



МОДЕЛИРОВАНИЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ: ОТРАБОТКА МЕТОДИКИ

Б.И. Яремин^{1,2}, Е.Ю. Аносова¹, Б.И. Казымов^{1,2}, К.Ф. Алекберов¹, М.С. Новрузбеков^{1,2},
В.А. Зуйкова³, Ф.Р. Гюльмагомедова⁴

¹Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Большая Сухаревская пл., д. 3, г. Москва, 129090, Россия

²Московский медицинский университет «Реавиз», ул. Краснобогатырская, д. 2, стр. 2, г. Москва, 107564, Россия

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117513, Россия

⁴Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет),

ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва, 119048, Россия

Резюме. *Введение.* Ощутимый дефицит качественных донорских органов по-прежнему остаётся одним из наиболее острых вызовов, особенно если речь идёт о донорах с расширенными критериями или об асистолических донорах. Решение этой проблемы возникает на стыке хирургического мастерства, продвинутых биомедицинских технологий и глубокого понимания механизмов ишемически-реперфузионного повреждения (ИРП). *Цель.* Данное исследование выполнено с целью обоснования и отработки методики экстракорпоральной ex-vivo перфузии трансплантата печени на животной модели при помощи аппарата перфузионного для экстракорпоральной оксигенации "Ex-Stream" по ТУ 32.50.21-002-75538036-2020 (держатель РУ ООО «Трансбиотек», Санкт-Петербург, Россия, производитель ООО «Биософт-М», Москва, Россия). *Материалы и методы.* Исследование проводилось на мужских особях свиней массой 15-30 кг (n = 5). В основу исследования включён анализ результатов гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени в условиях вивария с использованием аппарата искусственного кровообращения. Исследование проводилось по следующему протоколу: у животного проводилось изъятие донорской печени с формированием временного вено-венозного обхода, фармако-холодовая консервация органа при помощи аппарата «Ex-Stream» и её последующая реплантация. *Результаты.* В серии из 5 наблюдений были получены следующие результаты. Маркеры повреждения тканей (АСТ, АЛТ, ЛДГ, ГТТП) показали постепенное увеличение их уровня в перфузате с течением времени ишемии. Средние значения АСТ и АЛТ возросли в 2-3 раза, ЛДГ – в 1,5-2 раза, а ГТТП – в 1,2-1,5 раза по сравнению с исходными значениями. Уровень малонового диальдегида, отражающий окислительный стресс, повысился в среднем на 30-40% к концу эксперимента, в то время как уровень глутатиона снизился на 20-25 %. Концентрации провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-6, IL-1β) в перфузате увеличились в 2-4 раза по сравнению с базовыми значениями, указывая на развитие воспалительного ответа. Микроскопическое исследование в окраске гематоксилин-эозин выявило признаки ишемического повреждения гепатоцитов, такие как вакуолизация цитоплазмы, пикноз ядер и нарушение балочной структуры. Степень повреждения нарастала с увеличением времени ишемии. Окраска по Массону показала умеренное увеличение соединительной ткани в портальных трактах и перипортальных зонах, свидетельствующее о начальных фибротических изменениях. Ультрамикроскопическое исследование (просвечивающая электронная микроскопия) выявило набухание митохондрий, нарушение целостности их крист, расширение эндоплазматического ретикула и образование аутофагосом в гепатоцитах. Потребление кислорода тканью печени постепенно снижалось в ходе эксперимента, достигая 60-70 % от исходного уровня к концу наблюдения. Продукция углекислого газа также уменьшалась, но в меньшей степени, составляя 75-85 % от базовых значений. Анализ перфузата с помощью потенциостата-гальваностата ИПС показал постепенное снижение окислительно-восстановительного потенциала, указывающее на нарастание гипоксии и истощение антиоксидантных резервов. Активность супероксиддисмутазы и каталазы, ключевых антиоксидантных ферментов, снизилась на 30-40 % и 20-30 % соответственно по сравнению с исходными значениями, свидетельствуя об ослаблении антиоксидантной защиты. *Заключение.* Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанная модель с использованием аппарата Ex-Stream является воспроизводимой и позволяет эффективно изучать состояние ишемически-реперфузионного повреждения. Это открывает возможности для проведения более масштабной и всесторонней серии экспериментов, результаты которой станут предметом наших дальнейших исследований.

Ключевые слова: Трансплантация печени / Liver Transplantation MeSH: D016092 / D016092, Ишемически-реперфузионное повреждение / Ischemia-Reperfusion Injury MeSH: D054058 / D015427, Гипотермия / Hypothermia - D006955 / D007035, Перфузия / Perfusion - D010490 / D010490, Трансплантация органов / Organ Transplantation - D016177 / D016177, Периферическое сосудистое сопротивление / Peripheral Vascular Resistance MeSH: D020293 / D020293, Свиная модель / Porcine Model MeSH: D053124 / D053124.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках гранта на реализацию научно-практического проекта в сфере медицины «Применение различных протоколов перфузионной консервации при трансплантации почек и печени» № 2312-15/22 от «25» марта 2022 года с некоммерческой организацией «Московский центр инновационных технологий в здравоохранении»

Уведомление об использовании языковых моделей. При подготовке данной научной работы были использованы большие языковые модели Claude Opus (Anthropic) и ChatGPT-4 (OpenAI) для вычитывания, перевода и проверки текста. Использование этих инструментов было ограничено исключительно редакторскими задачами, направленными на повышение качества и ясности изложения материала. Ни одна часть научного содержания работы, включая результаты исследований, выводы и интерпретации, не была сгенерирована или изменена с помощью данных языковых моделей. Основные цели применения Claude и ChatGPT-4 заключались в следующем: вычитывание текста на предмет грамматических, пунктуационных и стилистических ошибок, проверка согласованности и последовательности изложения материала, перевод отдельных фрагментов текста на английский язык для повышения международной доступности работы, оценка читабельности и ясности изложения для широкой аудитории. Все идеи, результаты и выводы были сформулированы исследователями без использования генеративных возможностей Claude и ChatGPT-4.

Конфликт интересов. Борис Яремин, занимающий должность ответственного секретаря редакционной коллегии, и Екатерина Аносова, выступающая в роли научного редактора журнала, являются соавторами данной научной работы. Указанные авторы не принимали участие в процессе рецензирования, оценки и принятия решения о публикации данной научной работы. Рассмотрение работы было передано независимым рецензентам, не имеющим отношения к редакционной коллегии журнала и не связанным с авторами работы. Окончательное решение о публикации принято главным редактором журнала на основании рекомендаций независимых рецензентов и в соответствии с общепринятыми критериями научной значимости, оригинальности и качества представленного материала.

Соответствие нормам этики. Авторы подтверждают, что соблюдались правила обращения с животными в случаях их использования в работе.

Для цитирования: Яремин Б.И., Аносова Е.Ю., Казымов Б.И., Алекберов К.Ф., Новрузбеков М.С., Зуйкова В.А., Гюльмагомедова Ф.Р. Моделирование ишемически-реперфузионного повреждения печени и почек в эксперименте: отработка методики. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Реабилитация, Врач и Здоровье. 2024;14(6):159-170. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2024.6.TX.1>



MODELING OF ISCHEMIC-REPERFUSION INJURY OF THE LIVER AND KIDNEYS IN THE EXPERIMENT: WORKING OUT THE METHODOLOGY

Boris I. Yaremin^{1, 2}, Ekaterina Yu. Anosova¹, Bakhtiyar I. Kazymov^{1, 2}, Kyamran F. Alekberov¹,
Murad S. Novruzbekov^{1, 2}, Viktoriya A. Zuykova³, Fatimat R. Gyl'magomedova⁴

¹N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, 3, Bolshaya Sukharevskaya Square, Moscow, 129090, Russia

²Moscow Medical University "Reaviz", 2, Krasnobogatyrskaya st., building 2, Moscow, 107564, Russia

³Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117513, Russia

⁴Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8 Trubetskaya St., Bldg. 2, Moscow, 119048, Russia

