения аппаратной перфузии донорской печени за последние 15 лет. Аппаратная перфузия представляет собой перспективное направление развития трансплантологии, позволяющее сократить дефицит донорских органов и улучшить их качество.

Ключевые слова: аппаратная перфузия, донорские органы, трансплантация печени

Гуляев В.А., Журавель С.В., Новрузбеков М.С. и др. Увеличит ли аппаратная перфузия печени количество донорских органов, пригодных для трансплантации? Трансплантология. 2018;10(4):308–326. DOI:10.23873/2074-0506-2018-10-4-308-326

Will the machine perfusion of the liver increase the number of donor organs suitable for transplantation?

V.A. Gulyaev[1], S.V. Zhuravel'[1], M.S. Novruzbekov[1], O.D. Olisov[1], K.N. Lutsyk[1], M.G. Minina[2], A.S. Mironov[1], N.K. Kuznetsova[1], K.M. Magomedov[1], M.Sh. Khubutiya[1]

[1] N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, 3 Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow 129090 Russia;

[2] Moscow Coordination Center of Organ Donation at the City Clinical Hospital n.a. S.P. Botkin, 5 2-nd Botkinskiy Dr., Moscow 125284 Russia

Correspondence to: Vladimir A. Gulyaev, Dr. Med. Sci., Leading Researcher of the Kidney and Pancreas Transplantation Department, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, e-mail: vgulyaev-8@yandex.ru

Received: August 29, 2018

Accepted for publication: September 13, 2018

Worldwide, there is a trend towards an increase in the number of patients waiting for liver transplantation, despite an increase in the total number of liver transplantation operations. Solving the problem of donor organ shortage is possible through the use of organs from marginal donors: organs removed after cardiac arrest, organs with a high percentage of steatosis, organs from donors over the age of 60 years. The main reason for refusing to use them is the risk of severe complications and an unfavorable outcome of the operation. Static cold preservation today is the main method of protecting donor organs from thermal damage, which possesses rather effective protective properties. At the same time, the duration of cold preservation has a limited time interval. There is always uncertainty about the viability of the organ. Modern methods for assessing donor organs such as donor history, laboratory data, visual examination and morphology, do not reliably predict liver function after transplantation. In this regard, the development of methods for preserving the organ after removing, which do not degrade the quality of the organ or even are capable of restoring the lost functions, is relevant. The machine perfusion of the liver is one of the new concepts aimed at solving this problem. The article highlights the international experience of using the machine perfusion of the donor liver over the past 15 years. Machine perfusion is a promising trend of transplantation development, which allows reducing the shortage of donor organs and improving their quality.

Keywords: machine perfusion, donor organs, liver transplantation

Gulyaev V.A., Zhuravel' S.V., Novruzbekov M.S., et al. Will the machine perfusion of the liver increase the number of donor organs suitable for transplantation? *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation.* 2018;10(4):308–326. (In Russian). DOI:10.23873/2074-0506-2017-10-4-308-326

АЛТ – аланинаминотрансфераза
АП – аппаратная перфузия
АСТ – аспартатаминотрансфераза
АТФ – аденозинтрифосфорная кислота
АФК – активные формы кислорода
ГАП – гипотермическая аппаратная перфузия
ДБС – доноры с бьющимся сердцем
ДОС – доноры после остановки сердца
ДРК – доноры с расширенными критериями оценки
ИРП – ишемические и реперфузионные повреждения
ММР – матриксные металлопротеиназы
НАП – нормотермическая аппаратная перфузия
НрАП – нормотермическая региональная аппаратная перфузия
ПНФТ – первично нефункционирующий трансплантат
СнАП – субнормотермическая аппаратная перфузия
СнрАП – субнормотермическая региональная аппаратная перфузия
СХК – стационарная холодовая консервация
ТП – трансплантация печени
фV – фактор Виллебранда
DAMPs – протеины, высвобождаемые из цитоплазмы при повреждении клетки
ICAM-1 – молекулы межклеточной адгезии 1
IL-13, IL-17 – Т-клеточные цитокины
MELD – модель оценки терминальной стадии заболевания печени
NO – оксид азота
TLR-4 – рецепторы клеток Купфера
TNF – фактор некроза опухоли
TNF-α, IL6, IL8 – провоспалительные цитокины
UW – Висконсинский университет

Трансплантация органов явилась стимулом развития новых технологий в медицине. После предшествующих экспериментальных работ, в том числе и в СССР, Т. Старзл (США) выполнил первую трансплантацию печени (ТП) человеку в 1963 г. [1]. ТП стала основным методом лечения пациентов с терминальной стадией заболевания печени. Так, за один только 2012 г. в 68 странах мира выполнены 23 986 ТП. За последние годы летальность после ТП значительно снизилась, и эта операция стала «золотым стандартом» терапии декомпенсированных заболеваний печени [2]. В настоящее время наблюдается увеличение числа пациентов, ожидающих операцию, и разница между количеством нуждающихся в пересадке и доступных для этого органов постоянно растет. К примеру, в США выполнены 6729 ТП в 2014 г., при этом лист ожидания в течение года увеличился на 10 648 человек [3]. Летальность в листе ожидания составляет от 11,1 до 30% [4].

Необходимость увеличения донорского пула способствовала использованию маргинальных доноров, а именно донорских органов, изъятых после остановки сердца, органов с большим процентом жирового гепатоза, а также органов от доноров в возрасте старше 60 лет [5]. Согласно отчету за 2014 г., зарегистрированы около 15% потенциальных доноров после остановки сердца, но только 6% из них стали реальными. До 20% пересаженных в США органов получено от доноров старше 60 лет [6].

При пересадке печени от доноров после остановки сердца (ДОС) с пролонгированной тепловой ишемией значимо выше частота развития первично нефункционирующего трансплантата (ПНФТ) и билиарных осложнений [7–9]. Макровезикулярный гепатоз более 30% также отрицательно влияет на исход операции в целом. Следует отметить, что распространенность гепатоза составляет от 6 до 33% (в среднем 20% в общей популяции населения) [10,11].

Статическая холодовая консервация и ее недостатки (0–4 °C)

Статическая холодовая консервация (СХК) в настоящее время составляет основу защиты от тепловых повреждений донорских органов. Однако даже лучшие консервирующие растворы не защищают трансплантат от повреждения. Это обусловлено двумя факторами, тесно связанными как с продолжительностью ишемии, так и с самим охлаждением [12]. В то время как орган лишен доставки кислорода, охлаждение замедляет обменные процессы без потери жизнеспособности. При этом потребление энергии и метаболическая активность не прекращаются, а уменьшаются (примерно в 12 раз), происходят истощение содержания аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и повреждение митохондрий. Охлаждение напрямую повреждает плазменную мембрану, цитоскелет, микротубулы [12] с блокированием ионообменных насосов, и при клеточном мембранном отеке приводит к лизированию клетки. Основным компонентом, вызывающим повреждение, являются активные формы кислорода (АФК), которые образуются во время ишемии. Механизмы, лежащие в основе образования АФК, включают продукцию гипоксантина (метаболический продукт АТФ), появление избытка кальция в митохондриях [13], активацию нейтрофилов, высвобождение цитокинов и стимуляцию комплемента [14]. Предполагают, что в условиях гипотермии инициируется высвобождение внутриклеточных белков (DAMPs), являющихся прямыми инициаторами воспалительной реакции [15].

При восстановлении венозного кровоснабжения (реперфузии) трансплантата митохондрии чрезмерно потребляют кислород в течение первых 10 минут со значительным выделением АФК [16]. Избыточные внутриклеточные АФК гидроксилируют молекулу дезоксирибонуклеиновой кислоты в ядре и способствуют выделению ядерной секвенции HMGB-1. Клетки Купфера, активированные через рецептор (TLR-4), становятся основными мишенями для HMGB-1. Реперфузионное повреждение органа приводит к активации эндотелиальных клеток и Т-клеток посредством цитокинов (IL-13 и IL-17), которые дополнительно вызывают инфильтрацию нейтрофилов, стимулируют развитие фиброза трансплантата и пролиферацию внутрипеченочных холангиоцитов [16, 17].

СХК обладает достаточно эффективными протективными свойствами. В то же время продолжительность холодовой консервации имеет ограниченный временной интервал, а использование маргинальных донорских органов сопровождается высоким риском развития тяжелых осложнений и неблагоприятного исхода операции [18]. Современные (часто субъективные) методы оценки органов, включающие анамнез донора, предоперационный биохимический анализ, визуальный осмотр и морфологию, не позволя-

ют достоверно прогнозировать функцию печени после пересадки [19]. Для использования органов от ДОС или других маргинальных доноров необходимы более надежные методы прогнозирования послеоперационной функции. Всегда существует неопределенность относительно жизнеспособности органа. В связи с этим разработка методов консервации органа после изъятия, которые не ухудшают качество органа и даже способны восстановить утраченные функции, является актуальной.

История развития аппаратной перфузии

Аппаратная перфузия (АП) печени не является новой концепцией. Эта привлекательная идея возвращает нас в 1930-е гг., когда Алексис Каррел и Чарльз Линдберг впервые инфузировали органы животных нормотермической сывороткой крови в стеклянных сосудах с контролируемым давлением, обеспечивая рециркуляцию, фильтрование и оксигенирование раствора, и продемонстрировали жизнеспособность тканей в течение нескольких дней [20]. По мере приближения трансплантации к клинической практике в 1960-х гг. их система не смогла поддерживать функцию печени человека даже в течение нескольких часов, но органы собаки сохранялись при +12–15 °С в аутологичной крови при использовании экстракорпоральной бедренно-бедренной перфузии [21]. Инфузию проводили после прекращения естественного кровообращения без промывания органов in situ, и существующая тепловая ишемия была вероятной причиной последующих цитолиза, гипербилирубинемии и коагулопатии [21]. Kestens et al. [22] в 1966 г. использовали оксигенированную кровь и успешно сохраняли печень собак в течение 5 часов для трансплантации при +10–18 °С. Пульсирующая перфузия только через артерию печени при применении гипербарического оксигенированного раствора была выполнена в 1967 г. с неудовлетворительными результатами [23]. Brettschneider et al. [24] осуществляли перфузию воротной вены и артерии смесью консервирующего раствора и аутологичной крови в эксперименте на собаках, и все 7 животных перенесли операцию и первую неделю после операции.

Внедрение эффективных консервирующих растворов (Висконсинского университета (UW), кустодиола (HTK), цельсиора) с 1970-го по 2000 г., простота использования методики СХК привели к отказу от разработок АП [25]. СХК внедрили в клиническую практику как безальтернативный вариант защиты органа от момента его изъятия до реперфузии. При этом методика динамической консервации с использованием плазмы или растворов на основе крови уже была готова для клинического применения [26].

В последние годы наблюдается ренессанс интереса к динамической методике консервации. Опубликовано множество исследований по использованию донорских органов после АП, при которых отмечают значительные успехи как в эксперименте, так и в клинических условиях. В настоящее время АП позиционируется как перспективная альтернатива СХК. АП осуществляет протекцию донорского органа, обеспечивая доставку кислорода и питательных веществ, кроме того, позволяет восстановить и оптимизировать функциональность печени, обеспечивает возможность тестирования качества и жизнеспособности органа до трансплантации ex situ. Сообщается о методике «обезжиривания» при АП, которая снижает степень стеатоза [27].

