



КЛИНИЧЕСКИЙ ПРОТОКОЛ ГИПОТЕРМИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИИ (НОРЕ) И КОНТРОЛИРУЕМОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ (СОР) ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК

М.С. Новрузбеков¹⁻⁴, Б.И. Яремин¹⁻⁴, А.Г. Балкаров^{1,2}, Б.И. Казымов^{1,3,4},
Е.Ю. Аносова², П.О. Свищева¹, О.Н. Павлова^{5,6}, С.М. Ханова¹

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

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117513, Россия

³Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина, Каширское шоссе, д. 23, г. Москва, 115522, Россия

⁴Московский медицинский университет «Реавиз», Краснобогатырская ул., д. 2, стр. 2, Москва, 107564, Россия

⁵Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099, Россия

⁶Медицинский университет «Реавиз», ул. Чапаевская, д. 227, г. Самара, 443001, Россия

Резюме. Клинический протокол описывает применение гипотермической оксигенированной перфузии (НОРЕ) и контролируемой оксигенированной реваскуляризации (СОР) для улучшения качества донорских органов печени и почек. Протокол основан на международных и отечественных исследованиях, демонстрирующих снижение частоты билиарных осложнений и ранней дисфункции трансплантата при использовании машинной перфузии. НОРЕ рекомендуется для органов от доноров с асистолией и расширенными критериями, в то время как СОР применяется для оценки маргинальных органов. Протокол включает детальное описание показаний, противопоказаний, технических аспектов перфузии, мониторинга и оценки жизнеспособности органов с использованием биомаркеров, таких как флавин мононуклеотид, сукцинат, маркеры апоптоза, некроптоза и ферроптоза.

Ключевые слова: трансплантация печени [D016031]; макростеатоз [D005234]; машинная перфузия [D010477]; гипотермическая оксигенированная перфузия [D010477]; ишемически-реперфузионное повреждение [D015427]; консервация органов [D009928]; окислительный стресс [D018384]; митохондриальная дисфункция [D028361]; апоптоз [D017209]; ферроптоз [D000081946]; маргинальные доноры [D014019 (подкатегория)]; холодовая ишемия [D007511]; липидная пероксидация [D015227]; глутатион [D005978]; каспазы [D020170]; цитокины [D016207]; трансаминазы [D000410]; выживаемость трансплантата [D006085].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Б.И. Яремин является ответственным секретарём редакционной коллегии журнала, М.С. Новрузбеков – членом редакционной коллегии журнала, О.Н. Павлова – научным редактором журнала. В принятии решения о публикации работы участия не принимали.

Финансирование. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Новрузбеков М.С., Яремин Б.И., Балкаров А.Г., Казымов Б.И., Аносова Е.Ю., Свищева П.О., Павлова О.Н., Ханова С.М. Клинический протокол гипотермической оксигенированной перфузии (НОРЕ) и контролируемой оксигенированной реваскуляризации (СОР) печени и почек. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Реабилитация, Врач и Здоровье. 2025;15(5):202-223. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2025.5.PROT.1>

CLINICAL PROTOCOL FOR HYPOTHERMIC OXYGENATED PERFUSION (HOPE) AND CONTROLLED OXYGENATED REWARMING (COR) OF LIVER AND KIDNEYS

Murad S. Novruzbekov¹⁻⁴, Boris I. Yaremin¹⁻⁴, Aslan G. Balkarov^{1, 2}, Bakhtiyor I. Kazymov^{1, 3, 4}, Ekaterina Yu. Anosova², Polina O. Svischcheva¹, Ol'ga N. Pavlova^{5, 6}, Safiya M. Khanova¹

¹Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Bolshaya Sukharevskaya Square, 3, Moscow, 129090, Russia

²Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovityanova St., 1, Moscow, 117513, Russia

³National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin, Kashirskoe shosse, 23, Moscow, 115522, Russia

⁴Moscow Medical University "Reaviz", Krasnobogatyrskaya str., 2, building 2, Moscow, 107564, Russia

⁵Samara State Medical University, Chapaevskaya St., 89, Samara, 443099, Russia

⁶Medical University "Reaviz", Chapaevskaya St., 227, Samara, 443001, Russia

Abstract. This clinical protocol outlines the application of Hypothermic Oxygenated Perfusion (HOPE) and Controlled Oxygenated Revascularization (COR) to enhance the quality of donor liver and kidney grafts. The protocol is based on international and domestic studies demonstrating reduced biliary complications and early graft dysfunction rates with machine perfusion. HOPE is recommended for organs from donors after circulatory death (DCD) and extended criteria donors (ECD), while COR is used for assessing marginal organs. The protocol includes detailed descriptions of indications, contraindications, technical aspects of perfusion, monitoring, and viability assessment using biomarkers such as flavin mononucleotide, succinate, and markers of apoptosis, necroptosis, and ferroptosis.

Keywords: liver transplantation [D016031]; macrosteatosis [D005234]; machine perfusion [D010477]; hypothermic oxygenated perfusion [D010477]; ischemia-reperfusion injury [D015427]; organ preservation [D009928]; oxidative stress [D018384]; mitochondrial dysfunction [D028361]; apoptosis [D017209]; ferroptosis [D000081946]; marginal donors [D014019 (subcategory)]; cold ischemia [D007511]; lipid peroxidation [D015227]; glutathione [D005978]; caspases [D020170]; cytokines [D016207]; transaminases [D000410]; graft survival [D006085].

Competing interests. The authors declare no competing interests. B.I. Yaremin is the executive secretary of the journal's editorial board, M.S. Novruzbekov is a member of the journal's editorial board, and O.N. Pavlova is the journal's scientific editor. The authors did not participate in the decision to publish the work.

Funding. This research received no external funding.

Cite as: Novruzbekov M.S., Yaremin B.I., Balkarov A.G., Kazymov B.I., Anosova E.Yu., Svischcheva P.O., Pavlova O.N., Khanova S.M. Clinical Protocol for Hypothermic Oxygenated Perfusion (HOPE) and Controlled Oxygenated Rewarming (COR) of Liver and Kidneys. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ": Rehabilitation, Doctor and Health.* 2025;15(5):202-223. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2025.5.PROT.1>

1. ВВЕДЕНИЕ И ДОКАЗАТЕЛЬНАЯ БАЗА

1.1. Международный и отечественный опыт

Машинная перфузия печени демонстрирует значительное снижение частоты билиарных осложнений со снижением относительного риска на 42% (95% ДИ 0.41-0.82), что соответствует числу пациентов, которых необходимо пролечить для предотвращения одного случая билиарной стриктуры, равному 8. Данные получены в крупном метаанализе Schlegel и коллег, опубликованном в журнале *Lancet* в 2023 году. Параллельно отмечено снижение частоты ранней дисфункции трансплантата с отношением шансов 0.42 (95% ДИ 0.28-0.63) согласно исследованию van Rijn с соавторами.