Abstract. Introduction. A significant shortage of high-quality donor organs remains one of the most pressing challenges, especially when it comes to extended criteria donors or asystolic donors. The solution to this problem arises at the intersection of surgical skill, advanced biomedical technologies and a deep understanding of the mechanisms of ischemia-reperfusion injury (IRI). Objective. This study was carried out to substantiate and refine the technique of extracorporeal ex-vivo perfusion of a liver graft on an animal model using the Ex-Stream perfusion apparatus for extracorporeal oxygenation according to TU 32.50.21-002-75538036-2020 (RU holder Transbiotek LLC, St. Petersburg, Russia, manufacturer Biosoft-M LLC, Moscow, Russia). Materials and methods. The study was conducted on male pigs weighing 15-30 kg (n = 5). The study is based on the analysis of the results of hypothermic oxygenated perfusion of the liver transplant in a vivarium using a cardiopulmonary bypass apparatus. The study was conducted according to the following protocol: the donor liver was removed from the animal with the formation of a temporary venovenous bypass, pharmacological cold preservation of the organ using the Ex-Stream apparatus and its subsequent replantation. Results. The following results were obtained in a series of 5 observations. Tissue damage markers (AST, ALT, LDH, GGTP) showed a gradual increase in their level in the perfusate over the course of ischemia. The average values of AST and ALT increased by 2-3 times, LDH - by 1.5-2 times, and GGTP - by 1.2-1.5 times compared to the initial values. The level of malondialdehyde, reflecting oxidative stress, increased by an average of 30-40% by the end of the experiment, while the level of glutathione decreased by 20-25%. Concentrations of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-6, IL-1 β) in the perfusate increased 2-4 times compared to baseline values, indicating the development of an inflammatory response. Microscopic examination with hematoxylin and eosin staining revealed signs of ischemic damage to hepatocytes, such as cytoplasmic vacuolization, nuclear pyknosis, and disruption of the beam structure. The degree of damage increased with increasing ischemia time. Mason staining showed a moderate increase in connective tissue in the portal tracts and pericentral zones, indicating initial fibrotic changes. Ultramicroscopic examination (transmission electron microscopy) revealed swelling of mitochondria, disruption of the integrity of their cristae, expansion of the endoplasmic reticulum and formation of autophagosomes in hepatocytes. Oxygen consumption by liver tissue gradually decreased during the experiment, reaching 60-70% of the initial level by the end of the observation. Carbon dioxide production also decreased, but to a lesser extent, amounting to 75-85% of the baseline values. Analysis of the perfusate using a potentiostat-galvanostat IPS showed a gradual decrease in the oxidation-reduction potential, indicating an increase in hypoxia and depletion of antioxidant reserves. The activity of superoxide dismutase and catalase, key antioxidant enzymes, decreased by 30-40% and 20-30%, respectively, compared with the initial values, indicating a weakening of the antioxidant defense. Conclusion. The obtained results indicate that the developed model using the Ex-Stream device is reproducible and allows for effective study of the state of ischemia-reperfusion injury. This opens up opportunities for conducting a larger and more comprehensive series of experiments, the results of which will be the subject of our further research.

Funding Acknowledgement. This study was conducted with the support of a grant "Application of Various Protocols of Perfusion Preservation in Kidney and Liver Transplantation" (Grant No. 2312-15/22, dated March 25, 2022) from the non-profit organization "Moscow Center for Innovative Technologies in Healthcare".

Declaration of Conflicting Interests. The authors declare the following potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article: Boris Yaremin, who serves as the Executive Secretary of the Editorial Board, and Ekaterina Anosova, who acts as the Scientific Editor of the journal, are co-authors of this scientific work. To ensure an unbiased review process and maintain the integrity of the double-blind peer review, these authors were not involved in the evaluation, decision-making, or any other aspect of the manuscript handling process. The manuscript was independently reviewed by external experts who have no affiliation with the journal's editorial board or the authors of the work. The final decision regarding publication was made by the Editor-in-Chief based on the recommendations provided by the independent reviewers and in accordance with the journal's standard criteria for assessing scientific merit, originality, and quality of the submitted work.

Disclosure on the Use of Language Models. In the preparation of this scientific work, large language models Claude Opus (Anthropic) and ChatGPT-4 (OpenAI) were used for proofreading, translation, and text verification. The use of these tools was strictly limited to editorial tasks aimed at improving the quality and clarity of the material presented. No part of the scientific content of the work, including research results, conclusions, and interpretations, was generated or altered using these language models. The main objectives of employing Claude and ChatGPT-4 were as follows: proofreading the text for grammatical, punctuation, and stylistic errors; checking the consistency and coherence of the material; translating individual fragments of the text into English to enhance the work's international accessibility; and assessing the readability and clarity of the presentation for a broad audience. All ideas, results, and conclusions were formulated by the researchers without the use of the generative capabilities of Claude and ChatGPT-4.

Compliance with ethical principles. The authors confirm that the rules of treatment of animals when they are used in the study.

Cite as: Yaremin B.I., Anosova E.Yu., Kazymov B.I., Alekberov K.F., Novruzbekov M.S., Zuykova V.A., Gyl'magomedova F.R. Modeling of ischemic-reperfusion injury of the liver and kidneys in the experiment: working out the methodology. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ": Rehabilitation, Doctor and Health*. 2024;14(6):159-170. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2024.6.TX.1>

Введение

Ощутимый дефицит качественных донорских органов по-прежнему остаётся одним из наиболее острых вызовов, особенно если речь идёт о донорах с расширенными критериями или об асистолических донорах. Решение этой проблемы возникает на стыке хирургического мастерства, продвинутых биомедицинских технологий и глубокого понимания механизмов ишемически-реперфузионного повреждения (ИРП) [1].

Практика внедрения инновационных методов, таких как экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЕСМО), гипотермическая оксигенированная перфузия (HOPE) и различные формы метаболической поддержки (к примеру, с применением дихлорацетата натрия), уже доказала свою эффективность, демонстрируя впечатляющие результаты в уменьшении повреждения тканей органов. Многочисленные эксперименты, проведённые как в доклинических условиях (на крысах, кроликах, свиных моделях), так и в клинических условиях, указывают на способность подобных вмешательств не только улучшать биохимические параметры, но и усиливать антиоксидантную защиту, что находит выражение в благоприятных морфологических картинах исследуемых образцов [2]. Параллельно наблюдается расширение клинического опыта трансплантаций от доноров с расширенными критериями, который подтверждает оправданность и дальнейшую перспективность подобных технологий.

Значительный интерес представляет эффективность различных температурных режимов при машинной перфузии органов: от глубокого охлаждения до субнормотермии и нормотермии, позволяющих сохранить тонкую архитектуру тканей и продлить жизнеспособность трансплантата [3]. Ряд объективных биохимических, морфологических и функциональных маркеров, полученных в ходе исследований, указывает на то, что систематическое внедрение этих подходов способно не только расширить круг доступных доноров, но и повысить общую результативность трансплантации, сократив риск осложнений и послеоперационного отторжения.

Впервые о машинной перфузии органов или ее прототипе говорят исследования 18 века, проведенные Максом фон Фреем и Максом Грубером [4]. Они соорудили закрытую систему с оксигенатором для перфузии органов, которая состояла из венозного резервуара, оксигенатора и перистальтического насоса. Сердце сохранялось в ней в течение нескольких часов. Эти эксперименты показали возможность поддержания жизнедеятельности отдельных органов вне организма и дали толчок для дальнейшего развития в этом направлении. Уже Алексис Каррель с опорой на имеющиеся представления разработал аппарат для перфузии органов совмест-

но с Чарльзом Линдбергом в 1935 году [3]. Этот аппарат в контролируемых условиях поддерживал пульсирующую циркуляцию стерильной жидкости через орган (рис. 1).

Сравнивая с нынешними машинами, едва ли можно найти общие черты, но именно изобретение Линдберга и Карреля дало основу всем современным методам аппаратной перфузии. В настоящее время машинная перфузия рассматривается как способ увеличения пула доноров путем вовлечения доноров с «расширенными критериями отбора», то есть выходящих за рамки стандартных требований: возраст старше 50–60 лет, длительный анамнез гипертонической болезни, наличие сахарного диабета и других хронических заболеваний [5,6]. Риск трансплантации от таких доноров рассматривается как повышенный, в связи с чем подключение к аппаратной перфузии взамен стандартной статической холодовой перфузии имеет ряд преимуществ. Помимо маргинальных доноров, машинная перфузия может применяться для длительной транспортировки, например, из других регионов, что также увеличит охват трансплантаций [7].