Способы динамической консервации донорских органов

Динамическая консервация внедряется в клиническую практику. В настоящее время предлагаются гипотермическая аппаратная перфузия (ГАП), субнормотермическая аппаратная перфузия (СнАП), субнормотермическая регионарная аппаратная перфузия (СнрАП), нормотермическая аппартная перфузия (НАП) и нормотермическая регионарная аппартная перфузия (НрАП). При гипотермической динамической консервации используют низкую температуру (+4–10 °С) и перфузат, предложенный еще Belzer et al. [28]. Во время динамической консервации перфузат непрерывно инфузируется через сосуды в трансплантат. Теплообменный аппарат регулирует температуру перфузата от гипотермии до субнормотермии или нормотермии. Перед извлечением органа восстанавливают рециркуляцию донорской крови или раствора, тем самым защищая орган от гипоксии и тепловой ишемии. АП начинают в ходе донорской операции, нагнетая кровь или раствор через канюлю, установленную в бедренную артерию или аорту (региональная абдоминальная перфузия). Но чаще используют АП после периода СХК.

АП выполняют при трех основных температурных режимах: гипотермическом (0–10 °С), субнормотермическом (+20–33 °С), нормотер-

мическом (+35–38 °С) – и редко применяют среднетермический режим (+13–20 °С). ГАП (0–12 °С) чаще проводят при температурах +10 °С и ниже, что связано с метаболизмом и ферментативными реакциями, которые сокращаются до 20% или даже ниже. Поскольку скорости многочисленных энергозависимых митохондриальных реакций значительно замедляются при +12,5 °С [29], эта температура и считается точкой отсечения для ГАП. СнАП в большинстве случаев проводят при +20–22 °С. НАП (+35–38 °С) все больше рассматривается как наиболее привлекательная альтернатива СХК, так как она эффективно уменьшает гепатоцеллюлярные повреждения и улучшает функцию аллотрансплантата [30].

Оксигенированная гипотермическая аппаратная перфузия (+1–13 °С)

Первые устройства для АП обеспечили постоянное или пульсирующее давление с ограниченной оксигенацией [31]. Продукты распада АТФ в норме преобразуются в ксантиндегидрогеназу и мочевую кислоту, а в ишемической среде они превращаются в ксантиноксидазу, которая в следующей фазе при наличии кислорода преобразуется в ксантин и свободные радикалы, вызывая перекисное окисление липидов и дальнейшее разрушение клеток [32].

Значение ГАП становится очевидным, если учесть, что митохондрии являются центральным звеном в опосредованном повреждении ишемизированной клетки [33]. Однако митохондриальные и другие клеточные процессы нормально не функционируют при гипотермическом состоянии. СХК приводит к снижению клеточного метаболизма и уменьшению расхода АТФ. Так, на каждые 10 °С падения температуры метаболизм замедляется в 1,5–2 раза. При этом анаэробный метаболизм и потребление АТФ продолжаются даже при +1 °С, а при реперфузии развивается каскад ишемических и реперфузионных повреждений (ИРП). Ранние ГАП при низких температурах не предусматривали использования кислородонесущего компонента, поскольку фракция кислорода в перфузате была достаточной для поддержания адекватного метаболизма в условиях гипотермии в течение короткого периода [34]. Guarrera et al. показали, что даже в открытой системе без оксигенатора можно добиться насыщения кислородом в перфузате более 120 мм рт.ст. [41]. Установлено, что кратковременные периоды ГАП с оксигенацией перфузата после СХК значительно улучшали восстановление клеточного энергетического заряда, при этом регистрировали увеличение АТФ в печени и содержания гликогена [35]. В связи с этим авторы сделали вывод о необходимости постоянной подачи кислорода для успешной ГАП.

Кроме того, изучаются оптимальная продолжительность, режим использования АП печени (непрерывная или интермиттирующая перфузия), уровень давления перфузата, а также путь подачи перфузата. Экспериментальные исследования ГАП на печени в течение последних 15 лет показали улучшение сохранности гепатоцитов и эндотелиальных клеток по сравнению с СХК. ГАП не сопровождается увеличением длительности консервации по сравнению с СХК. Сторонники АП только через артерию печени подчеркивают улучшенную подачу кислорода к перибилиарному сосудистому сплетению в отличие от перфузии через воротную вену. В то же время большинство междолевых желчных протоков сопровождается ветвями воротной вены, и перфузия только через воротную вену также является эффективной. Недавние клинические исследования показали целесообразность кратковременной перфузии одновременно через артерию и воротную вену при температуре +4–8 °С [36]. Основной областью повреждения при ГАП или СХК являются синусоидальные эндотелиальные клетки. Повышение перфузионного давления при ГАП приводило не только к хорошей перфузии, но и увеличению повреждений этих клеток [37].

Высокая скорость инфузионного потока также повреждала синусоидальный эндотелий, приводила к повышению экспрессии фактора Виллебранда (фV) и фактора некроза опухоли (TNF) с последующей активацией эндотелия клеток Купфера [38]. Установлено, что наиболее эффективным является давление в воротной вене 3–5 мм рт.ст., а в артерии – 20–30 мм рт.ст.

При низкой температуре увеличивается вязкость перфузата, и в зависимости от продолжительности перфузии повышается сопротивление в сосудах, которое определяет риск повреждения синусоидального эндотелия и гликокаликса, особенно при холодной перфузии, превышающей 18 часов [39]. Pienaar et al. [40] сообщали о 3-суточной непрерывной ГАП печени у собак без ущерба для органа и только через воротную вену, но это единственное исследование такой продолжительности. Температура консервации во время непрерывной ГАП колеблется между +1 °С и +18 °С, поэтому большинство экспери-

ментов ограничивается интервалами перфузии от 2 до 24 часов.

Чаще всего используют перфузат на основе раствора UW. Для улучшения качества перфузии предложено включать в состав перфузата спазмолитики, антиоксиданты и аминокислоты [41].

ГАП опирается на физическое растворение кислорода в свободном перфузате крови при температуре +2–18 °С, что позволяет клетке восстанавливать достаточный энергетический заряд. Кислород не приводит к увеличению количества свободных радикалов, но в его отсутствие провоцируется рост DAMPs [42]. Достижение баланса между позитивным влиянием оксигенации и образованием АФК имеет важное значение. Отсутствие кислорода при АП приводит к реперфузионным повреждениям и способствует повреждению митохондрии и ядра клетки с выходом белков HMGB1 и 8-OHdG. Выделение HMGB1 из ядра некротической клетки активирует TLR-4 клеток Купфера как инициатора врожденного иммунного ответа [43, 44]. Следует отметить, что после СХК регистрировали наиболее высокий уровень HMGB1, а в комбинации СХК с ГАП – наиболее низкий.

Первые клинические испытания ГАП зарегистрированы в 2010 г. у маргинальных доноров с бьющимся сердцем (ДБС). Дальнейшие исследования проведены на органах от ДОС, а результаты не отличались от стандартных доноров при СХК [34].

Ишемические и реперфузионные повреждения (ИРП) вызывают каскад повреждений, которые развиваются в условиях анаэробного метаболизма, холодовой консервации и последующего пуска оксигенированной крови в донорский орган при нормальной температуре тела. Это приводит к дисфункции органа, который нормально функционировал до его изъятия. Тепловая ишемия при получении органов от ДОС вызывает катастрофическое снижение внутриклеточного АТФ еще до СХК. Отсутствие АТФ вместе с низкотемпературным режимом нарушает функцию Na/K насоса – ключевого механизма защиты от отека и смерти клетки [45]. Нарушение восстановления АТФ приводит к замедлению восстановления функции печени [46].

Проведение ГАП печени, полученной от ДОС, предохраняет от значительного выделения DAMPs, снижает утечку электронов из митохондрий; при этом реактивируется митохондриальное дыхание и окисляются митохондриальные электронные комплексы до согревания и реперфузии [43]. Продолжение АП более 90 минут приводит к почти полному прекращению потери электронов, происходит уникальное замедление митохондриального дыхания независимо от предшествующей тепловой ишемии. Из-за снижения скорости переноса митохондриальных электронов высвобождается меньше АФК и ядерных DAMPs, предотвращаются дальнейшая активация клеток Купфера и повреждение эндотелия [47].

Дефицит АТФ способствует выходу Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума в цитозоль, вызывая повышенную активность кальпаина, диссоциацию актина и высвобождение матриксных металлопротеиназ (MMP). Это в свою очередь приводит к экспрессии фактора фV и молекул межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) на синусоидальной поверхности [48].

ГАП раствором UW или кустодиолом включает несколько защитных механизмов: во-первых, заряд клеточной энергии увеличивается за счет окислительного фосфорилирования, во-вторых, повышается содержание кальция в клетках, обеспечивается защита от кальпаина и MMP, что связывают со специфическим действием лактобионата кальция и гистидина (компоненты консервирующего раствора), в-третьих, снижается перенапряжение дыхательной цепи [49].

Экспериментальные и клинические исследования оксигенированной гипотермической аппаратной перфузии

Теоретические преимущества АП были подтверждены в экспериментальных работах и клинической практике. Так, в экспериментальной работе на крысах печень, изъятая через 30–60 минут от ДОС и после СХК в течение 4 часов и ГАП, была трансплантирована с хорошим исходом [50]. Guarrera et al. [41, 51] успешно выполнили 20 операций после сочетанного проведения СХК и ГАП. В 2015 г. те же авторы сообщают о 31 ТП от маргинальных доноров после ГАП. При этом не отмечено достоверных различий в количестве развившихся стриктур желчных протоков, дней госпитализации и ранней дисфункции аллотрансплантата по сравнению со стандартными донорами [51, 53]. В другом исследовании ГАП осуществляли на 8 органах, полученных от ДОС (категория III по Маастрихт). Перфузию выполняли в течение 1–2 часов перед трансплантацией. После операции отмечена хорошая функция трансплантата с низкой активностью сывороточной аспартатаминотрансаминазы

(АСТ) и аланинаминотрансаминазы (АЛТ) у всех реципиентов. Посттрансплантационное пребывание в стационаре и расходы были сопоставимы с таковыми у реципиентов, получивших орган от стандартных ДБС. Шестимесячное наблюдение реципиентов не показало разницы в развитии несостоятельности холедохо-холедохоанастомоза или стриктур желчных протоков [52, 54].

Субнормотермическая аппаратная перфузия (+20–33 °C)

Предполагается, что постепенное согревание органа до температуры тела может снизить постреперфузионные повреждения за счет более сбалансированного восполнения метаболических потребностей клетки. Медленное согревание печени до +20 °C в течение 3 часов при перфузии через печеночную артерию и воротную вену улучшает обменные процессы, функциональные, биохимические показатели и гистологическую картину [55, 56]. При этом восстановление дыхательной функции митохондрии и уменьшение дефицита энергии играют ключевую роль в обеспечении жизнеспособности печени при ИРП [57]. Особенно привлекательна в этой методике возможность управляемого улучшения энергетического баланса печени путем роста уровня АТФ [49, 58]. Переход клетки на анаэробный энергетический путь увеличивает уровень лактата и приводит к ацидозу. В условиях адекватной оксигенации АТФ восстанавливается до исходного уровня уже через 3 часа перфузии так же, как и другие маркеры, включая синтетическую функцию и продукцию желчи.