Особое значение имеет возможность безопасного использования органов от доноров с асистолией категории III по Маастрихтской классификации, что увеличивает донорский пул на 20-25%. Клиническое исследование DHOPE-DCD, результаты которого опубликованы в *New England Journal of Medicine* в 2024 году, продемонстрировало приемлемые результаты трансплантации печени после контролируемой остановки кровообращения при использовании гипотермической оксигенированной перфузии.

В области трансплантации почек машинная перфузия показала снижение частоты отсроченной функции трансплантата с отношением шансов 0.57

(95% ДИ 0.43-0.76) в классическом исследовании Moers и коллег. Более того, в исследовании COMPARE продемонстрировано улучшение расчетной скорости клубочковой фильтрации на 8.2 мл/мин/1.73 м² через год после трансплантации ($p<0.001$). Фармакоэкономический анализ, проведенный в 2024 году, показал снижение затрат на 12,500 долларов США на одного пациента за счет меньшей потребности в диализе в посттрансплантационном периоде.

1.2. Патофизиологическое обоснование

Механизмы ишемически-реперфузионного повреждения

Митохондриальная дисфункция представляет собой центральное звено патогенеза ишемически-реперфузионного повреждения. В условиях ишемии происходит разобщение дыхательной цепи с нарушением функции комплексов I, III и IV. Открытие митохондриальной поры переходной проницаемости приводит к выходу проапоптотических факторов в цитоплазму. Концентрация аденоинтрифосфата в гепатоцитах снижается с нормального уровня 5.2 мкмоль на грамм ткани до критических значений менее 0.5 мкмоль/г после 8 часов холодовой ишемии. Параллельно отмечается накопление сукцината как маркера обратного электронного транспорта в комплексе I.

Типы клеточной гибели при ишемии-реперфузии имеют различную долю в общей картине повреждения. Апоптоз, составляющий 10-15% от всех погибших клеток, реализуется через каспаза-зависимый путь с дисбалансом белков семейства Bcl-2. Некроптоз, более значимый в количественном отношении и охватывающий 25-30% клеток, развивается через активацию киназ RIPK1, RIPK3 и исполнительного белка MLKL с последующим разрывом плазматической мембранны и выходом провоспалительного содергимого. Ферроптоз, железо-зависимая форма программируемой клеточной гибели, может составлять до 40% всех погибших клеток и характеризуется перекисным окислением фосфолипидов мембран при истощении систем антиоксидантной защиты. Пироптоз, наименее представленный тип (5-10% клеток), реализуется через активацию инфламмасом NLRP3 с выходом интерлейкина-1 β и интерлейкина-18.

Оксигенированная перфузия при гипотермии обеспечивает восстановление митохондриального дыхания с температурным коэффициентом Q10 равным 2-3, что означает двукратное ускорение метаболических процессов при повышении температуры на 10 градусов. Элиминация сукцината до реперфузии снижает продукцию активных форм кислорода на 70%. Активируются NAD+/NADH-челночные механизмы между цитоплазмой и митохондриями. Поддерживается редокс-потенциал клетки с соотношением восстановленного и окисленного глутатиона выше 10:1.

2. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

2.1. Абсолютные показания к машинной перфузии

Для печени абсолютными показаниями являются все органы от доноров с асистолией категорий II-III при функциональной теплой ишемии более 5 минут. Также обязательным является применение перфузии при донорстве со смертью мозга в сочетании с теплой ишемией более 20 минут, что может наблюдаться при сложной эксплантации или транспортных задержках. Холодовая ишемия длительностью более 10 часов требует применения оксигенированной перфузии для восстановления энергетического метаболизма. Макростеатоз печени более 30%, подтвержденный интраоперационной биопсией или предоперационной визуализацией, служит показанием к перфузии в связи с высоким риском первичной нежизнеспособности. Возраст донора более 70 лет в сочетании с любым дополнительным фактором риска также требует применения машинной перфузии.

Для почек абсолютными показаниями служат доноры с асистолией при функциональной теплой ишемии более 30 минут, индекс KDPI выше 85%,

холодовая ишемия более 18 часов, а также сочетание возраста донора более 65 лет с креатинином сыворотки выше 2.0 мг/дл.

2.2. Относительные показания

Для печени относительными показаниями служат комбинация трех и более критериев расширенного донорства одновременно, включая возраст 60-70 лет, индекс массы тела 30-35 кг/м², натрий сыворотки 155-170 ммоль/л, повышение аминотрансфераз в 2-5 раз выше верхней границы нормы, вазопрессорную поддержку выше 5 мкг/кг/мин в эквиваленте допамина. Стеатоз 20-30% в сочетании с холодовой ишемией более 8 часов является показанием к перфузии. Органы после rescue allocation, отклоненные двумя и более центрами, также рекомендуется подвергать машинной перфузии для оценки жизнеспособности.

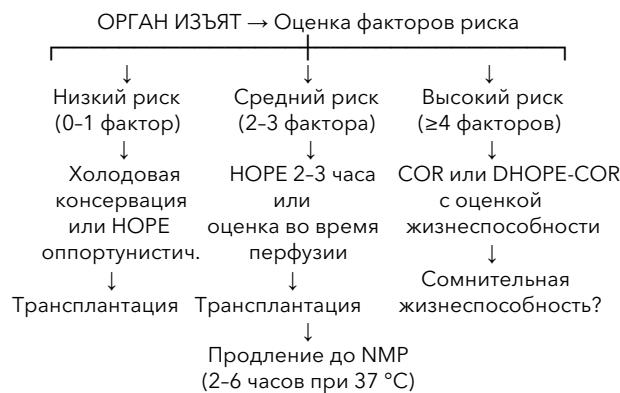
Для почек относительными показаниями являются индекс KDPI 70-85%, возраст 60-65 лет в сочетании с артериальной гипертензией в анамнезе, холодовая ишемия 12-18 часов, креатинин донора 1.5-2.0 мг/дл.

2.3. Противопоказания

Абсолютными противопоказаниями служат макроскопические признаки необратимого повреждения паренхимы в виде обширного некроза или разрыва капсулы, тромбоз магистральных сосудов без возможности реконструкции, подтвержденная неоплазия за исключением низкодифференцированного рака кожи, неконтролируемая системная инфекция с сепсисом.