Рисунок 1. Аппарат для перфузии целых органов, разработанный Алексисом Каррелем, Чарльзом Линдбергом и Отто Хопфом (1935). Орган помещен в герметичную камеру из выдувного стекла Pyrex и подключен к системе стеклянных трубок, имитирующих кровообращение. Фото: Луи Шмидт и Джозеф Б. Хауленбек, 1935. Цифровая коллекция Университета Рокфеллера

Figure 1. A device for perfusion of whole organs, developed by Alexis Carrel, Charles Lindbergh and Otto Hopf (1935). The organ is placed in a sealed Pyrex blown glass chamber and connected to a system of glass tubes that simulate blood circulation. Photo: Louis Schmidt and Joseph B. Haulenbeck, 1935. Rockefeller University Digital Collection

В России с недавнего времени обширно развивается и расширяется применение перфузионных технологий в трансплантации. Первым подобным опытом обладают коллективы ММНКЦ им. С.П. Боткина (Москва), НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени В.И. Шумакова. Российским производителем (ООО «Трансбиотек», Санкт-Петербург, Россия, ООО «Биософт-М», Москва) разработан отечественный перфузионный аппарат для экстракорпоральной оксигенации «Ex-Stream», зарегистрированный для перфузии донорских органов. Вместе с тем отработка экспериментальной модели для изучения всех аспектов перфузии остается не до конца решенной, но важной задачей [8].

Цель исследования

Данное исследование выполнено с целью обобщения и отработки методики экстракорпоральной ex-vivo перфузии трансплантата печени на животной модели при помощи аппарата перфузионного для экстракорпоральной оксигенации «Ex-Stream» по ТУ 32.50.21-002-75538036-2020 (держатель РУ ООО «Трансбиотек», Санкт-Петербург, Россия, производитель ООО «Биософт-М», Москва, Россия). Исследование проводилось на мужских особях свиней массой 15–30 кг ($n = 5$). Исследование выполнено в соответствии с правилами лабораторной практики в Российской Федерации: приказ Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г.; приказ МЗ РФ No 267 от 19.06.2003 г.; Закон «О защите животных от жестокого обращения» от 01.12.1999 г., на проведение данного исследования было получено разрешение Комитета по биомедицинской этике НИИ им. Н.В. Склифосовского № 4-22 от 12 апреля 2022 г.

Материалы и методы

В основу исследования включён анализ результатов гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени в условиях вивария с использованием аппарата искусственного кровообращения. Исследование проводилось по следующему протоколу: у животного осуществлялось изъятие донорской печени с формированием временного вено-венозного обхода, производились фармако-холодовая консервация органа при помощи аппарата «Ex-Stream» и её последующая реплантация. Во время процедуры гипотермической перфузии ex vivo исследовались такие показатели как pH перфузата, а также данные электрохимического исследования при помощи потенциостата-гальваностата ИПС, предназначенного для электрохимических исследований жидкостных и твёрдотельных систем, исследовались биохимические параметры перфузата, крови лабораторного животного.

Процедура эксплантации донорской печени

Свинье (*Sus scrofa domesticus*) весом 15–30 кг вводили успокоительное с помощью инъекции пентобарбитала натрия в ягодичную мышцу (3 мг/кг), диазепама (0,4 мг/кг) и атропина (0,02 мг/кг). Животное укладывали на спину и фиксировали на операционном столе. Для обезболивания использовали внутривенную инъекцию суксаметония хлорида (1 мг/кг) с последующей эндотрахеальной интубацией. Для поддержания общей анестезии применяли севофлуран (2 %).

Перед разрезом свинье внутривенно вводили 25 000 единиц гепарина. Производили верхнюю срединную лапаротомию и рассекали связки, окружающие печень. Проводили диссекцию ворот печени с разделением общего желчного протока, собственной печёночной артерии (последнюю перевязывали), а также структур печёочно-двенадцатиперстной связки над поджелудочной железой. Воротную вену тупо выделяли до слияния селезеночной и верхней брыжеечной вен. Общую печёночную артерию выделяли проксимально, а левую желудочную артерию пересекали. Селезёнку и желудок смещали медиально. Селезёночную артерию пересекали, а чревный ствол и общую печёночную артерию полностью выделяли. Нижнюю полую вену выделяли в полости перикарда, после чего из заранее подготовленных кондуитов трупных вен человека (подвздошных) формировали вено-венозный шунт (by-pass), при помощи которого соединяли конец-в-бок над- и подпечёночный отделы нижней полой вены. После чего нижнюю полую вену пережимали под шунтом, отсекали.

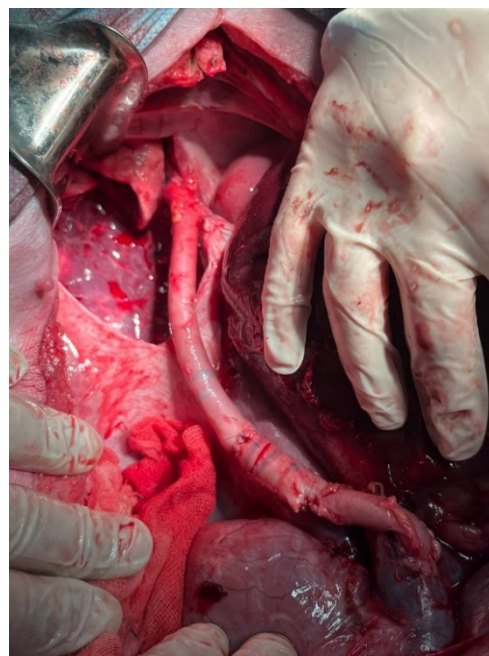


Рисунок 2. Каво-кавальный шунт
Figure 2. Cavo-caval shunt

Проводили быструю деваскуляризацию печёночной артерии, воротной вены, надпечёночной и подпечёночной полой вены, быстрое извлечение печени, подключение устройства Ex-Stream и начало перфузии раствором Belzer MPS® UW Machine Perfusion Solution (США) через воротную вену.

Определение показателей перфузии для эксперимента

Физиологические значения потока и давления определяются по-разному для печёночной артерии и воротной вены. Чтобы воспроизвести значения для воротной вены, равные 900 мл/мин (пульсирующий поток) и 5-7 мм рт. ст. соответственно, используется перистальтический насос, работающий при напряжении 5 В. В воротной вене скорость потока составляет 600-1200 мл/мин, а давление – 4-8 мм рт. ст. Для достижения этих значений потребовалось использовать гидростатический напор, создаваемый в резервуаре, заполненном жидкостью, с выходным соплом. Закон Стивено (закон гидростатического давления) гласит, что гидростатическое давление (P) в жидкости прямо пропорционально плотности жидкости (ρ), ускорению свободного падения (g) и высоте столба жидкости (h). Формула выглядит следующим образом:

$$P = \rho \times g \times h,$$

где P – гидростатическое давление (Па); ρ – плотность жидкости (кг/м^3); g – ускорение свободного падения (м/с^2); h – высота столба жидкости (м).

Для расчёта высоты водяного столба, необходимой для создания желаемого гидростатического напора в АИК для перфузии свиной печени, нужно выразить высоту (h) из формулы:

$$h = P / (\rho \times g).$$

Допустим, мы хотим создать гидростатическое давление в воротной вене, равное 6 мм рт. ст. (среднее значение из диапазона 4-8 мм рт. ст.). Переведём миллиметры ртутного столба в паскали: 6 мм рт. ст. = $6 \times 133,322 \text{ Па} = 799,932 \text{ Па} \approx 800 \text{ Па}$.