Perk et al. [59] показали, что определенные во время перфузии уровни глюкозы, мочевины, лактата и альбумина при их оценке являются хорошими предикторами исхода операции.

СнАП и другие системы ГАП показали свою эффективность в снижении степени повреждения желчевыводящих путей. Основными механизмами являются восстановление дисбаланса в составе желчных солей, фосфолипидов и бикарбонатов и стабилизация состава желчи [60]. СнАП при комнатной температуре дает техническое преимущество, устраняя необходимость контроля за температурой, а снижение метаболического статуса устраняет потребность в более сложных оксигенаторах.

Berendsen et al. сообщают о хороших результатах клинического применения СнАП для 6 маргинальных («отказных») аллотрансплантатов печени в виде нормальной посттрансплантационной функции в 3-месячном периоде наблюдения [61].

Нормотермическая аппаратная перфузия (+35–38 °C)

НАП является логическим подходом к проблемам, которые присущи трансплантации органов. Основная концепция методики – это поддержание нормальной функции печени в течение всего периода консервации и обеспечение быстрого восстановления после имплантации. Температура +37 °C обеспечивает полноценный метаболизм, который поддерживает нормальный гомеостаз и другие процессы, включая содержание АТФ. Методика открывает возможности для более точного мониторирования жизнеспособности и функции трансплантата: исследование выделенной желчи, анализ продукции мочевины, уровня цитолиза и пр. НАП доставляет питательные вещества и кислород гепатоцитам и обладает противовоспалительным свойством [62, 63].

Spetzler et al. [64] на модели свиньи ex vivo сравнивали НАП печени с органами после СХК. После трансплантации получены одинаковые пиковые значения АСТ без разницы в выживаемости или послеоперационных осложнениях. Имитируя условия ДОС 60-минутной in situ тепловой ишемией, печень подключали к НАП на 24 часа. При этом регистрировали ее хорошую синтетическую функцию, меньшее клеточное повреждение по сравнению с результатами СХК [64]. В последние годы отмечают эффективность использования НАП для маргинальных органов человека, полученных от ДОС. Применение НАП способсвует уменьшению ИРП и защите от повреждений желчных протоков, но пока нет убедительных результатов, что данная методика может эффективно пролонгировать консервацию органа.

Авторы из Колумбийского университета (США) первыми сообщили об успешной пересадке печени 20 реципиентам. Изъятие осуществляли у ДОС с применением НАП. При этом зарегистрировано снижение встречаемости билиарных осложнений и количества дней, проведенных в стационаре, по сравнению с данными в стандартной группе сравнения [50].

В другом центре выполнили 4 ТП от ДОС после 12–17-минутной тепловой ишемии с последующей 4,5–9,5-часовой СХК, а затем НАП в течение 6 часов. Не отмечено достоверных различий в активности АСТ, АЛТ, уровне в крови гиалуроновой кислоты по сравнению со стандартной методикой консервации [65].

В университете Цюриха (Швейцария) выполнили 8 пересадок от ДОС после НАП с перфузией только через воротную вену и также не отметили признаков ишемической холангиопатии после 8 месяцев наблюдения, несмотря на маргинальность органов. Dutkowski et al. [53] пересадили 25 органов от ДОС после НАП и сравнили их с результатами в группе из 50 печеночных трансплантатов после СХК. Зарегистрированы снижение внутрипеченочных холангиопатий и улучшение выживания трансплантатов по сравнению с органами после СХК.

После проведения многочисленных доклинических исследований выделены преимущества непрерывной НАП. Так, исследование I фазы в Англии показало, что пролонгированная непрерывная НАП с применением портативного устройства Метра (Organ Ox, Oxford, UK) удобна и безопасна [67]. Двадцать органов высокого риска были успешно пересажены с результатами, сопоставимыми с 40 контрольными [68]. Использовали «отказную» печень, которая была успешно имплантирована после оценки показателей на НАП, после нормализации уровня в крови лактата (менее 2 ммоль/л) и желчеобразования [69]. Система проходит клиническое испытание в Европе с перспективными ранними клиническими результатами. Из 6 «отказных» трансплантатов печени, изъятых у ДОС с тепловой ишемией от 36 минут до 109 минут in situ, в условиях НАП после контроля 5 из них соответствовали критериям оценки жизнеспособности, были успешно пересажены и через 6 месяцев наблюдения отмечалась их хорошая функция [67].

В настоящее время клинический опыт применения методики НАП небольшой. Но уже делаются предположения, что НАП может значимо расширить пул ДОС. Опубликованы клинические наблюдения успешной пересадки печени с использованием методики НАП после продолжительной тепловой ишемии in situ и СХК [68, 69].

Большой процент макростеатоза печени является риском ранней дисфункции, ПНФТ при СХК, и эта причина – самая частая в случаях отказа от органа. Nagrath [70] использовал НАП, добавляя в перфузат «обезжиривающие препараты». В результате автор добился снижения на 65% уровня триглицеридов в эксперименте. Отмечено, что длительная НАП снижает степень стеатоза, жир печени мобилизуется достаточно легко, тем самым НАП позволяет снизить ИРП [71].

Учитывая катастрофические последствия ПНФТ, первостепенное значение приобретают объективные критерии оценки. Сохраненная метаболическая активность не только предотвращает дальнейшее повреждение трансплантата, вызванного ишемией, но и предоставляет возможность мониторировать функцию с помощью оценки биохимических показателей, потока крови и желчеобразования [72]. АСТ и АЛТ, глутаматдегидрогеназа определяются как маркеры цитолиза и холестаза. Бета-галактозидазы – это группа энзимов, расположенных внутри лизосом, которые могут быть использованы для оценки повреждения клеток Купфера при анализе перфузата. Отмечено также, что при проведении НАП уровень фV значительно выше.

Предполагают, что с целью определения жизнеспособности трансплантата следует осуществлять его перфузию минимум в течение 4 часов. Восстановление кислотно-основного состояния, повышение уровня бикарбоната являются хорошими прогностическими факторами послеоперационного функционирования. Показатели давления и сопротивления в воротной вене и печеночной артерии во время проведения НАП также коррелируют с функционированием трансплантата. Их нормальные значения говорят о хорошей перфузии органа [73, 74]. Экспериментальные работы свидетельствуют о том, что функционирующая печень продуцирует больше желчи, чем нефункционирующая. Продукция желчи является простым неинвазивным способом определения жизнеспособности трансплантата [73].

Первая НАП разработана в Оксфордском университете и применялась у доноров печени со стандартными критериями оценки без использования СХК (рисунок) [75]. В 2014 г. выполнена трансплантация такого органа человеку [76].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что НАП обеспечивает нормализацию клинически значимых маркеров при реперфузии, улучшает результаты при пересадке маргинальных органов и позволяет оценивать функцию трансплантата до его включения в сосудистое русло реципиента. По сравнению со стандартной группой зарегистрированы меньшее количество билиарных осложнений, тяжелых дисфункций, а также снижение продолжительности пребывания больных в стационаре.

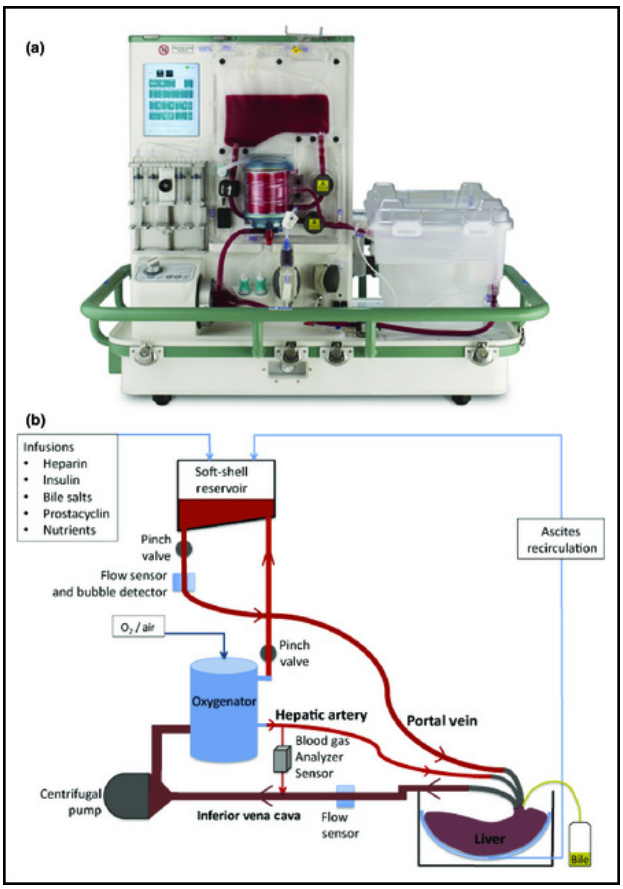

Рисунок. Нормотермическая аппаратная перфузия печени. (Ravikumar R., Leuvenink H., Friend P.J. Normothermic liver preservation: a new paradigm? Liver Transpl. 2015;28:690–699)

Figure. Normothermic machine perfusion of the liver. (Ravikumar R., Leuvenink H., Friend P.J. Normothermic liver preservation: a new paradigm? *Liver Transpl.* 2015;28:690–699)

Суб- и нормотермическая региональная аппаратная перфузия

При СрАП и НрАП органов брюшной полости применяются экстракорпоральные мембранные оксигенаторы для доставки кислорода у ДОС. Брюшной отдел аорты изолируют от грудного раздутым баллонным катетером для блокирования перфузии органов грудной полости и головного мозга. Эту методику также называют абдоминальной регионарной перфузией. СрАП снижает метаболическую активность и потребность в кислороде, в то время как НрАП может даже поддерживать восстановление клеточных процессов при постоянном обеспечении кислородом почти физиологическим способом [77].

СрАП обеспечивает достаточно высокий уровень функционирования трансплантата почки. Так, результаты пересадки 320 почек, полученных от ДОС, показали 87% 1-летнюю выживаемость трансплантата. В то же время сообщается о высоком проценте отсроченной функции трансплантата [77].

При НрАП печени от ДОС частота ПНФТ и ишемической холангиопатии оказалась выше, чем у реципиентов печени группы сравнения [77–79].

Комбинированная система

Banan et al. включили в контур АП диализатор и получили комбинированную систему. Комбинированная печеночно-почечная АП имеет дополнительный потенциал для улучшения функциональности органов и по своим показателям значительно превосходит одноконтурную инфузию печени. В контуре комбинированных устройств АП можно консервировать печень и 1–2 почки. Устройство может быть использовано для транспортировки печени и почек для одного центра трансплантации [80, 81]. Op den Dries et al. [82] отметили, что регенерация билиарного эпителия после ишемических повреждений возможна только при сохранении целостности микрососудистого сплетения, кровоснабжающего желчные протоки и перибилиарные железы. Перибилиарные железы содержат мультипотентные стволовые клетки, которые способны дифференцироваться в холангиоциты, восстанавливающие билиарный эпителий как при физиологических, так и патологических состояниях. Комбинированная печеночно-почечная АП обладает потенциально восстанавливающей способностью, поддерживает стабильность внутренней среды в контуре и уменьшает воспалительные повреждения после трансплантации.