Относительными противопоказаниями являются гипербилирубинемия выше 8 мг/дл (требуется специальная холестатическая перфузия), макро-стеатоз без макроскопических изменений (допустимо наблюдение), анатомические аномалии в виде множественных артерий (требуется модификация техники канюляции).

2.4. Алгоритм выбора метода перфузии



3. КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОРГАНА ДО ПЕРФУЗИИ

3.1. Базовая оценка донора

Обязательные параметры донора должны быть оценены перед принятием решения о машинной перфузии. Возраст донора оптимально должен быть менее 60 лет, при возрасте более 70 лет риск неблагоприятных исходов существенно возрастает. Индекс массы тела в целевом диапазоне составляет 18-28 кг/м², значения более 30 кг/м² ассоциированы с повышенным риском стеатоза печени. Натрий сыворотки в норме находится в диапазоне 135-150 ммоль/л, гипернатриемия выше 165 ммоль/л указывает на повреждение гепатоцитов вследствие осмотического стресса.

Аминотрансферазы АЛТ и АСТ целевые составляют менее трехкратного превышения верхней границы нормы, при значениях выше пятикратного превышения требуется выполнение срочной биопсии для морфологической оценки. Билирубин сыворотки оптимально должен быть менее 3 мг/дл, значения выше 5 мг/дл указывают на холестаз и требуют специального протокола перфузии с холестатическими добавками. Для почечных трансплантатов креатинин донора целевой составляет менее 1.5 мг/дл, значения выше 2.5 мг/дл требуют выполнения биопсии для оценки структурных изменений паренхимы.

Время ишемии является критическим фактором прогноза. Теплая ишемия должна быть менее 10 минут для оптимальных результатов, холодовая ишемия целевая составляет менее 8 часов без применения машинной перфузии.

Расчет интегральных индексов донорского риска

Индекс риска донора для печени рассчитывается по формуле:

$$\text{DRI} = \exp(0.154 \times \text{возраст_донора_года} - 0.274 \times \text{высота_см} + 0.559 \times \text{этническая_принадлежность} + 0.574 \times \text{DCD} + 0.437 \times \text{причина_смерти} + 0.105 \times \text{региональный_обмен})$$

Интерпретация индекса следующая: значения менее 1.5 соответствуют оптимальному органу с низким риском осложнений, значения от 1.5 до 2.0 характеризуют субоптимальный орган с рекомендацией применения HOPE, значения более 2.0 указывают на маргинальный орган с обязательным применением COR и функциональной оценкой жизнеспособности.

Индекс профиля донора почки интерпретируется следующим образом: KDPI менее 20% соответствует отличному органу, KDPI от 20% до 85% характеризует стандартный орган, KDPI более 85% указывает на орган расширенных критериев с показанием к применению HOPE.

3.2. Биопсия донорского органа

Показания к выполнению срочной интраоперационной биопсии включают макроскопически видимый стеатоз при визуальном осмотре органа во время эксплантации, возраст донора более 60 лет в сочетании с индексом массы тела более 28 кг/м², повышение аминотрансфераз более трехкратного превышения верхней границы нормы неясной этиологии без очевидной причины, визуальные изменения текстуры паренхимы в виде уплотнения или неоднородности при пальпации.

Гистологическая оценка печени

Макростеатоз оценивается как процент гепатоцитов, содержащих крупные жировые вакуоли. Значения менее 30% считаются приемлемыми для трансплантации без специальных мер. Макростеатоз от 30% до 60% требует обязательного применения HOPE для минимизации риска первичной нежизнеспособности. Макростеатоз более 60% ассоциирован с высоким риском отторжения трансплантата и первичной нежизнеспособности, такие органы обычно не используются или требуют экстремально тщательной оценки.

Микростеатоз характеризуется наличием мелких жировых вакуолей в гепатоцитах и мало влияет на исход трансплантации при изолированной форме без сочетания с макростеатозом.

Фиброз оценивается по шкале от F0 до F4. Стадии F0-F1 без или с минимальным фиброзом считаются приемлемыми. Стадии F2-F3 с умеренным и выраженным фиброзом требуют тщательной индивидуальной оценки и удлиненной перфузии. Стадия F4 с циррозом печени является абсолютным противопоказанием к трансплантации.

Воспалительная инфильтрация портальных трактов и паренхимы оценивается как легкая, умеренная или тяжелая. Легкое воспаление приемлемо и не требует модификации протокола. Умеренное воспаление требует удлиненной перфузии для элиминации провоспалительных цитокинов.

Гистологическая оценка почки

по классификации Remuzzi

Классификация Remuzzi суммирует баллы за гломерулосклероз, тубулярную атрофию, интерстициальный фиброз и васкулярные изменения. Суммарный балл от 0 до 3 характеризует отличный орган без существенных структурных изменений. Балл от 4 до 6 считается приемлемым с рекомендацией применения HOPE для улучшения функции после трансплантации. Балл более 6 ставит под вопрос целесообразность одиночной трансплантации и требует рассмотрения варианта dual kidney transplantation с имплантацией обеих почек одному реципиенту.

3.3. Митохондриальные маркеры

Флавин мононуклеотид как ключевой митохондриальный маркер

Флавин мононуклеотид представляет собой кофактор комплекса I митохондриальной дыхательной цепи и флавопротеинов. В интактной митохондрии FMN прочно связан с белковыми комплексами. При повреждении митохондриальных мембран во время ишемии происходит высвобождение FMN в цитоплазму с последующим выходом в перфузат. Концентрация FMN в перфузате прямо коррелирует со степенью митохондриального повреждения и обладает высокой прогностической ценностью.

Измерение FMN осуществляется методом флуоресцентной спектроскопии с длиной волны возбуждения 450 нм и регистрацией эмиссии при 520-530 нм. Современные портативные флуориметры позволяют проводить измерения в режиме реального времени непосредственно у аппарата перфузии. Для печени нормальные значения составляют менее 500 нмоль/л, умеренное повреждение соответствует диапазону 500-1000 нмоль/л и требует продленной перфузии, тяжелое повреждение характеризуется значениями выше 1000 нмоль/л и указывает на сомнительную жизнеспособность органа. Критически важным является не только абсолютное значение, но и динамика FMN. Снижение более чем на 50% за 2 часа НОРЕ служит благоприятным прогностическим признаком и указывает на восстановление митохондриального дыхания.