Плотность перфузионного раствора примем равной плотности воды при 4 °C (температура гипотермической перфузии): $\rho = 1000 \text{ кг/м}^3$; ускорение свободного падения: $g = 9,81 \text{ м/с}^2$:

$$h = 800 / (1000 \times 9,81) = 0,0815 \text{ м} = 8,15 \text{ см}.$$

Закон Бернулли описывает зависимость между скоростью жидкости, давлением и высотой в потоке жидкости. Для расчёта скорости жидкости на выходе из АИК в воротную вену печени можно использовать упрощённую форму уравнения Бернулли, пренебрегая изменением высоты и считая плотность жидкости постоянной:

$$P1 + (\rho \times v1^2) / 2 = P2 + (\rho \times v2^2) / 2,$$

где P1 и P2 – давление в двух точках потока (Па); ρ – плотность жидкости (кг/м^3); v1 и v2 – скорость жидкости в двух точках потока (м/с).

Давление в АИК (P1) равно 20 мм рт. ст. (2666,44 Па), давление в воротной вене (P2) равно 6 мм рт. ст. (799,93 Па), а скорость жидкости в АИК (v1) равна 0,1 м/с. Плотность перфузионного раствора примем равной плотности воды при 4 °C: $\rho = 1000 \text{ кг/м}^3$.

$$v \approx 1,93 \text{ м/с}.$$

Для расчёта потребления кислорода во время перфузии печени использовалась формула

$VO_2 = (P_{O_2 \text{ Sat}} - B_{O_2 \text{ Sat}}) \times Hgb \times 1,34 \times (AIK + PV) / 100$,
где VO_2 – потребление кислорода (мл/мин); $P_{O_2 \text{ Sat}}$ – насыщение кислородом перфузата на входе (%); $B_{O_2 \text{ Sat}}$ – насыщение кислородом перфузата на выходе (%); Hgb – концентрация гемоглобина в перфузате (г/дл); 1,34 – константа, представляющая количество кислорода (в мл), связываемое 1 граммом гемоглобина; АИК – кровоток по аппарату (мл/мин); PV – порталый венозный кровоток (мл/мин).

Принимая $P_{O_2 \text{ Sat}} = 98 \%$, $B_{O_2 \text{ Sat}} = 75 \%$, Hgb = 10 г/дл, АИК = 200 мл/мин, PV = 800 мл/мин, тогда $VO_2 = 3082 \text{ мл/мин}$.

Периферическое сосудистое сопротивление являлось расчётным показателем, вычисляемым по формуле:

$$R = P/V,$$

где R – сопротивление; P – давление в мм рт. ст.; V – объёмная скорость перфузии в мл/мин, и отображало податливость сосудистого русла трансплантата печени, что являлось предиктором восстановления печёночной функции после имплантации. С учётом специфики кровоснабжения печени у свиней перфузию артерии не проводили, при выполнении эксперимента было решено лигировать последнюю.

Методика перфузии печени в эксперименте

Для процедуры гипотермической перфузии донорской печени ex vivo предварительно выполняли сборку экстракорпорального контура. Перфузионный контур состоял из роликового насоса, блока инвазивного измерения давления, термодатчика, ёмкости для трансплантата печени, оксигенатора (использован неонатальный оксигенатор Maquet), перфузионных магистралей и перфузионной канюли.

Схематичное изображение экстракорпорального контура представлено на рисунке 3.

Перфузионный контур заполняли 100 мл раствора Бельзера (UW) при температуре 4 °С и добавляли гепарин 1000 ЕД. После проведённой фармако-холодовой консервации в воротную вену устанавливали внутривенный катетер, выполняли деаэрацию и коннекцию перфузионной магистрали к катетеру. Процедура гипотермической перфузии донорской печени *ex vivo* проводилась с регуляцией по давлению с ранее описанными параметрами перфузии.

Длительность процедуры составляла 30 минут, и по окончании гипотермической перфузии выполнялась реплантация.

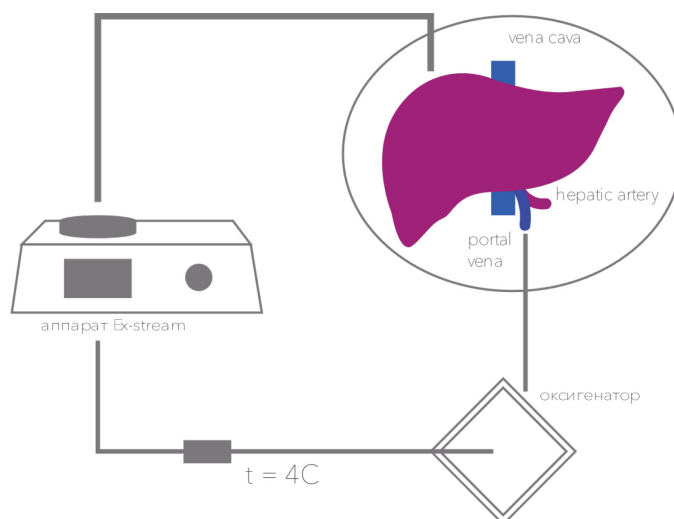


Рисунок 3. Контур перфузии печени в эксперименте
Figure 3. The contour of liver perfusion in the experiment



Рисунок 4. Подключенный контур перфузии печени в эксперименте с оксигенатором Maquet

Figure 4. Connected liver perfusion circuit in the experiment with the Maquet oxygenator

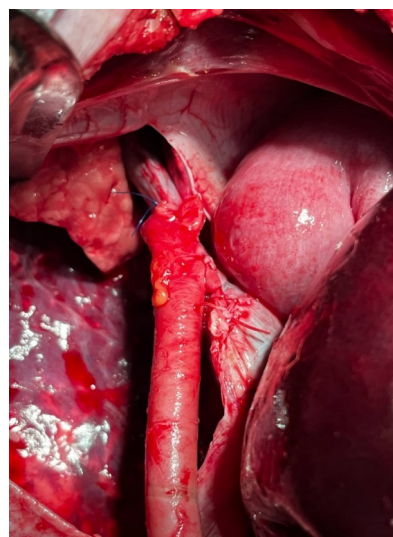


Рисунок 5. Методика реплантации и реперфузии в эксперименте
Figure 5. Method of replantation and reperfusion in the experiment

Процедура моделирования реперфузии и ИРП

Трансплантат помещался в брюшную полость животного, формировался проксимальный каво-кавальный анастомоз конец-в-конец, а нижний конец воротной вены животного ушивался. Ранее сформированный каво-кавальный шунт функционировал до выведения животного из эксперимента. Далее формировали порталный анастомоз, выполняли реперфузию. Время наблюдения после реперфузии составило от 45 минут до 2 часов, после чего эксперимент прекращали.

Для оценки результатов эксперимента использовали следующие методики: биохимические анализы – оценка маркеров повреждения тканей (АСТ, АЛТ, ЛДГ, ГГТП), измерение уровня окислительного стресса (малоновый диальдегид, глутатион), опре-

деление провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-1 β); выполняли гистологические исследования (микроскопическое в окраске гематоксилин-эозин, трихром по Массону, ультрамикроскопическое – просвечивающая электронная микроскопия), анализ потребления кислорода и продукции углекислого газа, потенциометрическое исследование перфузата при помощи потенциостата-гальваностата ИПС, исследование активности ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза) в ткани печени.

Результаты

В таблице 1 представлены сводные параметры – вес органа, температура в перфузате, давления в контуре, потока и сосудистого сопротивления в момент машинной перфузии и времени проведения.