Состав перфузата

В настоящее время наиболее часто перфузат имеет следующий состав: 3 дозы донорской резус-отрицательной эритромассы, совместимой по группе крови с печенью, 1000 мл 5% раствора альбумина, 30 мл 8,4% бикарбоната натрия и 10 мл 10% глюконата кальция. В контур дополнительно добавляют 10 000 МЕ гепарина, 500 мг ванкомицина и 60 мг гентамицина и до подключения вводят 8 мкг/ч эпопростенола. Для поддержания метаболической функции печени исполь-

зуют парентеральное питание (аминокислоты, глюкозоинсулиновая смесь), препараты для профилактики тромбоза и улучшения микроциркуляции (гепарин и простациклин) и ряд других лекарственных средств для снижения клеточного отека, холестаза и минимизации генерации свободных радикалов [83].

Некоторые исследователи для НАП используют донорскую кровь, полученную во время извлечения органов. Наш опыт по получению крови от ДБС перед извлечением органов показал, что получение 3–4 доз не вызывает затруднений и является безопасным [84].

Эритроциты имеют свойства повреждаться и подвергаться гемолизу при длительной перфузии ex vivo, а при более низких температурах проявляются дополнительные реологические недостатки, накладывающие ограничения на АП. Гемолиз снижает пропускную способность доставляемого кислорода и в настоящее время служит одним из основных ограничивающих факторов пролонгации консервации органов [85]. Те немногие лейкоциты, которые присутствуют в эритроцитарной взвеси, могут активировать провоспалительные механизмы. Fontes et al. [86] сообщают об успешном использовании синтетического аналога гемоглобина – гемопурина в сочетании с коллоидами на модели животных. Препарат проявляет антиоксидантную активность in vitro, ингибирует АФК и даже дает защитный эффект на очаговые ИРП головного мозга [87]. Диаметр его молекулы составляет примерно 1/1000 долю эритроцита, она переносит больше кислорода к тканям, чем гемоглобин, а меньшая вязкость обеспечивает более однородную перфузию, что облегчает диффузный перенос кислорода в условиях микроциркуляции, улучшая восстановление тканей.

Гемопурин может доставлять кислород в широком диапазоне используемых температур (+10–37 °C). При том, что его стоимость на порядок дороже донорских эритроцитов, эти затраты могут быть компенсированы многочисленными достоинствами его использования. Раствор логистичен, реологически и иммунологически лучше эритроцитарной массы. Использование гемопурина ex situ позволяет избежать потенциальных сложностей системного характера in vivo и побочных эффектов. Гистологическая оценка показала, что НАП эффективно удаляет гемопурин из печени, но его незначительный объем (если таковой остается) может даже улучшить микроциркуляцию у реципиента, не вызывая каких-либо повреждений.

Таким образом, гемопурин как основа перфузионной жидкости улучшает логистику, иммунную составляющую, обеспечивает эффективную пролонгацию и оксигенацию ex vivo при отсутствии гемолиза в широком диапазоне температур.

Недостатки и преимущества аппаратной перфузии

Рассматривая плюсы и минусы АП, нужно учесть, что эти устройства не только поддерживают жизнеспособность органов, но и обеспечивают доставку лекарственных средств для лечения поврежденной паренхимы печени. Перфузионные контуры позволяют не только выполнять биохимическое тестирование функции органа и измерение гидродинамических показателей, но и вводить препараты, улучшающие фенотип клеток, изменяя функцию органа [68, 90] В настоящее время мультиорганное получение органов связано с СХК. В одном из вариантов использования АП тепловую перфузию следует начинать непосредственно перед или сразу после изъятия донорской печени, исключая охлаждение, чтобы избежать значительных повреждений трансплантата. Такой подход затруднен при одновременном изъятии сердца и легких [39, 87].

Потенциальными недостатками АП являются высокая стоимость и потребность в увеличении численности персонала при извлечении и доставке органа. Устройство для АП достаточно сложное и часто тяжелое, поэтому может потребоваться специально оборудованное транспортное средство для перевозки. Правильная канюляция сосудов и предотвращение подтекания раствора из органа имеют первостепенное значение. При пролонгированном восстановлении органа возможен технический сбой, а аномальное ветвление сосудов печени может значительно осложнить канюляцию и ограничить возможности консервации АП, так же как и последующую трансплантацию органа [88].

Сохраняются и другие нерешенные вопросы. Насколько можно продлить безопасную консервацию органа, изъятого после остановки сердца при использовании НАП? Безопасна ли трансплантация органа после продолжительной тепловой ишемии при НАП с последующей продолжительной консервацией? Насколько гемодинамические и функциональные параметры, полученные во время проведения НАП, прогнозируют восстановление печени после трансплантации?

В клинической практике пока не существует единого мнения относительно состава перфузата, параметров и продолжительности перфузии, отсутствует даже единая логистика использования НАП (донорского и трансплантационного центров). Исследования по АП органов создают множество регулятивных, правовых, этических и материально-технических проблем. При консервации органов с помощью АП между регулирующими структурами и сообществом трансплантологов необходимо согласие и содействие исследованиям. Эти потенциальные недостатки и логистические барьеры приводят к удлинению операции как во время получения органа, так и при применении операционной донорской базы. И, наконец, технический отказ самой системы всегда представляет риск, который может быть пагубным для трансплантата и исключить его использование.

Большинство исследователей склоняются к кратковременной АП в течение 2–4 часов на завершающем этапе back table, используя либо ГАП при низком перфузионном давлении, либо НАП с бесклеточным перфузатом. Это связано с тем, что перфузия органов при транспортировке имеет риск остановок или неэффективного кровоснабжения трансплантата. Кроме того, подготовка органа на back table связана с повторной ишемией. Несмотря на существующие технические и логистические трудности, большинство клинических данных указывает на научную и практическую значимость этих методик. АП печени сейчас вступает в стадию широкого клинического испытания [91–94].

Выводы

1. В течение многих лет стационарная холодовая консервация доказала свою эффективность как надежный метод консервации органов, полученных от доноров со стандартными критериями оценки. Трансплантаты хорошего качества успешно переносят периоды консервации до 12 часов. В то же время дефицит донорских органов может быть снижен в случае использования маргинальных органов.

2. Аппаратная перфузия внедряется в клиническую практику. Методика обеспечивает платформу для оптимизации функциональности органов. Печень с жировым гепатозом (макростеатоз более 30%) и длительной стационарной холодовой консервацей (более 16 часов), от доноров после остановки сердца (тепловая ишемия более 30 минут) и органы от доноров старших возрастных групп в настоящее время из-за высокого риска развития первично нефункционирующего трансплантата не используются большинством хирургов. Аппаратная перфузия позволяет оценить их жизнеспособность, тем самым снижая риск использования маргинальных трансплантатов, что обеспечивает дополнительный потенциал для увеличения пула донорских органов.

3. Широкое внедрение в клиническую практику аппаратной перфузии возможно при снижении ее себестоимости и преодолении технических сложностей.

4. Устройство для аппаратной перфузии должно быть портативным, с возможностями лабораторного тестирования перфузата и желчеотделения. Процедуру необходимо начинать в клинике, где выполняется операция на доноре, и продолжать на этапе транспортировки и в центре трансплантации.