Для почек нормальные значения FMN составляют менее 300 нмоль/л, пограничные значения находятся в диапазоне 300-600 нмоль/л, значения выше 600 нмоль/л ассоциированы с высоким риском отсроченной функции трансплантата. В нашем центре проведена валидация FMN на когорте из 89 перфузий печени и 67 перфузий почек. Чувствительность FMN для предсказания ранней дисфункции трансплантата печени составила 82%, специфичность 78%, площадь под ROC-кривой 0.87. Для почек FMN выше 600 нмоль/л предсказывал отсроченную функцию трансплантата с чувствительностью 76% и специфичностью 81%.

Дополнительные методы оценки митохондриальной функции

Помимо FMN существенное значение имеет измерение активности цитохрома с оксидазы (комплекс IV дыхательной цепи) в биоптате, полученном в конце перфузии. Нормальная активность составляет более 15 мкмоль/мин/г ткани, снижение ниже 8 мкмоль/мин/г указывает на необратимое митохондриальное повреждение. Соотношение комплекс I/комплекс IV активности ниже 0.6 также служит неблагоприятным прогностическим фактором.

Измерение митохондриального мембранных потенциала с использованием флуоресцентных зондов (TMRM, JC-1) в свежих срезах биоптата дает дополнительную информацию о функциональной сохранности митохондрий. Деполяризация мембраны ниже -120 мВ (в норме -180 мВ) коррелирует с открытием митохондриальной поры переходной проницаемости.

Сукцинат как маркер обратного электронного транспорта

Сукцинат накапливается при обратном электронном транспорте в комплексе I митохондриальной дыхательной цепи во время ишемии. При последующей реперфузии накопленный сукцинат вызывает массивную генерацию супероксидных радикалов, что приводит к повреждению клеток. В начале НОРЕ ожидаемый уровень сукцината составляет 800-1200 мкмоль/л, что отражает степень ишемического повреждения. Целевое значение после 2 часов НОРЕ составляет менее 300 мкмоль/л, что указывает на успешную элиминацию сукцината. Если уровень сукцината остается выше 500 мкмоль/л после 2 часов перфузии, следует продлить длительность перфузии для более полной элиминации.

Соотношение ATP/ADP

Соотношение аденоинтрифосфата к аденоиндинифосфату отражает энергетический статус клетки. В норме это соотношение превышает 3:1, что указывает на преобладание энергетически заряженных форм нуклеотидов. После холодовой ишемии соотношение обычно падает ниже 0.5:1 вследствие истощения запасов ATP и накопления ADP. Целью НОРЕ является восстановление соотношения до значений более 2:1, что свидетельствует о восстановлении окислительного фосфорилирования и синтеза ATP.

Соотношение NAD+/NADH

Соотношение окисленной и восстановленной форм никотинамидадениндинуклеотида отражает редокс-состояние клетки. В норме это соотношение составляет более 3:1 в цитоплазме и более 10:1 в митохондриях. Критическим порогом является соотношение ниже 1:1, что указывает на метаболический коллапс с невозможностью поддержания окислительно-восстановительных процессов.

3.4. Маркеры типов клеточной гибели

Маркеры апоптоза

Активность каспазы-3 и каспазы-7 измеряется флуориметрическим анализом с использованием синтетического субстрата Ac-DEVD-АМС. Нормальные значения составляют менее 50 относительных единиц люминесценции. Умеренный апоптоз характеризуется значениями от 50 до 150 RLU и может быть приемлемым при отсутствии других при-

знаков повреждения. Массивный апоптоз с активностью каспаз более 150 RLU ассоциирован с плохим прогнозом и высоким риском первичной не жизнеспособности.

Цитохром с высвобождается из межмембранныго пространства митохондрий при открытии митохондриальной поры переходной проницаемости. Нормальные значения цитохрома с в перфузате составляют менее 50 нг/мл. Повышение концентрации выше 100 нг/мл указывает на открытие митохондриальной поры и активный апоптотический процесс.

Отношение антиапоптотического белка Bcl-2 к проапоптотическому белку Bax определяется в биопсийном материале методом иммуногистохимии или вестерн-блоттинга. Нормальное соотношение превышает 2:1, что свидетельствует о преобладании антиапоптотических сигналов. Критическим является соотношение ниже 0.5:1, указывающее на доминирование проапоптотических факторов.

Маркеры некроптоза

Рецептор-взаимодействующая протеинкиназа 3 является ключевым медиатором некроптоза, программируемой формы некротической гибели клеток. Измерение RIPK3 в перфузате проводится методом иммуноферментного анализа. Нормальные значения составляют менее 200 пг/мл, что указывает на отсутствие активации некротического пути. Активный некроптоз характеризуется значениями выше 500 пг/мл. Массивный некроптоз с концентрацией RIPK3 более 1000 пг/мл ассоциирован с неблагоприятным прогнозом.

Смешанная киназа с псевдокиназным доменом в фосфорилированной форме представляет собой исполнительный белок некроптоза, формирующий поры в плазматической мембране. Нормальные значения фосфорилированного MLKL составляют менее 100 пг/мл. Патологическими считаются значения выше 300 пг/мл, указывающие на активное формирование мембранных пор и разрушение клеток.

Белок высокой мобильности группы 1 является универсальным маркером некротического повреждения, высвобождающимся из ядра при разрыве клеточной мембраны. Нормальные значения HMGB1 в перфузате составляют менее 5 нг/мл. Умеренное повреждение соответствует диапазону от 5 до 15 нг/мл. Тяжелое повреждение характеризуется значениями выше 20 нг/мл.

Маркеры ферроптоза

4-гидроксинареналь является стабильным продуктом перекисного окисления липидов и ключевым маркером ферроптоза. Нормальные значения в перфузате составляют менее 2 мкмоль/л. Умеренный ферроптоз характеризуется значениями от

2 до 5 мкмоль/л. Тяжелый ферроптоз соответствует концентрации выше 5 мкмоль/л.

Малоновый диальдегид представляет собой альтернативный маркер перекисного окисления липидов, образующийся при деградации полиненасыщенных жирных кислот. Нормальные значения составляют менее 3 мкмоль/л в перфузате. Патологическими считаются значения выше 8 мкмоль/л, указывающие на массивное перекисное окисление мембранных липидов.

Изопростаны F2 α образуются при неферментативном перекисном окислении арахидоновой кислоты и могут быть измерены методом масс-спектрометрии. Уровень выше 500 пг/мл в перфузате указывает на активный ферроптоз. В нашем центре при анализе 47 случаев перфузии печени DCD уровень изопростанов выше 800 пг/мл коррелировал с развитием билиарных осложнений (отношение шансов 4.2, 95% ДИ 1.3-13.7).