Таблица 1. Результаты отработки методики перфузии в эксперименте
Table 1. Results of testing the perfusion technique in the experiment

№ наблюдения	Вес, г	Поток, мл/мин	Давление, мм рт. ст.	Сопротивление	Температура, °С	pH	PCO ₂	PaO ₂	Лактат
1	1400	90	5	0,05	4-6	6,88	6	125	8
2	1200	100	6	0,06	6-8	6,86	8	186	3
3	1600	89	7	0,07	6-9	6,83	6	201	5
4	1000	86	8	0,09	4-6	6,8	6	205	23
5	1200	90	5	0,05	4-6	6,89	9	164	16

В серии из 5 наблюдений были получены следующие результаты. Маркеры повреждения тканей (АСТ, АЛТ, ЛДГ, ГГТП) показали постепенное увеличение их уровня в перфузате с течением времени ишемии. Средние значения АСТ и АЛТ возросли в 2-3 раза, ЛДГ - в 1,5-2 раза, а ГГТП - в 1,2-1,5 раза по сравнению с исходными значениями. Уровень малонового диальдегида, отражающий окислительный стресс, повысился в среднем на 30-40 % к концу эксперимента, в то время как уровень глутатиона снизился на 20-25 %. Концентрации провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-1 β) в перфузате увеличились в 2-4 раза по сравнению с базовыми значениями, указывая на развитие воспалительного ответа. Микроскопическое исследование в окраске гематоксилин-эозин выявило признаки ишемического повреждения гепатоцитов, такие как вакуолизация цитоплазмы, пикноз ядер и нарушение балочной структуры. Степень повреждения нарастала с увеличением времени ишемии. Окраска по Массону показала умеренное увеличение соединительной ткани в портальных трактах и периферических зонах, свидетельствующее о начальных фибротических изменениях. Ультрамикроскопическое исследование (просвечивающая электронная микроскопия) выявило набухание митохондрий, нарушение целостности их крист, расширение эндоплазматического ретикулума и образование аутофагосом в гепатоцитах. Потребление кислорода тканью печени постепенно снижалось в ходе эксперимента, достигая 60-70 % от исходного уровня к концу наблюдения. Продукция углекислого газа также уменьшалась, но в меньшей степени, составляя 75-85 % от базовых значений. Анализ перфузата с помощью потенциостат-гальваностата ИПС показал постепенное снижение окислительно-восстановительного потенциала, указывающее на нарастание гипоксии и истощение антиоксидантных резервов. Активность супероксиддисмутазы и каталазы, ключевых антиоксидантных ферментов снизилась на 30-40 % и 20-30 % соответственно по сравнению с исходными значениями, свидетельствуя об ослаблении антиоксидантной защиты.

Полученные результаты демонстрируют развитие ишемически-реперфузионного повреждения печени в ходе эксперимента, характеризующегося нарастанием маркеров повреждения тканей, окис-

лительного стресса, воспалительного ответа, гистологическими изменениями, нарушением энергетического метаболизма и ослаблением антиоксидантной защиты. Эти данные создают основу для дальнейшего изучения механизмов повреждения и разработки терапевтических стратегий.

В ходе проведения исследования интраоперационная летальность отсутствовала, и все животные успешно перенесли хирургическое вмешательство. Удалось поддерживать жизнеспособность моделей в течение периода от 45 минут до полутора часов, что позволило получить образцы желчи и крови для дальнейших исследований, а также провести морфологическую оценку тканей. Первые результаты полученных исследований на ограниченной серии в 5 наблюдений позволили получить воспроизводимые результаты.

Обсуждение

Машинная перфузия является многообещающим направлением в трансплантации печени, открывающим новые возможности для сохранения жизнеспособности органов вне человеческого тела [8]. Эта технология, привлекавшая внимание выдающихся учёных, таких как нобелевский лауреат Алексис Каррель, более ста лет назад, сегодня является альтернативой традиционному статическому холодовому хранению трансплантатов [9]. В последние десятилетия были разработаны различные методы машинной перфузии (МП), включая гипотермическую, нормотермическую, субнормотермическую и гипотермическую оксигенированную перфузию [10]. Исследования на животных моделях (свиньи, крысы, собаки) и различных типах трансплантатов (после сердечной смерти и смерти мозга) необходимы для изучения механизмов защиты, безопасности и осуществимости этих методов, а также новых устройств для их реализации [11].

В исследовании И.Ю. Цымбалюка, А.М. Мануйлова и К.А. Попова рассматривается метаболическая коррекция ишемически-реперфузионного повреждения печени с использованием дихлорацетата натрия (ДХА) при сосудистой эксклюзии, что моделирует такие условия, как маневр Прингла [12]. Эксперимент, проведённый на 105 самцах крыс, показал, что введение ДХА существенно снижает уровень маркеров повреждения печени, таких как лак-

татдегидрогеназа (ЛДГ), аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ), а также повышает активность антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (КАТ). Эти данные поддерживают идею о том, что метаболические вмешательства, такие как использование ДХА, могут значительно улучшить результаты трансплантации печени, минимизируя повреждения при ишемическом стрессе.

В статье О.Н. Резника, А.Е. Скворцова и В.С. Дайнеко [13] рассмотрены результаты трёхлетнего опыта трансплантации печени и почек от доноров, умерших вследствие внегоспитальной остановки сердца (ОНСД), с использованием экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЕСМО) для восстановления кровообращения и поддержания жизни органов потенциальных доноров. В период с 2017 по 2020 гг. в Санкт-Петербурге было проведено 67 случаев экстренной госпитализации пациентов с ОНСД, из которых 4 случая реанимированы с помощью ЕСМО, что позволило восстановить кровообращение, а 11 доноров стали источником трансплантатов. В результате этого исследования были выполнены 22 трансплантации почки и 5 трансплантаций печени. Важными аспектами исследования являются точность и своевременность оценки состояния органов с помощью технологий, таких как КТ-анализ перфузии органов.

Работа А.В. Шабунина, М.Г. Мининой и П.В. Дроздова [14] фокусируется на применении машинной гипотермической оксигенированной перфузии (НОРЕ) для сохранения почечных трансплантатов от доноров с расширенными критериями. В исследовании, проведённом в Боткинской больнице с 2018 по 2021 гг., было выполнено 200 трансплантаций почки от посмертных доноров, включая 102 доноров с расширенными критериями. Использование НОРЕ в группе пациентов привело к снижению частоты отсроченной функции трансплантатов до 10 % по сравнению с 35,8 % в группе с традиционной холодовой консервацией. Эти данные подтверждают, что использование НОРЕ для сохранения почек от доноров с расширенными критериями является не только безопасным, но и эффективным методом для минимизации отсроченной функции трансплантатов.

В исследовании А.В. Шабунина, О.Б. Лорана и Д.Ю. Пушкаря [15] рассмотрена НОРЕ при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями. Результаты показали, что применение НОРЕ значительно улучшает исходы трансплантации печени, снижая уровень ишемически-

реперфузионного повреждения и улучшая восстановление функции печени. В группе с НОРЕ было зафиксировано статистически значимое снижение уровней АСТ и АЛТ в первую неделю после трансплантации, а также меньшее количество послеоперационных осложнений и короткий период нахождения реципиентов в интенсивной терапии. Морфологические исследования показали меньший уровень повреждения гепатоцитов по сравнению с традиционной холодовой консервацией.

В работе В.Г. Шестаковой, В.К. Богданова и Р.Д. Павлова [16] рассмотрено использование НОРЕ для почечных трансплантатов от асистолических доноров с применением раствора на основе декстрана-40. В эксперименте использовалась модель кролика, в которой доноры подвергались 30-минутной асистолии, после чего почки подвергались гипотермической перфузии с использованием раствора на основе декстрана-40. Результаты показали, что НОРЕ эффективно снижает периферическое сосудистое сопротивление, улучшает биохимические показатели, такие как уровень креатинина и мочевины, и способствует стабилизации этих показателей до физиологических значений к 12-му дню после трансплантации.

В работе М. Magbagbeola, Z.L. Rai, K. Doyle [17] описана низкочастотная система для гипотермической машинной перфузии печени с использованием свинных моделей. Эксперимент продемонстрировал успешную перфузию печени с использованием модульной системы, которая включает камеру для органа, насосы, кислородатор и датчики для мониторинга. Система показала долговечность и стабильные результаты при поддержании нормотермических условий для печени в течение 3 часов.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанная модель с использованием аппарата Ex-Stream является воспроизводимой и позволяет эффективно изучать состояние ишемически-реперфузионного повреждения [18]. Это открывает возможности для проведения более масштабной и всесторонней серии экспериментов, результаты которой станут предметом наших дальнейших исследований. Успешное завершение данного этапа работы закладывает прочную основу для углубленного изучения механизмов ишемически-реперфузионного повреждения и разработки новых терапевтических стратегий, направленных на минимизацию повреждений трансплантируемых органов и улучшение результатов трансплантации [19].