Литература

1. Starzl T.E., Marchioro T.L., Vonkaulla K.N., et al. Homotransplantation of the liver in humans. Surg. Gynecol. Obstet. 1963;117:659–676. PMID:14100514
2. Wertheim J.A., Petrowsky H., Saab S., et al. Major challenges limiting liver transplantation in the United States. Am. J. Transplant. 2011;11(9):1773–1784. DOI:10.1111/j.1600-6143.2011.03587.x
3. Seal J.B., Bohorquez H., Reichman T., et al. Thrombolytic protocol minimizes ischemic-type biliary complications in liver transplantation from donation after circulatory death donors. Liver Transpl. 2015;21(3):321–328. DOI:10.1002/lt.24071
4. Kim W.R., Lake J.R., Smith J.M., et al. Liver. Am. J. Transplant. 2016;16(Suppl 2):69–98. DOI.org/10.1111/ajt.13668
5. Goldaracena N., Barbas A.S., Selzner M. Normothermic and subnormothermic ex-vivo liver perfusion in liver transplantation. Curr. Opin. Organ. Transplant. 2016;21(3):315–321. DOI:10.1097/MOT.0000000000000305
6. Singhal A., Wima K., Hoehn R.S., et al. Hospital resource use with donation after cardiac death allografts in liver transplantation: a matched controlled analysis from 2007 to 2011. J. Am. Coll. Surg. 2015;220(5):951–958. DOI:10.1016/j.jamcollsurg.2015.01.052
7. Deshpande R., Heaton N. Can non-heart-beating donors replace cadaveric heart-beating liver donors. J. Hepatol. 2006;45(4):499–503. DOI:10.1016/j.jhep.2006.07.018
8. de Vera M.E., Lopez-Solis R., Dvorchik I., et al. Liver transplantation using donation after cardiac death donors: Long-term follow-up from a single center. Am. J. Transplant. 2009; 9(4):773–781. DOI:10.1111/j.1600-6143.2009.02560.x
9. Abt P.L., Desai N.M., Crawford M.D., et al. Survival following liver transplantation from non-heart-beating donors. Ann. Surg. 2004;239(1):87–92. DOI:10.1097/01.sla.0000103063.82181.2c
10. Dutkowski P., Schlegel A., Slankamenac K., et al. The use of fatty liver grafts in modern allocation systems: risk assessment by the balance of risk (BAR) score. Ann. Surg. 2012;256(5):861–868. DOI:10.1097/SLA.0b013e318272dea2
11. Nemes B., Gámán G., Polak W.G. et al. Extended-criteria donors in liver transplantation Part II: reviewing the impact of extended-criteria donors on the complications and outcomes of liver transplantation. Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2016; 10(7): 841–859. DOI:10.1586/17474124.2016.1149062
12. Drobnis E.Z., Crowe L.M., Berger T., et al. Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. J. Exp. Zool. 1993;265(4):432–437. DOI:10.1002/jez.1402650413
13. Chernyak B.V., Izyumov D.S., Lyamzaev K.G., et al. Production of reactive oxygen species in mitochondria of HeLa cells under oxidative stress. Biochim. Biophys. Acta. 2006;1757(5–6):525–534. DOI:10.1016/j.bbabio.2006.02.019
14. van Golen R.F., van Gulik T.M., Heger M. Mechanistic overview of reactive species-induced degradation of the endothelial glycocalyx during hepatic ischemia/reperfusion injury. Free Radic. Biol. Med. 2012;52(8):1382–1402. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2012.01.013
15. Zhai Y., Petrowsky H., Hong J.C., et al. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation-from bench to bedside. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2013;10(2):79–89. DOI:10.1038/nrgastro.2012.225
16. Loor G., Kondapalli J., Iwase H., et al. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion. Biochim. Biophys. Acta. 2011;1813(7):1382–1394. DOI:10.1016/j.bbamcr.2010.12.008
17. Schlegel A., Graf R., Clavien P.A., Dutkowski P. Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects from biliary injury in a rodent model of DCD liver transplantation. J. Hepatol. 2013;59(5):984–991. DOI:10.1016/j.jhep.2013.06.022
18. Furukawa H., Todo S., Imventarza O., et al. Effect of cold ischemia time on the early outcome of human hepatic allografts preserved with UW solution. Transplantation. 1991;51(5):1000–1004. PMID:2031256
19. Vilca Melendez H., Rela M., Murphy G., Heaton N. Assessment of graft function before liver transplantation: quest for the lost ark? Transplantation. 2000;70(4):560–565. PMID:10972207
20. Carrel A., Lindbergh C.A. The culture of whole organs. Science. 1935;81:621–623. DOI:10.1126/science.81.2112.621
21. Marchioro T.L., Huntley R.T., Waddell W.R., Starzl T.E. Extracorporeal perfusion for obtaining postmortem homografts. Surgery. 1963;54:900–911. PMID:14087127
22. Kestens P.J., Mikaeloff P., Haxhe J.J., et al. Homotransplantation of the canine liver after hypothermic perfusion of long duration. Bull. Soc. Int. Chir. 1966;25(6):647–659. PMID:4861669
23. Slapak M., Wigmore R.A., MacLean L.D. Twenty-four hour liver preservation by the use of continuous pulsatile perfusion and hyperbaric oxygen. Transplantation. 1967;5(4, Suppl.):1154–1158. PMID:4860607
24. Brettschneider L., Groth C.G., Starzl T.E. Experimental and clinical preservation of orthotopic liver homografts. In: Norman J. (ed.) Organ perfusion and preservation. New York: Appleton-Century Crofts, 1968: 271–284.
25. Menasche P., Termignon J.L., Pradier F., et al. Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. Eur. J. Cardiothorac. Surg. 1994;8(4):207–2013. PMID:8031565
26. Stone J.P., Sevenoaks H., Sjoberg T., et al. Mechanical removal of dendritic cell-generating non-classical monocytes via ex vivo lung perfusion. J. Heart. Lung. Transplant. 2014;33(8):864–869. DOI:10.1016/j.healun.2014.03.005
27. Karangwa S. A., Dutkowski P., Fontes P., et al. Machine Perfusion of Donor Livers for Transplantation: A Proposal for Standardized Nomenclature and Reporting Guidelines. Am. J. Transplant. 2016;16(10):2932–2942. DOI:10.1111/ajt.13843
28. Belzer F.O., Glass N.R., Sollinger H.W., et al. A new perfusate for kidney preservation. Transplantation. 1982;33(3):322–323. PMID:7039039
29. Lee M.P., Gear A.R. The effect of temperature on mitochondrial membrane-linked reactions. J. Biol. Chem. 1974;249(23):7541–7549. PMID:4279918
30. Reeb J., Keshavjee S., Cypel M. Expanding the lung donor pool: advancements and emerging pathways. Curr. Opin. Organ. Transplant. 2015;20(5):498–505. DOI:10.1097/MOT.0000000000000233
31. St. Peter S.D., Imber C.J., Friend P.J. Liver and kidney preservation by perfusion. Lancet. 2002;359:604–613. DOI:10.1016/S0140-6736(02)07749-8
32. Chatauret N., Coudroy R., Delpech P.O., et al. Mechanistic analysis of non-oxygenated hypothermic machine perfusion's protection on warm ischemic kidney uncovers greater eNOS phosphorylation and vasodilation. Am.

J. Transplant. 2014;14(11):2500–2514. DOI:10.1111/ajt.12904
33. van der Plaats A., 't Hart N.A., Verkerke G.J., et al. Hypothermic machine perfusion in liver transplantation revisited: Concepts and criteria in the new millenium. Ann. Biomed. Eng. 2004;32(4):623–631. PMID:15117035
34. Dutkowski P., Schlegel A., de Oliveira M., et al. HOPE for human liver grafts obtained from donors after cardiac death. J. Hepatol. 2014; 60(4):765–772. DOI:10.1016/j.jhep.2013.11.023
35. Changani K.K., Fuller B.J., Bryant D.J., et al. Non-invasive assessment of ATP regeneration potential of the preserved donor liver. A 31P MRS study in pig liver. J. Hepatol. 1997;26(2):336–342. PMID:9059955
36. Jomaa A., Gurusamy K., Siriwardana P.N., et al. Does hypothermic machine perfusion of human donor livers affect risks of sinusoidal endothelial injury and microbial infection? A feasibility study assessing flow parameters, sterility, and sinusoidal endothelial ultrastructure. Transplant. Proc. 2013;45(5):1677–1683. DOI:10.1016/j.transproceed.2013.01.011
37. Hart N.A., der van Plaats A., Leuvenink H.G., et al. Determination of an adequate perfusion pressure for continuous dual vessel hypothermic machine perfusion of the rat liver. Transpl. Int. 2007;20(4):343–352. DOI:10.1111/j.1432-2277.2006.00433.x
38. Fondevila C., Hessheimer A.J., Maathuis M.H., et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion in porcine donation after circulatory determination of death liver transplant. Transplantation. 2012;94(1):22–29. DOI:10.1097/TP.0b013e31825774d7
39. Minor T., Manekeller S., Sioutis M., Dombrowski F. Endoplasmic and vascular surface activation during organ preservation: Refining upon the benefits of machine perfusion. Am. J. Transplant. 2006;6(6):1355–1366. DOI:10.1111/j.1600-6143.2006.01338.x
40. Pienaar B.H., Lindell S.L., van Gulik T., et al. Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion. Transplantation. 1990;49(2):258–260. PMID:2305453
41. Guarrera J.V., Henry S.D., Samstein B., et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: the first clinical series. Am. J. Transplant. 2010;10(2):372–381. DOI:10.1111/j.1600-6143.2009.02932.x
42. Schlegel A., Dutkowski P. Role of hypothermic machine perfusion in liver transplantation. Transpl. Int. 2015;28(6):677–689. DOI:10.1111/tri.12354
43. Tang D., Kang R., Zeh H.J. 3rd, Lotze M.T. High-mobility group box 1, oxidative stress, and disease. Antioxid. Redox. Signal. 2011;14(7):1315–1335. DOI:10.1089/ars.2010.3356
44. Schlegel A., de Rougemont O., Graf R., et al. Protective mechanisms of end-ischemic cold machine perfusion in DCD liver grafts. J. Hepatol. 2013;58(2):278–286. DOI:10.1016/j.jhep.2012.10.004
45. Howard T.K., Klintmalm G.B., Cofer J.B., et al. The influence of preservation injury on rejection in the hepatic transplant recipient. Transplantation. 1990;49(1):103–107. PMID:2300999
46. Liu Q., Nassar A., Farias K., et al. Sanguineous normothermic machine perfusion improves hemodynamics and biliary epithelial regeneration in donation after cardiac death porcine livers. Liver Transpl. 2014;20(8);987–999. DOI:10.1002/lt.23906
47. Dutkowski P., Schönfeld S., Heinrich T., et al. Reduced oxidative stress during acellular reperfusion of the rat liver after hypothermic oscillating perfusion. Transplantation. 1999;68(1):44–50. PMID:10428265
48. Dutkowski P., Graf R., Clavien P.A. Rescue of the cold preserved rat liver by hypothermic oxygenated machine perfusion. Am. J. Transplant. 2006;6(5 Pt1):903–912. DOI:10.1111/j.1600-6143.2006.01264.x
49. Bruinsma B.G., Berendsen T.A., Izamis M., et al. Determination and extension of the limits to static cold storage using subnormothermic machine perfusion. Int. J. Artif. Organs. 2013;36(11):775–780. DOI:10.5301/ijao.5000250
50. Guarrera J.V., Henry S.D., Samstein B., et al. Hypothermic machine preservation facilitates successful transplantation of "orphan" extended criteria donor livers. Am. J. Transplant. 2015;15(1):161–169. DOI:10.1111/ajt.12958
51. Upadhya G.A., Topp S.A., Hotchkiss R.S., et al. Effect of cold preservation on intracellular calcium concentration and calpain activity in rat sinusoidal endothelial cells. Hepatology. 2003;37(2):313–323. DOI:10.1053/jhep.2003.50069
52. Schlegel A., Kron P., Dutkowski P. Hypothermic oxygenated liver perfusion: basic mechanisms and clinical application. Curr. Transplant. Rep. 2015;2(1):52–62.
53. Dutkowski P., Polak W.G., Muiesan P., et al. First comparison of hypothermic oxygenated perfusion versus static cold storage of human donation after cardiac death liver transplants: an international-matched case analysis. Ann. Surg. 2015;262(5):764–770. DOI:10.1097/SLA.0000000000001473
54. Sutton M.E., Op den Dries S., Karimian N., et al. Criteria for viability assessment of discarded human donor livers during ex vivo normothermic machine perfusion. PLoS ONE. 2014;9(11):e110642. DOI:10.1371/journal.pone.0110642
55. Minor T., Efferz P., Fox M., et al. Controlled oxygenated rewarming of cold stored liver grafts by thermally graduated machine perfusion prior to reperfusion. Am. J. Transplant. 2013;13(6):1450–1460. DOI:10.1111/ajt.12235
56. Bruinsma B.C., Yeh H., Ozer S., et al. Subnormothermic Machine Perfusion for Ex Vivo Preservation and Recovery of the Human Liver for Transplantation. Am. J. Transpl. 2014;14(6):1400–1409. DOI:10.1111/ajt.12727
57. Lüer B., Koetting M., Efferz P., Minor T. Role of oxygen during hypothermic machine perfusion preservation of the liver. Transpl. Int. 2010;23(9):944–950. DOI:10.1111/j.1432-2277.2010.01067.x
58. Manekeller S., Schuppius A., Stegemann J., et al. Role of perfusion medium, oxygen and rheology for endoplasmic reticulum stress-induced cell death after hypothermic machine preservation of the liver. Transpl. Int. 2008;21(2):169–177. DOI:10.1111/j.1432-2277.2007.00595.x
59. Perk S., Izamis M.L., Tolboom H., et al. A metabolic index of ischemic injury for perfusion-recovery of cadaveric rat livers. PLoS ONE. 2011;6(12):e28518. DOI:10.1371/journal.pone.0028518
60. Hohenester S., Wenniger L.M., Paulusma C.C., et al. A biliary HCO^{3-} umbrella constitutes a protective mechanism against bile acid-induced injury in human cholangiocytes. Hepatology. 2012;55(1):173–183. DOI:10.1002/hep.24691
61. Berendsen T.A., Bruinsma B.G., Lee J., et al. A simplified subnormothermic machine perfusion system restores ischemically damaged liver grafts in a rat model of orthotopic liver transplantation. Transplant. Res. 2012;1(1):6. DOI:10.1186/2047-1440-1-6
62. Perk S., Izamis M.L., Tolboom H., et al. A fitness index for transplantation of machine-perfused cadaveric rat livers. BMC Res. Notes. 2012;5:325.