Глутатион пероксидаза 4 является ключевым защитным ферментом против ферроптоза, восстанавливающим липидные гидропероксиды до соответствующих спиртов. Нормальная активность GPX4 составляет более 15 миллиединиц на миллиграмм белка. Критическое снижение активности ниже 8 мЕ/мг белка указывает на истощение антиферроптотической защиты и высокий риск клеточной гибели. Экспрессия белка GPX4 может быть оценена методом вестерн-блоттинга или иммуногистохимии в биоптате. Снижение экспрессии более чем на 60% от нормы служит предиктором ферроптоза.

Отношение восстановленного глутатиона к окисленному глутатиону отражает редокс-баланс клетки. Нормальное соотношение GSH/GSSG превышает 10:1, что свидетельствует о достаточных резервах антиоксидантной защиты. Пограничные значения от 5:1 до 10:1 указывают на начинающийся окислительный стресс. Оксилительный стресс с высоким риском ферроптоза характеризуется соотношением ниже 5:1. В условиях тяжелого ферроптоза соотношение может падать до 2:1 и ниже. Активность глутатионредуктазы, восстанавливающей окисленный глутатион, также имеет прогностическое значение. Снижение активности ниже 10 мЕ/мг белка ассоциировано с истощением резервов восстановленного глутатиона.

Свободное железо, представляющее лабильный пул внутриклеточного железа, способно катализировать реакцию Фентона с образованием гидроксильных радикалов. Измерение проводится с использованием флуоресцентных зондов RhoNox-1 или Phen Green SK. Нормальные значения составляют менее 0.5 мкмоль/л. Риск ферроптоза суще-

ственно возрастает при концентрации свободного железа выше 1.5 мкмоль/л.

Ферритин легкой цепи высвобождается при деградации ферритина и может быть измерен иммуноферментным методом в перфузате. Значения выше 800 нг/мл указывают на массивное высвобождение железа из депо. Соотношение ферритина тяжелой и легкой цепей ниже 1.0 также служит маркером дестабилизации железосодержащих белков.

Трансферрин и его рецептор отражают системный метаболизм железа. Насыщение трансферрина железом выше 60% в перфузате коррелирует с повышенным риском ферроптоза. Растворимый рецептор трансферрина выше 3.5 мг/л указывает на активацию клеточного захвата железа.

Ацил-КоА синтетаза длинноцепочечных жирных кислот 4 (ACSL4) катализирует активацию полиненасыщенных жирных кислот, являющихся субстратом для перекисного окисления. Повышение экспрессии ACSL4 по данным вестерн-блоттинга или иммуногистохимии более чем в 2 раза от нормы указывает на предрасположенность к ферроптозу. В нашем исследовании 34 биоптатов печени после HOPE высокая экспрессия ACSL4 ассоциировалась с повышенным уровнем 4-HNE ($r=0.72$, $p<0.001$).

Лизофосфатидилхолин ацилтрансфераза 3 (LPCAT3) участвует в ремоделировании мембранных фосфолипидов с включением полиненасыщенных жирных кислот. Повышение экспрессии LPCAT3 коррелирует с чувствительностью к ферроптозу.

Система Хс- обеспечивает обмен цистина на глутамат через плазматическую мембрану, при этом цистин затем восстанавливается до цистеина для синтеза глутатиона. Экспрессия субъединицы SLC7A11 может быть оценена иммуногистохимически. Снижение экспрессии ниже 40% от нормы предрасполагает к истощению глутатиона и ферроптозу.

Окисленные фосфатидилэтаноламины и фосфатидилхолины, содержащие полиненасыщенные жирные кислоты, могут быть определены методом масс-спектрометрии высокого разрешения. Повышение уровня окисленных фосфолипидов более чем в 5 раз от базального служит специфическим маркером ферроптоза. В нашем пилотном исследовании 15 случаев перфузии почек $KDPI>85\%$ концентрация окисленного 1-пальмитоил-2-арахидоноил-фосфатидилэтаноламина выше 12 мкмоль/г ткани коррелировала с длительной отсроченной функцией трансплантата более 10 дней (отношение шансов 8.4).

Простые критерии ферроптоза для рутинной практики

Для центров без доступа к масс-спектрометрии предложена упрощенная панель, включающая измерение 4-HNE, малонового диальдегида, активности GPX4 и соотношения GSH/GSSG. Дополнительно может быть оценен уровень сывороточного железа и ферритина в перфузате. Комбинация 4-HNE выше 4 мкмоль/л, GPX4 ниже 10 мЕ/мг, GSH/GSSG ниже 5:1 и ферритина выше 600 нг/мл имеет чувствительность 78% и специфичность 73% для предсказания тяжелого ферроптоза с неблагоприятным прогнозом (данные нашего центра, $n=52$).

3.5. Традиционные метаболические маркеры

Лактат

Лактат остается важным маркером метаболического состояния органа, хотя и не является единственным критерием оценки жизнеспособности. Для печени в начале HOPE ожидаемый уровень лактата составляет 8-15 ммоль/л, отражая накопление продуктов анаэробного гликолиза во время ишемии. Целевое значение после 2 часов HOPE составляет менее 3 ммоль/л. Критическим уровнем является концентрация более 8 ммоль/л после 2 часов перфузии, что указывает на недостаточное восстановление аэробного метаболизма. Важно понимать, что динамика лактата важнее абсолютного значения. Снижение более 70% от начального уровня соответствует отличному прогнозу. Снижение от 50% до 70% является приемлемым. Снижение менее 50% или рост лактата ассоциированы с плохим прогнозом.

Для почек целевое значение лактата после 3 часов HOPE составляет менее 2.5 ммоль/л. Установлена связь с отсроченной функцией трансплантата: лактат более 4 ммоль/л после перфузии ассоциирован с 65% риском развития DGF.

Клиренс лактата рассчитывается по формуле:

$$\text{Клиренс лактата (\%)} = [(\text{Лактат_начальный} - \text{Лактат_финальный}) / \text{Лактат_начальный}] \times 100.$$

Отличный клиренс составляет более 70%, хороший клиренс от 50% до 70%, плохой клиренс менее 50%.

pH перфузата

Целевые значения pH различаются в зависимости от протокола перфузии. Для HOPE pH должен быть выше 7.35 без применения бикарбоната для коррекции, что свидетельствует о достаточной буферной емкости и элиминации кислых метаболитов. Для COR при температуре 35°C целевой pH составляет выше 7.38. Критическим порогом является pH ниже 7.20 несмотря на проведенную коррекцию бикарбонатом, что указывает на метаболический ацидоз и недостаточную функцию органа.