Литература [Reference]

- 1 Sánchez-Fructuoso AI, Prats D, Torrente J, et al. Renal transplantation from non-heart beating donors: a promising alternative to enlarge the donor pool. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11:350-358.
- 2 Reznik ON, Bagnenko SF, Skvortsov AE. Uncontrolled donors with controlled reperfusion after sixty minutes of asystole: a novel reliable resource for kidney transplantation. *PloS One*. 2013;8(5):e64209.
- 3 Rudich SM, Kaplan B, Magee JC, et al. Renal transplants performed using non-heart-beating organ donors: going back to the future? *Transplantation*. 2002;74:1715-1720.
- 4 Kokkinos C, Antcliffe D, Nanidis T, et al. Outcome of kidney transplantation from non-heart-beating versus heart-beating cadaveric donors. *Transplantation*. 2007;83:1193-1199.
- 5 Borry P, van Reusel W, Roels L, Schotsmans P. Donation after Uncontrolled Cardiac Death (uDCD): a review of the debate from a European perspective. *J Law Med Ethics*. 2008;36:752-759.
- 6 Blackstock MJ, Ray DC. Organ donation after circulatory death: an update. *Eur J Emerg Med*. 2014;21:324-329.
- 7 Abrams D, et al. Extracorporeal membrane oxygenation in cardiopulmonary disease in adults. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(25 Pt A):2769-2778.
- 8 Carroll BJ, et al. Clinical features and outcomes in adults with cardiogenic shock supported by extracorporeal membrane oxygenation. *Am J Cardiol*. 2015;116(10):1624-1630.
- 9 Lee HS, Kang M, Kim B, Park Y. Outcomes of kidney transplantation over a 16-year period in Korea: An analysis of the National Health Information Database. *PLoS One*. 2021;16(2):e0247449.
- 10 Wang Z, Durai P, Tiong HY. Expanded criteria donors in deceased donor kidney transplantation – An Asian perspective. *Indian J Urol*. 2020;36(2):89.
- 11 Gondos A, Döhler B, Brenner H, Opelz G. Kidney graft survival in Europe and the United States: strikingly different long-term outcomes. *Transplantation*. 2013;95(2):267-274.
- 12 Saat TC, van den Akker EK, IJzermans JN, Dor FJ, de Bruin RW. Improving the outcome of kidney transplantation by ameliorating renal ischemia reperfusion injury: lost in translation? *J Transl Med*. 2016;14(1):1-9.
- 13 Kaminski J, Delpach PO, Kaaki-Hosni S, Promeyrat X, Hauet T, Hannaert P. Oxygen consumption by warm ischemia-injured porcine kidneys in hypothermic static and machine preservation. *J Surg Res*. 2019;242:78-86.
- 14 Cannon RM, Franklin GA. Machine perfusion for improving outcomes following renal transplant: current perspectives. *Transpl Res Risk Manag*. 2016;8:1-7.
- 15 Lomero M, Gardiner D, Coll E, Haase-Kromwijk B, Procaccio F, Immer F, et al. Donation after circulatory death today: an updated overview of the European landscape. *Transplant Int*. 2020;33(1):76-88. doi:10.1111/tri.13506.
- 16 Domínguez-Gil B, Duranteau J, Mateos A, Núñez JR, Cheisson G, Corral E, et al. Uncontrolled donation after circulatory death: European practices and recommendations for the development and optimization of an effective programme. *Transplant Int*. 2016;29(8):42-859. doi:10.1111/tri.12734.
- 17 Miranda-Utrera N, Medina-Polo J, Pamplona M, de la Rosa F, Rodríguez A, Duarte JM, et al. Donation after cardiac death: results of the SUMMA 112 – Hospital 12 de Octubre Program. *Clin Transplant*. 2013;27:283. doi:10.1111/ctr.12071.
- 18 Hoogland ER, van Smaalen TC, Christiaans MH, van Heurn LW. Kidneys from uncontrolled donors after cardiac death: which kidneys do worse? *Transpl Int*. 2013;26:477-484. doi:10.1111/tri.12067.
- 19 Hanf W, Cudas R, Meas-Yedid V, Berthiller J, Buron F, Chauvet C, et al. Kidney graft outcome and quality (after transplantation) from uncontrolled deceased donors after cardiac arrest. *Am J Transplant*. 2012;12:1541-1550. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03983.x.
- 20 Fondevila C, Hessheimer AJ, Flores E, Ruiz A, Mestres N, Calatayud D, et al. Applicability and results of Maastricht type 2 donation after cardiac death liver transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12:162-170. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03834.x.
- 21 Kron P, Schlegel A, de Rougemont O, Oberkofler CE, Clavien PA, Dutkowski P, et al. Short, cool, and well oxygenated – HOPE for kidney transplantation in a rodent model. *Ann Surg*. 2016;264(5):815-822. doi:10.1097/SLA.0000000000001766.
- 22 Gautier SV, Khomyakov SM. Donorstvo i transplantatsiya organov v Rossiyskoy Federatsii v 2020 godu. XIII soobshchenie registra Rossiyskogo transplantologicheskogo obshchestva. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2021;23(3):8-34. doi:10.15825/1995-1191-2021-3-8-34.
- 23 Shabunin AV, Parfenov IP, Minina MG, Drozdov PA, Nesterenko IV, Makeev DA, et al. Botkin Hospital Transplant Program: 100 solid organ transplantations. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2020;22(1):55-58. doi:10.15825/1995-1191-2020-1-55-58.
- 24 Urbanellis P, Mazilescu L, Kollmann D, Linares-Cervantes I, Kathis JM, Ganesh S, et al. Prolonged warm ischemia time leads to severe renal dysfunction of donation-after-cardiac death kidney grafts. *Sci Rep*. 2021;11(1):1-11. doi:10.1038/s41598-021-97078-w.
- 25 Eurotransplant Annual Report 2022. Available from: <https://www.eurotransplant.org/statistics/annual-report/>.
- 26 Moysyuk YaG, Poptsov VN, Sushkov AI, et al. Early liver allograft dysfunction: risk factors, clinical course and outcomes. *Transplantologiya*. 2016;(2):16-28.
- 27 Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl*. 2010;16(8):943-949. doi:10.1002/lt.22091.
- 28 Lee DD, Croome KP, Shalev JA, et al. Early allograft dysfunction after liver transplantation: an intermediate outcome measure for targeted improvements. *Ann Hepatol*. 2016;15(1):53-60. doi:10.5604/16652681.1184212.
- 29 Hartog H, Hann A, Perera MTPR. Primary Nonfunction of the Liver Allograft. *Transplantation*. 2022;106(1):117-128. doi:10.1097/TP.0000000000003682.
- 30 Fedoruk DA, Kirkovsky LV, Sadovsky DN, et al. Influence of hypothermic oxygenated machine perfusion on the degree of ischemic damage of ecd liver grafts. *Military medicine*. 2020;(2):68-75.
- 31 Czigany Z, Pratschke J, Froněk J, et al. Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion Reduces Early Allograft Injury and Improves Post-transplant Outcomes in Extended Criteria Donation Liver Transplantation From Donation After Brain Death: Results From a Multicenter Randomized Controlled Trial (HOPE ECD-DBD). *Ann Surg*. 2021;274(5):705-712. doi:10.1097/SLA.0000000000005110.
- 32 Mugaanyi J, Dai L, Lu C, et al. A Meta-Analysis and Systematic Review of Normothermic and Hypothermic Machine Perfusion in Liver Transplantation. *J Clin Med*. 2022;12(1):235. doi:10.3390/jcm12010235.
- 33 Shabunin AV, Minina MG, Drozdov PA, et al. Early experiments with hypothermic oxygenated machine perfusion of kidney grafts from extended criteria donors. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2022;24(1):143-150. doi:10.15825/1995-1191-2022-1-143-150.