DOI:10.1186/1756-0500-5-325
63. Schlegel A., Kron P., Graf R., et al. Hypothermic Oxygenated Perfusion (HOPE) downregulates the immune response in a rat model of liver transplantation. Ann. Surg. 2014;260(5):931–937. DOI:10.1097/SLA.0000000000000941
64. Spetzler V.N., Goldaracena N., Echiverri J., et al. Subnormothermic ex vivo liver perfusion is a safe alternative to cold static storage for preserving standard criteria grafts. Liver Transpl. 2016;22(1):111–119. DOI:10.1002/lt.24340
65. Op den Dries S., Karimian N., Sutton M.E., et al. Ex vivo normothermic machine perfusion and viability testing of discarded human donor livers. Am. J. Transplant. 2013;13(5):1327–1335. DOI:10.1111/ajt.12187
66. Fondevila C., Hessheimer A.J, Ruiz A., et al. Liver transplant using donors after unexpected cardia death: novel preservation protocol and acceptance criteria. Am. J. Transplant. 2007;7(7):1849–1855. DOI:10.1111/j.1600-6143.2007.01846.x
67. Хубутия М.Ш., Гуляев В.А., Хватов В.Б. и др. Иммунологическая толерантность при трансплантации органов. Трансплантология. 2017;9(3):211–225. DOI:10.23873/2074-0506-2017-9-3-211-225
68. Watson C.J., Kosmoliaptsis V., Randle L.V., et al. Preimplantnormothermic liver perfusion of a suboptimal liver donated after circulatory death. Am. J. Transplant. 2016;16(1):353–357. DOI:10.1111/ajt.13448
69. Perera T., Mergental H., Stephenson B., et al. First human liver transplantation using a marginal allograft resuscitated by normothermic machine perfusion. Liver Transpl. 2016;22(1):120–124. DOI:10.1002/lt.24369
70. Nagrath D., Xu H., Tanimura Y., et al. Metabolic preconditioning of donor organs: defatting fatty livers by normothermic perfusion ex vivo. Metab. Eng. 2009; 11(4–5):274–283. DOI:10.1016/j.ymben.2009.05.005
71. Jamieson R.W., Zilvetti M., Roy D., et al. Hepatic steatosis and normothermic perfusion-preliminary experiments in a porcine model. Transplantation. 2011;92(3):289–295. DOI:10.1097/TP.0b013e318223d817
72. Nakajima D., Cypel M., Bonato R., et al. Ex vivo perfusion treatment of infection in human donor lungs. Am. J. Transplant. 2016;16(4):1229–1237. DOI:10.1111/ajt.13562
73. Brockmann J., Reddy S., Coussios C., et al. Normothermic perfusion: A new paradigm for organ preservation. Ann. Surg. 2009;250(1):1–6. DOI:10.1097/SLA.0b013e3181a63c10
74. St. Peter S.D., Imber C.J., Kay J., et al. Hepatic control of perfusate homeostasis during normothermicextrocorporeal preservation. Transplant. Proc. 2003;35(4):1587–1590. PMID:12826227
75. Ravikumar R., Leuvenink H., Friend P.J. Normothermic liver preservation: a new paradigm? Transpl. Int. 2015;28(6):690–699. DOI:10.1111/tri.12576
76. Laing R.W., Mergental H., Mirza D.F. Normothermic ex-situ liver preservation: the new gold standard. Curr. Opin. Organ. Transplant. 2017;22(3):274–280. DOI:10.1097/MOT.0000000000000414
77. Shapey I.M., Muiesan P. Regional perfusion by extracorporeal membrane oxygenation of abdominal organs from donors after circulatory death: A systematic review. Liver Transpl. 2013;19(12):1292–1303. DOI:10.1002/lt.23771
78. Sanchez-Fructuoso A.I., Marques M., Prats D., et al. Victims of cardiac arrest occurring outside the hospital: A source of transplantable kidneys. Ann. Intern. Med. 2006;145(3):157–164. PMID:16880457
79. Минина М.Г., Хубутия М.Ш., Губарев К.К. и др. Практическое использование экстракорпоральной мембранной оксигенации в донорстве органов при трансплантации. Вестник трансплантации и искусственных органов. 2012;14(1):27–35. DOI:10.15825/1995-1191-2012-1-27-35
80. He X., Ji F., Zhiheng Zh., et al. Combined liver-kidney perfusion enhances protective effects of normothermic perfusion on liver grafts from donation after cardiac death. Liver Transpl. 2018;24(1):67–79. DOI:10.1002/lt.24954
81. Banan B., Watson R., Xu M. Development of a normothermic extracorporeal liver perfusion system toward improving viability and function of human extended criteria donor livers. Liver Transpl. 2016;22(7):979–993. DOI:10.1002/lt.24451
82. Op den Dries S. Bile duct injury in liver transplantation: studies on etiology and the protective role of machine perfusion: dissertation. Groningen, the Netherlands: University of Groningen; 2013. 253p.
83. Trakarnsanga K., Griffiths R.E., Wilson M.C., et al. An immortalized adult human erythroid line facilitates sustainable and scalable generation of functional red cells. Nat Commun. 2017;8(7):14750. DOI:10.1038/ncomms14750
84. Гуляев В.А. Повышение эффективности трансплантации печени путём совершенствования технологии изъятия и подготовки трансплантата. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2016. 299 с.
85. Sakota D., Sakamoto R., Sobajima H., et al. Mechanical damage of red blood cells by rotary blood pumps: selective destruction of aged red blood cells and subhemolytic trauma. Artif. Organs. 2008;32(10):785–791. DOI:10.1111/j.1525-1594.2008.00631.x
86. Fontes P., Lopez R., van der Plaats A., et al. Liver preservation with machine perfusion and a newly developed cell free oxygen carrier solution under subnormothermic conditions. Am. J. Transplant. 2015;15(2):381–394. DOI:10.1111/ajt.12991
87. Rauen U., Petrat F., Li T., De Groot H.H. Hypothermia injury/cold induced apoptosis–evidence of an increase in chelatable iron causing oxidative injury in spite of low O_2^-/ H_2O_2 formation. FASEB J. 2000;14(13):1953–1964. DOI:10.1096/fj.00-0071com
88. Selzner M., Goldaracena N., Echeverri J., et al. Normothermic ex vivo liver perfusion using Steen solution as perfusate for human liver transplantation-first North American results. Liver Transpl. 2016;22(11):1501–1508. DOI:10.1002/lt.24499
89. Niemann C.U., Feiner J., Swain S., et al. Therapeutic Hypothermia in Deceased Organ Donors and Kidney-Graft Function. N. Engl. J. Med. 2015;373(27):405–414. DOI:10.1056/NEJMc1511744
90. Barbas A.S., Knechtle S.J. Expanding the Donor Pool With NormothermicEx Vivo Liver Perfusion: The Future Is Now Am. J. Transplant. 2016;16(11):3075–3076. DOI:10.1111/ajt.13959
91. Ravikumar R., Jassem W., Mergental H., et al. Liver transplantation after ex vivo normothermic machine preservation: a phase 1 (first-in-man) clinical trial. Am. J. Transplant. 2016;16(6):1779–1787. DOI:10.1111/ajt.13708
92. Graham J.A., Guarrera J.V. “Resuscitation” of marginal liver allografts for transplantation with machine perfusion technology. J. Hepatol. 2014;61(2):418–431. DOI:10.1016/j.jhep.2014.04.019
93. Mergental H., Perera T., Laing R.W., et al. Transplantation of Declined Liver Allografts Following Normothermic

Ex-Situ Evaluation. Am. J. Transplant. 2016;16(11):3235–3245. DOI:10.1111/ajt.13875

94. Quillin R.C., Guarrera J.V. "In 10 years" of debate: Pro–machine perfusion for liver preservation will be universal. Liver Transpl. 2016;22(Suppl 1):S25–S28. DOI:10.1002/lt.24630

References

1. Starzl T.E., Marchioro T.L., Vonkaulla K.N., et al. Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet*. 1963;117:659–676. PMID:14100514

2. Wertheim J.A., Petrowsky H., Saab S., et al. Major challenges limiting liver transplantation in the United States. *Am J Transplant*. 2011;11(9):1773–1784. DOI:10.1111/j.1600-6143.2011.03587.x

3. Seal J.B., Bohorquez H., Reichman T., et al. Thrombolytic protocol minimizes ischemic-type biliary complications in liver transplantation from donation after circulatory death donors. *Liver Transpl*. 2015;21(3):321–328. DOI:10.1002/lt.24071

4. Kim W.R., Lake J.R., Smith J.M., et al. Liver. Am J Transplant. 2016;16(Suppl 2):69–98. DOI:10.1111/ajt.13668

5. Goldaracena N., Barbas A.S., Selzner M. Normothermic and subnormothermic ex-vivo liver perfusion in liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2016;21(3):315–321. DOI:10.1097/MOT.0000000000000305

6. Singhal A., Wima K., Hoehn R.S., et al. Hospital resource use with donation after cardiac death allografts in liver transplantation: a matched controlled analysis from 2007 to 2011. *J Am Coll Surg*. 2015;220(5):951–958. DOI:10.1016/j.jamcollsurg.2015.01.052

7. Deshpande R., Heaton N. Can non-heart-beating donors replace cadaveric heart-beating liver donors. *J Hepatol*. 2006;45(4):499–503. DOI:10.1016/j.jhep.2006.07.018

8. de Vera M.E., Lopez-Solis R., Dvorchik I., et al. Liver transplantation using donation after cardiac death donors: Long-term follow-up from a single center. *Am J Transplant*. 2009;9(4):773–781. DOI:10.1111/j.1600-6143.2009.02560.x

9. Abt P.L., Desai N.M., Crawford M.D., et al. Survival following liver transplantation from non-heart-beating donors. *Ann Surg*. 2004;239(1):87–92. DOI:10.1097/01.sla.0000103063.82181.2c

10. Dutkowski P., Schlegel A., Slankamenac K., et al. The use of fatty liver grafts in modern allocation systems: risk assessment by the balance of risk (BAR) score. *Ann Surg*. 2012;256(5):861–868. DOI:10.1097/SLA.0b013e318272dea2

11. Nemes B., Gámán G., Polak W.G., et al. Extended-criteria donors in liver transplantation Part II: reviewing the impact of extended-criteria donors on the complications and outcomes of liver transplantation. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;10(7):841–859. DOI:10.1586/17474124.2016.1149062

12. Drobnis E.Z., Crowe L.M., Berger T., et al. Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. *J Exp Zool*. 1993;265(4):432–437. DOI:10.1002/jez.1402650413

13. Chernyak B.V., Izyumov D.S., Lyamzaev K.G., et al. Production of reactive oxygen species in mitochondria of HeLa cells under oxidative stress. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1757(5–6):525–534. DOI:10.1016/j.bbabio.2006.02.019