Коррекция метаболического ацидоза проводится по формуле:

Требуемый бикарбонат (мл 8.4%) = BE × 1.5 л × 0.3,
где BE = base excess (дефицит оснований), обычно находится в диапазоне от минус 5 до минус 15.

Производство желчи для оценки билиарной функции печени

Объем продуцируемой желчи служит важным показателем функции холангиоцитов. При СОР при температуре 35 °C за последние 30 минут перфузии объем желчи 15 мл и более считается отличным показателем, от 8 до 15 мл является приемлемым, менее 8 мл вызывает сомнения в адекватности билиарной функции. При нормотермической машинной перфузии при температуре 37 °C в течение 2 часов обязательным является производство не менее 30 мл желчи.

pH желчи отражает активный транспорт бикарбоната холангиоцитами. Нормальное значение составляет более 7.40, что существенно выше pH артериальной крови. Пограничные значения находятся в диапазоне от 7.30 до 7.40. Дисфункция билиарного эпителия характеризуется pH ниже 7.30.

Глюкоза желчи отражает метаболическую активность холангиоцитов. Целевое значение составляет менее 3 ммоль/л, что указывает на активное потребление глюкозы клетками билиарного эпителия. Пограничные значения находятся в диапазоне от 3 до 5 ммоль/л. Дисфункция характеризуется концентрацией глюкозы более 5 ммоль/л, приближающейся к уровню в перфузате.

Билирубин желчи отражает экскреторную функцию гепатоцитов и транспорт через билиарный эпителий. Ожидаемая концентрация при нормальной функции превышает 50 мг/дл. Пограничные значения находятся в диапазоне от 20 до 50 мг/дл. Дисфункция характеризуется концентрацией билирубина менее 20 мг/дл.

3.6. Сосудистое сопротивление

Портальное сосудистое сопротивление печени

Портальное сосудистое сопротивление рассчитывается по формуле:

PVR (мм рт.ст./мл/мин) = (Портальное давление - Давление в ННП) / Портальный поток

В начале НОРЕ обычное значение составляет от 0.03 до 0.08 мм рт.ст./мл/мин. Целью после 2 часов перфузии является снижение более чем на 50% от начального значения. Финальное значение менее 0.03 мм рт.ст./мл/мин считается отличным показателем. Если портальное сосудистое сопротивление растет во время перфузии, следует заподозрить тромбоз сосудов, отек паренхимы или необратимое повреждение.

Почечное сосудистое сопротивление

Почечное сосудистое сопротивление рассчитывается по формуле:

RVR (мм рт.ст./мл/мин) = Артериальное давление / Артериальный поток

В начале НОРЕ обычные значения находятся в диапазоне от 0.5 до 1.5 мм рт.ст./мл/мин. Целевое финальное значение составляет менее 0.4 мм рт.ст./мл/мин. Снижение более чем на 40% от начального значения ассоциировано с хорошим прогнозом. Если почечное сосудистое сопротивление не снижается во время перфузии, это указывает на высокий риск отсроченной функции трансплантата.

3.7. Ферменты повреждения

Аминотрансферазы АЛТ и АСТ

Динамика аминотрансфераз во время НОРЕ имеет характерную картину. Пик концентрации обычно наблюдается на 30-60 минуте перфузии и составляет от 3,000 до 15,000 Ед/л, что отражает вымывание ферментов из поврежденных клеток в перфузат. Стабилизация или снижение концентрации после 60 минут является благоприятным признаком. Продолжающийся рост после 90 минут указывает на продолжающееся повреждение клеток и является неблагоприятным прогностическим фактором.

Отношение АСТ к АЛТ отражает локализацию повреждения. Соотношение 2:1 указывает на то, что митохондриальное повреждение доминирует, так как АСТ в большей степени содержится в митохондриях. Соотношение от 1:1 до 2:1 характеризует смешанное повреждение. Соотношение менее 1:1 указывает на преобладание цитоплазматического повреждения.

Лактатдегидрогеназа

Нормальные значения ЛДГ в перфузате составляют менее 500 Ед/л. Умеренное повреждение характеризуется концентрацией от 500 до 2000 Ед/л. Тяжелое повреждение соответствует значениям выше 2000 Ед/л.

4. ПРОТОКОЛ НОРЕ ДЛЯ ПЕЧЕНИ

4.1. Техническая платформа

В нашем центре используется система Aferetica PerLife, обеспечивающая прецизионный контроль температуры в диапазоне 4-37 °C с точностью ±0.5 °C. Система позволяет регулировать портальное давление от 0 до 20 мм рт.ст. и артериальное давление от 0 до 100 мм рт.ст. Максимальный портальный поток составляет 1500 мл/мин, артериальный поток до 500 мл/мин. Оксигенация обеспечивается мембранным оксигенатором с газовой смесью, содержащей 95% кислорода и 5% углекислого газа.

Перфузионный раствор PumpProtect на основе модифицированного раствора Кребса-Хенселята поддерживает онкотическое давление 25 мм рт.ст. за счет альбумина и гидроксиэтилкрахмала. Буферные системы включают HEPES и бикарбонат для стабилизации pH. В раствор добавляется инсулин в концентрации 40 единиц на литр, пенициллин 150,000 единиц на литр, дополнительно дексаметазон 8 мг/л для подавления воспалительного ответа.

Цитокиновый фильтр PerSorb ECOS-300CY обеспечивает удаление провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли альфа на 70-80%, что способствует снижению системного воспалительного ответа после реперфузии.

4.2. Канюляция печени

Канюляция портальной вены выполняется после препарирования на протяжении 3-4 см с лигированием всех ветвей викриловой нитью 3-0. При диаметре вены 10-12 мм используется канюля диаметром 8 мм, при диаметре 12-14 мм применяется канюля 10 мм. Канюля вводится на глубину 2.5-3 см и фиксируется двумя лигатурами викриловой нитью 0. Проходимость проверяется введением 20 мл раствора шприцем.

Дуальная перфузия с канюляцией печеночной артерии показана при макростеатозе более 40%, наличии трех и более критериев расширенного донорства одновременно, донорстве с асистолией в сочетании с возрастом более 60 лет, функциональной теплой ишемии более 30 минут. Общая печеночная артерия выделяется на протяжении 1.5-2 см. При диаметре артерии 3-4 мм используется канюля 2.5 мм, при диаметре 4-5 мм канюля 3.5 мм, при диаметре более 5 мм канюля 4.5 мм. Канюля вводится на глубину 1-1.5 см и фиксируется одной лигатурой викриловой нитью 4-0 с дополнительной герметизацией каплей цианоакрилатного клея. Проходимость проверяется введением 5 мл с контролем отсутствия экстравазации.