- 34 Shabunin AV, Minina MG, Drozdov PA, et al. Asystole kidney donation using automated chest compression system and hypothermic oxygenated machine perfusion (first experience in the Russian Federation). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022;24(2):102-107. doi:10.15825/1995-1191-2022-2-102-107.
- 35 Shabunin AV, Minina MG, Drozdov PA, et al. Complex use of perfusion techniques in kidney transplantation from a donor with out-of-hospital cardiac arrest (clinical case). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2023;25(3):113-121. doi:10.15825/1995-1191-2023-3-113-121.
- 36 Guarrera JV, Henry SD, 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.
- 37 Dutkowski P, Schlegel A, de Oliveira M, et al. HOPE for human liver grafts obtained from donors after cardiac death. *J Hepatol*. 2014;60:765-772. doi:10.1016/j.jhep.2013.11.023.
- 38 Muller X, Schlegel A, Kron P, et al. Novel Real-time Prediction of Liver Graft Function During Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion Before Liver Transplantation. *Ann Surg*. 2019;270(5):783-790. doi:10.1097/sla.0000000000003513.
- 39 De Vries Y, Brüggewirth IMA, Karangwa SA, et al. Dual Versus Single Oxygenated Hypothermic Machine Perfusion of Porcine Livers: Impact on Hepatobiliary and Endothelial Cell Injury. *Transplant Direct*. 2021;7(9):e741. doi:10.1097/TXD.0000000000001184.
- 40 Brat A, de Vries KM, van Heurn EWE, Huurman VAL, de Jongh W, Leuvenink HGD, et al. Hypothermic Machine Perfusion as a National Standard Preservation Method for Deceased Donor Kidneys. *Transplantation*. 2022;106(5):1043-1050. doi:10.1097/TP.0000000000003845.
- 41 Peng P, Ding Z, He Y, Zhang J, Wang X, Yang Z. Hypothermic Machine Perfusion Versus Static Cold Storage in Deceased Donor Kidney Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Artif Organs*. 2019;43(5):478-489. doi:10.1111/aor.13364.
- 42 Simona MS, Alessandra V, Emanuela C, Elena T, Michela M, Fulvia G, et al. Evaluation of Oxidative Stress and Metabolic Profile in a Preclinical Kidney Transplantation Model According to Different Preservation Modalities. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):1029. doi:10.3390/ijms24021029.
- 43 Zulpaite R, Miknevičius P, Leber B, Strupas K, Stiegler P, Schemmer P. Ex-vivo Kidney Machine Perfusion: Therapeutic Potential. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:808719. doi:10.3389/fmed.2021.808719.
- 44 Lindell SL, Compagnon P, Mangino MJ, Southard JH. UW Solution for Hypothermic Machine Perfusion of Warm Ischemic Kidneys. *Transplantation*. 2005;79(10):1358-1361. doi:10.1097/01.TP.0000159143.45022.F6.
- 45 Elliott TR, Nicholson ML, Hosgood SA. Normothermic kidney perfusion: An overview of protocols and strategies. *Am J Transplant*. 2021;21(4):1382-1390. doi:10.1111/ajt.16307.
- 46 Campos Pamplona C, Moers C, Leuvenink HGD, van Leeuwen LL. Expanding the Horizons of Pre-Transplant Renal Vascular Assessment Using Ex Vivo Perfusion. *Curr Issues Mol Biol*. 2023;45(7):5437-5459. doi:10.3390/cimb45070345.
- 47 Abramowicz D, Oberbauer R, Heemann U, Viklicky O, Peruzzi L, Mariat C, Crespo M, Budde K, Oniscu GC. Recent advances in kidney transplantation: a viewpoint from the Descartes advisory board. *Nephrol Dial Transpl*. 2018;33(10):1699-1707.
- 48 Ceresa CDL, Nasralla D, Pollok JM, Friend PJ. Machine perfusion of the liver: applications in transplantation and beyond. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022;19(3):199-209.
- 49 Nasralla D, Coussios CC, Mergental H, Akhtar MZ, Butler AJ, Ceresa CDL, Chiocchia V, Dutton SJ, García-Valdecasas JC, Heaton N, Imber C, Jassem W, Jochmans I, Karani J, Knight SR, Kocabayoglu P, Malagò M, Mirza D, Morris PJ, Pallan A, Paul A, Pavel M, Perera MTPR, Pirenne J, Ravikumar R, Russell L, Upponi S, Watson CJE, Weissenbacher A, Ploeg RJ, Friend PJ. A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation. *Nature*. 2018;557(7703):50-56.
- 50 Excellence, NIOH. OrganOx Metra for liver transplant Medtech innovation briefing. September, 2011.
- 51 Obara H, Matsuno N, Shigeta T, Enosawa S, Hirano T, Mizunuma H. Rewarming machine perfusion system for liver transplantation. *J Med Devices*. 2013;7(4):1-7.
- 52 Riveros S, Marino C, Ochoa G, Morales E, Soto D, Alegría L, Zenteno MJ, Brañes A, Achurra P, Rebolledo RA. Implementation and design of customized ex vivo machine perfusion. Analysis of its first results. *Artif Organs*. 2022;46(2):210-218.
- 53 Eshmuminov D, Becker D, Bautista Borrego L, Hefti M, Schuler MJ, Hagedorn C, Muller X, Mueller M, Onder C, Graf R, Weber A, Dutkowski P, Rudolf von Rohr P, Clavien PA. An integrated perfusion machine preserves injured human livers for 1 week. *Nat Biotechnol*. 2020;38(2):189-198.
- 54 Van der Plaats A, Maathuis M, Hart N A t, Bellekom A A, Hofker H S, Houwen V D, Verkerke G J, Leuvenink H G D, Verdonck P, Ploeg R J, Rakhorst G. The Groningen hypothermic liver perfusion pump: functional evaluation of a new machine perfusion system. *Ann Biomed Eng*. 2006;34(12):1924-1934.
- 55 Campos-Delgado DU, Bonilla I, Rodriguez-Martinez M, Sanchez-Briones M, Ruiz-Hernandez E. Closed-loop control of renal perfusion pressure in physiological experiments. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2013;60(7):1776-1784.
- 56 Post ICJH, Dirkes MC, Heger M, Bezemer R, van 't Leven J, van Gulik TM. Optimal flow and pressure management in machine perfusion systems for organ preservation. *Ann Biomed Eng*. 2012;40(12):2698-2707.
- 57 Mazzantini L, Dimitri M, Staderini F, Cianchi F, Corvi A. Design and realization of a normothermic perfusion system for laboratory tests on pig liver. *The International Journal of Artificial Organs*. 2020;43(1):3-9. doi:10.1177/0391398819865744
- 58 Vogel T, Brockmann J, Peter J. Ex-vivo normothermic liver perfusion: an update. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15:167-172.
- 59 Tolboom H, Pouw R, Izamis M, et al. Recovery of warm ischemic rat liver grafts by normothermic extracorporeal perfusion. *Transplantation*. 2009;87:170-177.
- 60 Strasberg S, Howard T, Molmenti E, et al. Selecting the donor liver: risk factors for poor function after orthotopic liver transplantation. *Hepatology*. 1994;20:829-838.
- 61 Moers C, Leuvenink H, Ploeg R. Non-heart beating organ donation: overview and future perspectives. *Transp Int*. 2007;20:567-575.
- 62 Abt P, Crawford M, Desai N, et al. Liver transplantation from controlled non-heart-beating donors: an increased incidence of biliary complications. *Transplantation*. 2003;75:1659-1663.
- 63 Chan E, Olson L, Kisthard J, et al. Ischemic cholangiopathy following liver transplantation from donation after cardiac death donors. *Liver Transplant*. 2008;14:604-610.
- 64 Merion R, Pelletier S, Goodrich N, et al. Donation after cardiac death as a strategy to increase deceased donor liver availability. *Ann Surg*. 2006;244:555-560.
- 65 Reich D, Hong J. Current status of donation after cardiac death liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15:316-321.
- 66 Fukumori T, Kato T, Levi D, et al. Use of older controlled non-heart-beating donors for liver transplantation. *Transplantation*. 2003;75:1171-1174.
- 67 Brockmann J, Reddy S, Coussios C, et al. Normothermic perfusion: a new paradigm for organ preservation. *Ann Surg*. 2009;250:1-6.