14. van Golen R.F., van Gulik T.M., Heger M. Mechanistic overview of reactive species-induced degradation of the endothelial glycocalyx during hepatic ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2012;52(8):1382–1402. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2012.01.013

15. Zhai Y., Petrowsky H., Hong J.C., et al. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation-from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(2):79–89. DOI:10.1038/nrgastro.2012.225

16. Loor G., Kondapalli J., Iwase H., et al. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1813(7):1382–1394. DOI:10.1016/j.bbamcr.2010.12.008

17. Schlegel A., Graf R., Clavien P.A., Dutkowski P. Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects from biliary injury in a rodent model of DCD liver transplantation. *J Hepatol*. 2013;59(5):984–991. DOI:10.1016/j.jhep.2013.06.022

18. Furukawa H., Todo S., Imventarza O., et al. Effect of cold ischemia time on the early outcome of human hepatic allografts preserved with UW solution. *Transplantation*. 1991;51(5):1000–1004. PMID:2031256

19. Vilca Melendez H., Rela M., Murphy G., Heaton N. Assessment of graft function before liver transplantation: quest for the lost ark? *Transplantation*. 2000;70(4):560–565. PMID:10972207

20. Carrel A., Lindbergh C.A. The culture of whole organs. *Science*. 1935;81:621–623. DOI:10.1126/science.81.2112.621

21. Marchioro T.L., Huntley R.T., Waddell W.R., Starzl T.E. Extracorporeal perfusion for obtaining postmortem homografts. *Surgery*. 1963;54:900–911. PMID:14087127

22. Kestens P.J., Mikaeloff P., Haxhe J.J., et al. Homotransplantation of the canine liver after hypothermic perfusion of long duration. *Bull Soc Int Chir*. 1966;25(6):647–659. PMID:4861669

23. Slapak M., Wigmore R.A., MacLean L.D. Twenty-four hour liver preservation by the use of continuous pulsatile perfusion and hyperbaric oxygen. *Transplantation*. 1967;5(4 Suppl):1154–1158. PMID:4860607

24. Brettschneider L., Groth C.G., Starzl T.E. Experimental and clinical preservation of orthotopic liver homografts. In: Norman J., ed. *Organ perfusion and preservation*. New York: Appleton-Century Crofts, 1968:271–284.

25. Menasche P., Termignon J.L., Pradier F., et al. Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1994;8(4):207–2013. PMID:8031565

26. Stone J.P., Sevenoaks H., Sjoberg T., et al. Mechanical removal of dendritic cell-generating non-classical monocytes via ex vivo lung perfusion. *J Heart Lung Transplant*. 2014;33(8):864–869. DOI:10.1016/j.healun.2014.03.005

27. Karangwa S. A., Dutkowski P., Fon-

tes P., et al. Machine Perfusion of Donor Livers for Transplantation: A Proposal for Standardized Nomenclature and Reporting Guidelines. *Am J Transplant*. 2016;16(10):2932–2942. DOI:10.1111/ajt.13843

28. Belzer F.O., Glass N.R., Sollinger H.W., et al. A new perfusate for kidney preservation. *Transplantation*. 1982;33(3):322–323. PMID:7039039

29. Lee M.P., Gear A.R. The effect of temperature on mitochondrial membrane-linked reactions. *J Biol Chem*. 1974;249(23):7541–7549. PMID:4279918

30. Reeb J., Keshavjee S., Cypel M. Expanding the lung donor pool: advancements and emerging pathways. *Curr Opin Organ Transplant*. 2015;20(5):498–505. DOI:10.1097/MOT.0000000000000233

31. St. Peter S.D., Imber C.J., Friend P.J. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet*. 2002;359:604–613. DOI:10.1016/S0140-6736(02)07749-8

32. Chatauret N., Coudroy R., Delpech P.O., et al. Mechanistic analysis of non-oxygenated hypothermic machine perfusion's protection on warm ischemic kidney uncovers greater eNOS phosphorylation and vasodilation. *Am J Transplant*. 2014;14(11):2500–2514. DOI:10.1111/ajt.12904

33. van der Plaats A., 't Hart N.A., Verkerke G.J., et al. Hypothermic machine perfusion in liver transplantation revisited: Concepts and criteria in the new millenium. *Ann Biomed Eng*. 2004;32(4):623–631. PMID:15117035

34. Dutkowski P., Schlegel A., de Oliveira M., et al. HOPE for human liver grafts obtained from donors after cardiac death. *J Hepatol*. 2014;60(4):765–772. DOI:10.1016/j.jhep.2013.11.023

35. Changani K.K., Fuller B.J., Bryant D.J., et al. Non-invasive assessment of ATP regeneration potential of the preserved donor liver. A 31P MRS study in pig liver. *J Hepatol*. 1997;26(2):336–342. PMID:9059955

36. Jomaa A., Gurusamy K., Siriwardana P.N., et al. Does hypothermic machine perfusion of human donor livers affect risks of sinusoidal endothelial injury and microbial infection? A feasibility study assessing flow parameters, sterility, and sinusoidal endothelial ultrastructure. *Transplant Proc*. 2013;45(5):1677–1683. DOI:10.1016/j.transproceed.2013.01.011

37. Hart N.A., der van Plaats A., Leuvenink H.G., et al. Determination of an adequate perfusion pressure for continuous dual vessel hypothermic machine perfusion of the rat liver. *Transpl Int*. 2007;20(4):343–352. DOI:10.1111/j.1432-2277.2006.00433.x

38. Fondevila C., Hessheimer A.J., Maathuis M.H., et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion in porcine donation after circulatory determination of death liver transplant. *Transplantation*. 2012;94(1):22–29. DOI:10.1097/TP.0b013e31825774d7

39. Minor T., Manekeller S., Sioutis M., Dombrowski F. Endoplasmic and vascular surface activation during organ preservation: Refining upon the benefits of machine perfusion. *Am J Transplant*. 2006;6(6):1355–1366. DOI:10.1111/j.1600-6143.2006.01338.x

40. Pienaar B.H., Lindell S.L., van Gulik T., et al. Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion. *Transplantation*. 1990;49(2):258–260. PMID:2305453

41. Guarrera J.V., Henry S.D., Samstein B., et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: the first clinical series. *Am J Transplant*. 2010;10(2):372–381. DOI:10.1111/j.1600-6143.2009.02932.x

42. Schlegel A., Dutkowski P. Role of hypothermic machine perfusion in liver transplantation. *Transpl Int*. 2015;28(6):677–689. DOI:10.1111/tri.12354

43. Tang D., Kang R., Zeh H.J. 3rd, Lotze M.T. High-mobility group box 1, oxidative stress, and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14(7):1315–1335. DOI:10.1089/ars.2010.3356

44. Schlegel A., de Rougemont O., Graf R., et al. Protective mechanisms of end-ischemic cold machine perfusion in DCD liver grafts. *J Hepatol*. 2013;58(2):278–286. DOI:10.1016/j.jhep.2012.10.004

45. Howard T.K., Klintmalm G.B., Cofer J.B., et al. The influence of preservation injury on rejection in the hepatic transplant recipient. *Transplantation*. 1990;49(1):103–107. PMID:2300999

46. Liu Q., Nassar A., Farias K., et al. Sanguineous normothermic machine perfusion improves hemodynamics and biliary epithelial regeneration in donation after cardiac death porcine livers. *Liver Transpl*. 2014;20(8);987–999. DOI:10.1002/lt.23906

47. Dutkowski P., Schönfeld S., Heinrich T., et al. Reduced oxidative stress during acellular reperfusion of the rat liver after hypothermic oscillating perfusion. *Transplantation*. 1999;68(1):44–50. PMID:10428265

48. Dutkowski P., Graf R., Clavien P.A. Rescue of the cold preserved rat liver by hypothermic oxygenated machine perfusion. *Am J Transplant*. 2006;6(5 Pt1):903–912. DOI:10.1111/j.1600-6143.2006.01264.x

49. Bruinsma B.G., Berendsen T.A., Izamis M., et al. Determination and extension of the limits to static cold storage using subnormothermic machine perfusion. *Int J Artif Organs*. 2013;36(11):775–780. DOI:10.5301/ijao.5000250

50. Guarrera J.V., Henry S.D., Samstein B., et al. Hypothermic machine preservation facilitates successful transplantation of "orphan" extended criteria donor livers. *Am J Transplant*. 2015;15(1):161–169. DOI:10.1111/ajt.12958

51. Upadhya G.A., Topp S.A., Hotchkiss R.S., et al. Effect of cold preservation on intracellular calcium concentration and calpain activity in rat sinusoidal endothelial cells. *Hepatology*. 2003;37(2):313–323. DOI:10.1053/jhep.2003.50069

52. Schlegel A., Kron P., Dutkowski P. Hypothermic oxygenated liver perfusion: basic mechanisms and clinical application. *Curr Transplant Rep*. 2015;2(1):52–62.

53. Dutkowski P., Polak W.G., Muiesan P., et al. First comparison of hypothermic oxygenated perfusion versus static cold storage of human donation after cardiac death liver transplants: an international-matched case analysis. *Ann Surg*. 2015;262(5):764–770. DOI:10.1097/SLA.0000000000001473

54. Sutton M.E., Op den Dries S., Karimian N., et al. Criteria for viability assessment of discarded human donor livers during ex vivo normothermic machine perfusion. *PLoS ONE*. 2014;9(11):e110642. DOI:10.1371/journal.pone.0110642

55. Minor T., Efferz P., Fox M., et al. Controlled oxygenated rewarming of cold stored liver grafts by thermally graduated machine perfusion prior to reperfusion. *Am J Transplant*. 2013;13(6):1450–1460. DOI:10.1111/ajt.12235

56. Bruinsma B.C., Yeh H., Ozer S., et al. Subnormothermic Machine Perfusion for Ex Vivo Preservation and Recovery of the Human Liver for Transplantation. *Am J Transpl*. 2014;14(6):1400–1409. DOI:10.1111/ajt.12727

57. Lüer B., Koetting M., Efferz P., Minor T. Role of oxygen during hypothermic machine perfusion preservation of the liver. *Transpl Int*. 2010;23(9):944–950. DOI:10.1111/j.1432-2277.2010.01067.x

58. Manekeller S., Schuppius A., Stege-

mann J., et al. Role of perfusion medium, oxygen and rheology for endoplasmic reticulum stress-induced cell death after hypothermic machine preservation of the liver. *Transpl Int*. 2008;21(2):169–177. DOI:10.1111/j.1432-2277.2007.00595.x

59. Perk S., Izamis M.L., Tolboom H., et al. A metabolic index of ischemic injury for perfusion-recovery of cadaveric rat livers. *PLoS ONE*. 2011;6(12):e28518. DOI:10.1371/journal.pone.0028518

60. Hohenester S., Wenniger L.M., Paulusma C.C., et al. A biliary HCO^{3-} umbrella constitutes a protective mechanism against bile acid-induced injury in human cholangiocytes. *Hepatology*. 2012;55(1):173–183. DOI:10.1002/hep.24691

61. Berendsen T.A., Bruinsma B.G., Lee J., et al. A simplified subnormothermic machine perfusion system restores ischemically damaged liver grafts in a rat model of orthotopic liver transplantation. *Transplant Res*. 2012;1(1):6. DOI:10.1186/2047-1440-1-6