Венозный дренаж обеспечивается установкой дренажной трубы в супрагепатальную полую вену для сбора перфузата.

4.3. Мониторинг HOPE

Длительность стандартного протокола HOPE для печени составляет 120 минут при температуре 6 °C. В первые 2 минуты осуществляется плавный старт с начальным портальным давлением 2 мм рт.ст. и артериальным давлением 15 мм рт.ст. с автоматическим увеличением на 1 мм рт.ст. каждые 20 секунд до достижения целевых значений 5 и 30 мм рт.ст. соответственно. Визуально контролируется изменение цвета паренхимы от серого к ро-

зовому и проверяется герметичность всех соединений.

Первый забор проб осуществляется на 5-й минуте перфузии. Ожидаемый уровень лактата составляет 8-15 ммоль/л, при значениях выше 20 ммоль/л следует проверить адекватность оксигенации. pH обычно находится в диапазоне 7.20-7.35, при значениях ниже 7.15 необходимо проверить концентрацию углекислого газа в газовой смеси. Артериальное парциальное давление кислорода должно превышать 500 мм рт.ст., при значениях ниже 400 мм рт.ст. следует увеличить газовый поток до 1200 мл/мин. Венозное парциальное давление кислорода в норме составляет 200-350 мм рт.ст., значения ниже 150 мм рт.ст. требуют увеличения давления на 5 мм рт.ст. Портальный поток обычно составляет 100-250 мл/мин, значения ниже 80 мл/мин требуют проверки положения канюли.

На 30-й минуте перфузии оценивается начальная реакция органа. Лактат должен снизиться до 5-10 ммоль/л, что соответствует снижению на 30-50% от исходного. Стабилизация или рост лактата служит плохим прогностическим признаком. FMN должен снизиться более чем на 20% от базового уровня, отсутствие снижения указывает на тяжелое митохондриальное повреждение. Сукцинат обычно находится в диапазоне 500-800 мкмоль/л, значения выше 1000 мкмоль/л требуют продления перфузии. Аминотрансферазы достигают пика 3,000-15,000 Ед/л вследствие вымывания ферментов из поврежденных клеток, продолжающийся рост после 60 минут указывает на прогрессирующее повреждение. Портальный поток увеличивается на 50-100 мл/мин до значений 150-350 мл/мин, отсутствие прироста свидетельствует о высоком сосудистом сопротивлении. Активность каспазы-3 должна быть ниже 100 RLU, значения выше 150 RLU указывают на массивный апоптоз. RIPK3 в норме составляет менее 400 пг/мл, значения выше 800 пг/мл свидетельствуют об активном некротозе.

На 60-й минуте перфузии лактат должен снизиться до 3-7 ммоль/л, что соответствует снижению на 60-70% от начального уровня. Значения выше 10 ммоль/л требуют продления перфузии. FMN должен снизиться более чем на 40% от базового. Сукцинат целевой составляет менее 400 мкмоль/л, значения выше 600 мкмоль/л требуют продления перфузии. pH должен быть выше 7.35. Портальный поток обычно составляет 200-450 мл/мин. 4-HNE должен быть ниже 3 мкмоль/л, значения выше 5 мкмоль/л указывают на активный ферроптоз. Соотношение GSH/GSSG целевое составляет более 5:1, значения ниже 3:1 свидетельствуют об окислительном стрессе.

Финальная оценка на 120-й минуте включает измерение обязательных критериев приемлемости. Лактат идеально должен быть ниже 2.5 ммоль/л, приемлемо до 3 ммоль/л. Клиренс лактата, рассчитываемый как процент снижения от начального уровня, должен превышать 70%. рН должен быть выше 7.35. FMN должен снизиться более чем на 50% от базового уровня. Сукцинат целевой составляет менее 300 мкмоль/л. Портальный поток должен превышать 250 мл/мин с приростом более 50% от начального. Портальное сосудистое сопротивление должно снизиться более чем на 50% с финальным значением менее 0.03 мм рт.ст./мл/мин.

Дополнительные желательные критерии включают активность каспазы-3 ниже 80 RLU, RIPK3 менее 300 пг/мл, 4-HNE менее 2.5 мкмоль/л, соотношение GSH/GSSG более 8:1. Визуально орган должен иметь ярко-розовый равномерный цвет, упругую консистенцию, гомогенную перфузию всех сегментов.

5. ПРОТОКОЛ COR ДЛЯ ПЕЧЕНИ

5.1. Показания и температурно-временной протокол

Контролируемая оксигенированная реваскуляризация показана при холодовой ишемии более 10 часов, донорстве с асистолией от доноров старше 55 лет, макростеатозе более 30% в сочетании с асистолией, органах после rescue allocation с отказом двух и более центров, индексе риска донора более 2.0, необходимости оценки жизнеспособности перед окончательным решением.

Протокол COR включает 5 фаз общей длительностью 120 минут с постепенным согреванием от 8 до 35 °C. Фаза 1 длительностью 30 минут осуществляется при стабильной температуре 8 °C с портальным давлением 5 мм рт.ст. и артериальным давлением 30 мм рт.ст., газовым потоком 800 мл/мин. Фаза 2 длительностью 30 минут включает первое согревание от 8 до 17°C со скоростью 0.3 градуса в минуту с постепенным увеличением портального давления до 7 мм рт.ст., артериального до 50 мм рт.ст., газового потока до 1000 мл/мин. Фаза 3 длительностью 15 минут представляет критическую фазу ускоренного согревания от 17 до 30 °C со скоростью 0.87 градуса в минуту с увеличением портального давления до 10 мм рт.ст., артериального до 65 мм рт.ст., газового потока до 1200 мл/мин. Фаза 4 длительностью 15 минут включает финальное согревание от 30 до 35°C со скоростью 0.33 градуса в минуту с повышением портального давления до 12 мм рт.ст., артериального до 75 мм рт.ст., газового потока до 1500 мл/мин. Фаза 5 длительностью 30 минут осу-

ществляется при стабильной температуре 35 °C с поддержанием портального давления 12 мм рт.ст., артериального 75 мм рт.ст., газового потока 1500 мл/мин.

5.2. Мониторинг по фазам

Фаза 1 соответствует гипотермической стабилизации и по параметрам идентична начальному этапу HOPE. На 5-й минуте ожидаемые значения лактата составляют 8-15 ммоль/л, FMN измеряется как базовый уровень, рН находится в диапазоне 7.20-7.35. На 30-й минуте лактат должен снизиться до 6-12 ммоль/л, портальный поток увеличиться на 20-40%.