- 68 Watson CJ, Kosmoliaptsis V, Randle LV, et al. Normothermic perfusion in the assessment and preservation of declined livers before transplantation: hyperoxia and vasoplegia—important lessons from the first 12 cases. *Orig Clin Sci*. 2017;101:1084-1098.
- 69 Ravikummar 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;16:1779-1787.
- 70 Boehnert M, Yeung J, Bazerbach F, et al. Normothermic acellular ex vivo liver perfusion reduces liver and bile duct injury of pig livers retrieved after cardiac death. *Am J Transplant*. 2013;13:1441-1449.
- 71 Wertheim JA, Petrowsky H, Saab S, Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW. Major challenges limiting liver transplantation in the United States. *Am J Transplant*. 2011;11(9):1773-1784.
- 72 Orma ES, Barritt S IV, Wheeler SB, Hayashi PH. Declining liver utilization for transplantation in the United States and the impact of donation after cardiac death. *Liver Transpl*. 2013;19(1):59-68.
- 73 Foley DP, Fernandez LA, Levenson G, et al. Donation after cardiac death: The University of Wisconsin experience with liver transplantation. *Ann Surg*. 2005;242(5):724-731.
- 74 Jay C, Ladner D, Wang E, et al. A comprehensive risk assessment of mortality following donation after cardiac death liver transplant—An analysis of the national registry. *J Hepatol*. 2011;55(4):808-813.
- 75 Guarrera JV, Henry SD, Samstein B, et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: The first clinical series. *Am J Transplant*. 2010;10(2):372-381.
- 76 Vogel T, Brockmann JG, Coussios CC, Friend PJ. The role of normothermic extracorporeal perfusion in minimizing ischemia reperfusion injury. *Transplant Rev*. 2012;26(3):156-162.
- 77 Dutkowski P, Schlegel A, de Oliveira M, Mühlhaupt B, Clavien PA. HOPE for human liver grafts obtained from donors after cardiac death. *J Hepatol*. 2013;58(4):765-772.
- 78 van der Plaats A, 't Hart NA, Verkerke GJ, Leuvenink HG, Ploeg RJ, Rakhorst G. Hypothermic machine preservation in liver transplantation revisited: Concepts and criteria in the new millennium. *Ann Biomed Eng*. 2004;32(5):623-631.
- 79 Jahr JS, Mackenzie C, Pearce LB, Pitman A, Greenburg AG. HBOC-201 as an alternative to blood transfusion: Efficacy and safety evaluation in a multicenter phase III trial in elective orthopedic surgery. *J Trauma*. 2008;64(6):1484-1497.
- 80 Jahr JS, Walker V, Manoochehri K. Blood substitutes as pharmacotherapies in clinical practice. *Curr Opin Anesthesiol*. 2007;20(3):325-330.
- 81 Schafer DF, Shaw BW Jr. Fulminant hepatic failure and orthotopic liver transplantation. *Semin Liver Dis*. 1989;9(3):189.
- 82 McGuire BM, Sielaff TD, Nyberg SL, et al. Review of support systems used in the management of fulminant hepatic failure. *Dig Dis*. 1995;13(6):379.
- 83 Hammer GB, So SK, Al-Uzri A, et al. Continuous venovenous hemofiltration with dialysis in combination with total hepatectomy and portocaval shunting. Bridge to liver transplantation. *Transplantation*. 1996;62(1):130.
- 84 Redeker AG, Yamahiro HS. Controlled trial of exchange-transfusion therapy in fulminant hepatitis. *Lancet*. 1973;1(7793):3.
- 85 Chen SC, Hewitt WR, Watanabe FD, et al. Clinical experience with a porcine hepatocyte-based liver support system. *Int J Artif Organs*. 1996;19(11):664.
- 86 Fox IJ, Langnas AN, Fristoe LW, et al. Successful application of extracorporeal liver perfusion: a technology whose time has come. *Am J Gastroenterol*. 1993;88(11):1876.
- 87 Eiseman B, Liem DS, Raffucci F. Heterologous liver perfusion in treatment of hepatic failure. *Ann Surg*. 1965;162(3):329.
- 88 Parbhoo SP, Chilstrey LJ, Adjukiewicz AB, et al. Extracorporeal perfusion of pig liver in the treatment of acute liver failure. *Br J Surg*. 1971;58(10):746P.
- 89 Whitson BA, Black SM. Organ Assessment and Repair Centers: The Future of Transplantation Is Near. *World J Transplant*. 2014;4(1):40-43.
- 90 van Beekum CJ, Vilz TO, Glowka TR, et al. Normothermic Machine Perfusion (NMP) of the Liver—Current Status and Future Perspectives. *Ann Transplant*. 2021;26:e931664-1-e931664-8.

Авторская справка

Яремин Борис Иванович

Канд. мед. наук, врач-хирург, научный сотрудник центра трансплантации печени, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; доцент кафедры трансплантологии и искусственных органов; заведующий кафедрой хирургических болезней, Московский медицинский университет «Реавиз».

ORCID 0000-0001-5889-8675

Вклад автора: руководство подготовкой обзора, подготовка текста.

Аносова Екатерина Юрьевна

Врач-клинический ординатор центра трансплантации печени, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0000-0002-0241-1298

Вклад автора: анализ данных литературы, подготовка текста работы.

Казымов Бахтияр Исметович

Врач-хирург, научный сотрудник центра трансплантации печени, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; ассистент кафедры хирургических болезней, Московский медицинского университета «Реавиз».

ORCID 0000-0001-5723-4818

Вклад автора: анализ данных литературы, подготовка текста работы.

Author's reference

Boris I. Yaremin

Cand. Sci. (Med.), Surgeon, Researcher at the Liver Transplantation Center, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine; Associate Professor of the Department of Transplantology and Artificial Organs; Head of the Department of Surgical Diseases, Moscow Medical University "Reaviz".

ORCID 0000-0001-5889-8675

Author's contribution: guidance in the preparation of the review, preparation of the text.

Ekaterina Yu. Anosova

Clinical resident of the liver transplantation Center, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine.

ORCID 0000-0002-0241-1298

Author's contribution: analysis of literature data, preparation of the text of the work.

Bakhtiyar I. Kazymov

Surgeon, researcher at the Liver Transplantation Center, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine; Assistant of the Department of Surgical Diseases, Moscow Medical University "Reaviz".

ORCID 0000-0001-5723-4818

Author's contribution: analysis of literature data, preparation of the text of the work.

Алекберов Кямран Файгович

Врач-хирург, научный сотрудник центра трансплантации печени, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0000-0002-2264-7038

Вклад автора: анализ данных литературы, подготовка текста работы.

Новрузбеков Мурад Сафтарович

Д-р мед. наук, профессор, научный руководитель центра трансплантации печени; заведующий кафедрой трансплантологии и искусственных органов, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; профессор кафедры хирургических болезней, Московский медицинский университет «Реавиз».

ORCID 0000-0002-6362-7914

Вклад автора: руководство подготовкой обзора, подготовка текста.

Виктория Алексеевна Зуйкова

Студентка 6-го курса лечебного факультета, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

ORCID 0009-0000-6068-1280

Вклад автора: анализ данных литературы.

Фатимат Руслановна Гюльмагомедов

Студентка 6-го курса лечебного факультета Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский университет).

ORCID 0000-0002-3439-7160

Вклад автора: анализ данных литературы.

Kyamran F. Alekberov

Surgeon, researcher at the Liver Transplantation Center, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine.

ORCID 0000-0002-2264-7038

Author's contribution: analysis of literature data, preparation of the text of the work.

Murad S. Novruzbekov

Dr. Sci. (Med.), Professor, Scientific Director of the Liver Transplantation Center; Head of the Department of Transplantology and Artificial Organs, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine; Professor of the Department of Surgical Diseases, Moscow Medical University "Reaviz".

ORCID 0000-0002-6362-7914

Author's contribution: guidance in the preparation of the review, preparation of the text.

Victoriya A. Zuykova

6th year student of the medical faculty, Pirogov Russian National Research Medical University.

ORCID 0009-0000-6068-1280

Author's contribution: analysis of literature data.

Fatimat Ruslanovna Gylmagomedov

6th year student of the medical faculty of the N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University).

ORCID 0000-0002-3439-7160

Author's contribution: analysis of literature data.