62. Perk S., Izamis M.L., Tolboom H., et al. A fitness index for transplantation of machine-perfused cadaveric rat livers. *BMC Res Notes*. 2012;5:325. DOI:10.1186/1756-0500-5-325

63. Schlegel A., Kron P., Graf R., et al. Hypothermic Oxygenated Perfusion (HOPE) downregulates the immune response in a rat model of liver transplantation. *Ann Surg*. 2014;260(5):931–937. DOI:10.1097/SLA.0000000000000941

64. Spetzler V.N., Goldaracena N., Echiverri J., et al. Subnormothermic ex vivo liver perfusion is a safe alternative to cold static storage for preserving standard criteria grafts. *Liver Transpl*. 2016;22(1):111–119. DOI:10.1002/lt.24340

65. Op den Dries S., Karimian N., Sutton M.E., et al. Ex vivo normothermic machine perfusion and viability testing of discarded human donor livers. *Am J Transplant*. 2013;13(5):1327–1335. DOI:10.1111/ajt.12187

66. Fondevila C., Hessheimer A.J, Ruiz A., et al. Liver transplant using donors after unexpected cardia death: novel preservation protocol and acceptance criteria. *Am J Transplant*. 2007;7(7):1849–1855. DOI:10.1111/j.1600-6143.2007.01846.x

67. Khubutiya M.Sh., Gulyayev V.A., Khvatov V.B., et al. Immunological tolerance in organ transplantation. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2017;9(3):211–225. (In Russian). DOI:10.23873/2074-0506-2017-9-3-211-225

68. Watson C.J., Kosmoliaptsis V., Randle L.V., et al. Preimplantnormothermic liver perfusion of a suboptimal liver donated after circulatory death. *Am J Transplant*. 2016;16(1):353–357. DOI:10.1111/ajt.13448

69. Perera T., Mergental H., Stephenson B., et al. First human liver transplantation using a marginal allograft resuscitated by normothermic machine perfusion. *Liver Transpl*. 2016;22(1):120–124. DOI:10.1002/lt.24369

70. Nagrath D., Xu H., Tanimura Y., et al. Metabolic preconditioning of donor organs: defatting fatty livers by normothermic perfusion ex vivo. *Metab Eng*. 2009;11(4-5):274–283. DOI:10.1016/j.ymben.2009.05.005

71. Jamieson R.W., Zilvetti M., Roy D., et al. Hepatic steatosis and normothermic perfusion-preliminary experiments in a porcine model. *Transplantation*. 2011;92(3):289–295. DOI:10.1097/TP.0b013e318223d817

72. Nakajima D., Cypel M., Bonato R., et al. Ex vivo perfusion treatment of infection in human donor lungs. *Am J Transplant*. 2016;16(4):1229–1237. DOI:10.1111/ajt.13562

73. Brockmann J., Reddy S., Coussios C., et al. Normothermic perfusion: A new paradigm for organ preservation. *Ann Surg*. 2009;250(1):1–6. DOI:10.1097/SLA.0b013e3181a63c10

74. St. Peter S.D., Imber C.J., Kay J., et al. Hepatic control of perfusate homeostasis during normothermicextrocorporeal preservation. *Transplant Proc*. 2003;35(4):1587–1590. PMID:12826227

75. Ravikumar R., Leuvenink H., Friend P.J. Normothermic liver preservation: a new paradigm? *Transpl Int*. 2015;28(6):690–699. DOI:10.1111/tri.12576

76. Laing R.W., Mergental H., Mirza D.F. Normothermic ex-situ liver preservation: the new gold standard. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017;22(3):274–280. DOI:10.1097/MOT.0000000000000414

77. Shapey I.M., Muiesan P. Regional perfusion by extracorporeal membrane oxygenation of abdominal organs from donors after circulatory death: A systematic review. *Liver Transpl*. 2013;19(12):1292–1303. DOI:10.1002/lt.23771

78. Sanchez-Fructuoso A.I., Marques M., Prats D., et al. Victims of cardiac arrest occurring outside the hospital: A source of transplantable kidneys. *Ann Intern Med*. 2006;145(3):157–164. PMID:16880457

79. Minina M.G., Khubutiya M.Sh., Gubarev K.K., et al. Practical use of extracorporeal membrane oxygenation in organ donation for transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2012;14(1):27–35. (In Russian). DOI:10.15825/1995-1191-2012-1-27-35

80. He X., Ji F., Zhiheng Zh., et al. Combined liver-kidney perfusion enhances protective effects of normothermic perfusion on liver grafts from donation after cardiac death. *Liver Transpl*. 2018;24(1):67–79. DOI:10.1002/lt.24954

81. Banan B., Watson R., Xu M. Development of a normothermic extracorporeal liver perfusion system toward improving viability and function of human extended criteria donor livers. *Liver Transpl*. 2016;22(7):979-993. DOI:10.1002/lt.24451

82. Op den Dries S. *Bile duct injury in liver transplantation: studies on etiology and the protective role of machine perfusion: dissertation*. Groningen, the Netherlands: University of Groningen; 2013. 253 p.

83. Trakarnsanga K., Griffiths R.E., Wilson M.C., et al. An immortalized adult human erythroid line facilitates sustainable and scalable generation of functional red cells. *Nat Commun*. 2017;8(7):14750. DOI:10.1038/ncomms14750

84. Gulyaev V.A. *Increase in the efficiency of liver transplantation by improving the technology of seizure and preparation of a transplant: Dr. med. sci. diss*. Moscow, 2016. 309 p. (In Russian).

85. Sakota D., Sakamoto R., Sobajima H., et al. Mechanical damage of red blood cells by rotary blood pumps: selective destruction of aged red blood cells and subhemolytic trauma. *Artif Organs*. 2008;32(10):785–791. DOI:10.1111/j.1525-1594.2008.00631.x

86. Fontes P., Lopez R., van der Plaats A., et al. Liver preservation with machine perfusion and a newly developed cell free oxygen carrier solution under subnormothermic conditions. *Am J Transplant*. 2015;15(2):381–394. DOI:10.1111/ajt.12991

87. Rauen U., Petrat F., Li T., De Groot H.H. Hypothermia injury/cold induced apoptosis–evidence of an increase in chelatable iron causing oxidative injury in spite of low O_2^-/ H_2O_2 formation. *FASEB J*. 2000;14(13):1953–1964. DOI:10.1096/fj.00-0071com

88. Selzner M., Goldaracena N., Echeverri

J., et al. Normothermic ex vivo liver perfusion using Steen solution as perfusate for human liver transplantation-first North American results. *Liver Transpl*. 2016;22(11):1501–1508. DOI:10.1002/lt.24499

89. Niemann C.U., Feiner J., Swain S., et al. Therapeutic Hypothermia in Deceased Organ Donors and Kidney-Graft Function. *N Engl J Med*. 2015;373(27):405–414. DOI:10.1056/NEJMc1511744

90. Barbas A.S., Knechtle S.J. Expanding the Donor Pool With Normothermic Ex Vivo Liver Perfusion: The Future Is Now. *Am J Transplant*. 2016;16(11):3075–3076. DOI:10.1111/ajt.13959

91. Ravikumar R., Jassem W., Mergental H., et al. Liver transplantation after ex vivo normothermic machine preservation: a phase 1 (first-in-man) clinical trial. *Am J Transplant*. 2016;16(6):1779–1787. DOI:10.1111/ajt.13708

92. Graham J.A., Guarrera J.V. "Resuscitation" of marginal liver allografts for transplantation with machine perfusion technology. *J Hepatol*. 2014;61(2):418–431. DOI:10.1016/j.jhep.2014.04.019

93. Mergental H., Perera T., Laing R.W., et al. Transplantation of Declined Liver Allografts Following Normothermic Ex-Situ Evaluation. *Am J Transplant*. 2016;16(11):3235–3245. DOI:10.1111/ajt.13875

94. Quillin R.C., Guarrera J.V. "In 10 years" of debate: Pro–machine perfusion for liver preservation will be universal. *Liver Transpl*. 2016;22(Suppl 1):S25–S28. DOI:10.1002/lt.24630

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
CONFLICT OF INTERESTS. Authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.
FINANCING. The study was performed without external funding.

Информация об авторах

Владимир Алексеевич Гуляев	д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения трансплантации почки и поджелудочной железы ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0001-8650-0855
Сергей Владимирович Журавель	д-р мед. наук, заведующий научным отделением анестезиологии и реанимации для трансплантации органов ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID:0000-0002-9992-9260
Мурад Сафтарович Новрузбеков	канд. мед. наук, заведующий научным отделением трансплантации печени ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0002-6362-7914
Олег Даниелович Олисов	канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения трансплантации печени ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0002-0691-5581
Константин Николаевич Луцык	канд. мед. наук, заведующий операционным блоком Городского центра трансплантации печени ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0003-2305-4055
Марина Геннадьевна Минина	д-р мед. наук, заведующая Московским координационным центром органного донорства ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ», ORCID: 0000-0001-5473-2272
Александр Сергеевич Миронов	канд. мед. наук, заведующий отделением консервирования тканей и производства трансплантатов ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0001-9592-7682
Наталья Константиновна Кузнецова	канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения анестезиологии и реанимации для трансплантации органов ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0002-2824-1020
Кубай Магомедович Магомедов	врач-хирург операционного блока Городского центра трансплантации печени ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0002-5057-6628
Могели Шалвович Хубутия	академик РАН, профессор, д-р мед. наук, президент ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ORCID: 0000-0002-0746-1884

Information about authors

Vladimir A. Gulyaev	Dr. Med. Sci., Leading Researcher of the Kidney and Pancreas Transplantation Department, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0001-8650-0855
Sergey V. Zhuravel	Dr. Med. Sci., Head of the Scientific Department of Anesthesiology and Intensive Care for Organ Transplantation, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0002-9992-9260
Murad S. Novruzbekov	Cand. Med. Sci., Head of the Scientific Liver Transplantation Department, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0002-6362-7914
Oleg D. Olisov	Cand. Med. Sci., Senior Researcher of the Liver Transplantation Department, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0002-0691-5581
Konstantin N. Lutsyk	Cand. Med. Sci., Head of the Operating Theatre of the Liver Transplantation City Center, N.V.Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0003-2305-4055
Marina G. Minina	Dr. Med. Sci., Head of the Moscow Coordination Center of Organ Donation at the City Clinical Hospital n.a. S.P. Botkin, ORCID: 0000-0001-5473-2272
Aleksandr S. Mironov	Cand. Med. Sci., Head of the Department of Tissue Conservation and Transplant Production, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0001-9592-7682
Natal'ya K. Kuznetsova	Cand. Med. Sci., Senior Researcher of the Department of Anaesthesiology and Intensive Care for Organ Transplantation, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0002-2824-1020
Kubay M. Magomedov	Doctor-surgeon of the Operating Theatre of the Liver Transplantation City Center, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0002-5057-6628
Mogeli Sh. Khubutiya	Acad. of RAS, Prof., Dr. Med. Sci., President of N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, ORCID: 0000-0002-0746-1884