Фаза 2 характеризуется постепенной активацией метаболизма при низком энергопотреблении. На 45-й минуте при температуре около 12.5 °C лактат может стабилизироваться в диапазоне 5-10 ммоль/л, что является нормальным явлением. Портальный поток увеличивается до 120-280 мл/мин за счет снижения вязкости и вазодилатации. Потребление кислорода составляет 5-8 мл на 100 г ткани в минуту. На 60-й минуте при температуре 17 °C лактат составляет 4-8 ммоль/л, рН находится в диапазоне 7.30-7.38, при значениях ниже 7.25 следует подготовить бикарбонат для коррекции. FMN должен снизиться более чем на 35% от исходного, сукцинат находится в диапазоне 300-500 мкмоль/л, портальный поток составляет 150-320 мл/мин, потребление кислорода увеличивается до 8-12 мл/100г/мин.

Фаза 3 представляет критическую фазу ускоренного согревания. Физиологически в этот период быстрая активация гликолиза опережает окислительное фосфорилирование, что приводит к временному повышению лактата, которое является нормальным явлением. На 67-й минуте при температуре около 23.5 °C лактат может составлять 6-9 ммоль/л и его повышение ожидаемо. рН обязательно должен быть выше 7.30, при значениях ниже 7.25 требуется коррекция бикарбонатом по формуле: объем 8.4% бикарбоната в миллилитрах равен абсолютному значению дефицита оснований, умноженному на 1.5 и на 0.3, введение медленное в течение более 2 минут с переоценкой через 10 минут. Появление первых капель темной желчи служит благоприятным признаком. Портальный поток составляет 200-380 мл/мин. 4-HNE должен быть ниже 4 мкмоль/л для контроля ферроптоза. На 75-й минуте при достижении температуры 30 °C лактат целевой составляет 4-7 ммоль/л, значения выше 10 ммоль/л указывают на плохой прогноз. рН должен быть выше 7.32, значения ниже 7.25 требуют повторной коррекции. Кумулятивный объем желчи должен составлять 5-15 мл темно-зеленого цвета. Портальный поток должен быть в

диапазоне 250-450 мл/мин, значения ниже 200 мл/мин свидетельствуют о высоком сосудистом сопротивлении. Потребление кислорода составляет 12-18 мл/100г/мин.

Фаза 4 включает финальное согревание. На 82-й минуте при температуре около 32.5°C продукция желчи становится активной и составляет 2-4 мл за 10 минут. Цвет желчи светлеет от темно-зеленого до желто-зеленого, что отражает нормальный билиарный метаболизм. Лактат начинает активно снижаться по мере доминирования аэробного метаболизма.

На 90-й минуте при достижении субнормотермии 35 °C осуществляется критическая оценка. В артериальном перфузате отличные показатели включают лактат менее 2.5 ммоль/л, приемлемые значения 2.5-4 ммоль/л, сомнительные более 4 ммоль/л. pH отлично выше 7.38, приемлемо 7.35-7.38, сомнительно ниже 7.35. Глюкоза в норме составляет 4-8 ммоль/л, пограничные значения 3-4 или 8-10 ммоль/л, патология ниже 3 или выше 10 ммоль/л. В венозном перфузате парциальное давление кислорода в норме превышает 100 мм рт.ст., патологическое ниже 80 мм рт.ст. Лактат в венозной крови обычно на 0.5-2 ммоль/л выше артериального, разница более 3 ммоль/л является патологией.

Оценка желчи за последние 15 минут при температуре 30-35 °C имеет решающее значение. Отличный объем составляет более 15 мл, приемлемый 8-15 мл, неприемлемый менее 8 мл. pH желчи отлично выше 7.45, приемлемо 7.40-7.45, неприемлемо ниже 7.40. Глюкоза желчи в норме менее 2 ммоль/л за счет потребления холангиоцитами, пограничные значения 2-3 ммоль/л, дисфункция более 3 ммоль/л. Билирубин желчи отлично превышает 80 мг/дл, приемлемо 50-80 мг/дл, дисфункция менее 50 мг/дл. Цвет желчи должен быть ярко-желтым или зеленым, желто-зеленый приемлем, темный цвет или примесь крови неприемлемы.

Портальный поток отлично превышает 400 мл/мин, приемлемо 300-400 мл/мин, плохо менее 300 мл/мин. Артериальный поток отлично составляет 60-120 мл/мин, приемлемо 40-60 мл/мин, плохо менее 40 мл/мин. FMN отлично снижается более чем на 60%, сомнительно менее 40%. Сукцинат отлично менее 200 мкмоль/л, сомнительно более 400 мкмоль/л. Соотношение ATP/ADP отлично более 2:1, сомнительно менее 1.5:1. Каспаза-3 в норме менее 60 RLU, патология более 100 RLU. RIPK3 в норме менее 250 пг/мл, патология более 500 пг/мл. 4-HNE в норме менее 2 мкмоль/л, патология более 4 мкмоль/л. Соотношение GSH/GSSG в норме более 10:1, патология менее 5:1.

Фаза 5 представляет стабильную субнормотермию. На 105-й минуте лактат продолжает снижаться с целевым значением менее 2.5 ммоль/л. Кумулятивная желчь за 30 минут при температуре 35 °C должна превышать 15 мл.

Финальная оценка на 120-й минуте включает расчетные параметры. Клиренс лактата рассчитывается как разница начального и финального лактата, деленная на начальный лактат, умноженная на 100 процентов. Отличные значения превышают 75%, сомнительные менее 60%. Снижение портального сосудистого сопротивления рассчитывается аналогично. Отличные значения превышают 60%, сомнительные менее 40%. Дельта pH между желчью и перфузатом отлично превышает 0.15, сомнительно менее 0.05. Дельта глюкозы между перфузатом и желчью отлично превышает 4 ммоль/л, сомнительно менее 2 ммоль/л. Потребление кислорода при температуре 35 °C в норме составляет 18-25 мл/100г/мин, менее 12 мл/100г/мин является сомнительным.

5.3. Интегральная оценка и принятие решений

Категория А означает отличную жизнеспособность с показанием к немедленной трансплантации. Все следующие критерии должны выполняться: лактат менее 2 ммоль/л, клиренс лактата более 75%, pH перфузата выше 7.38, желчь более 20 мл за последние 30 минут, pH желчи выше 7.45, глюкоза желчи менее 2 ммоль/л, портальный поток более 400 мл/мин, снижение портального сосудистого сопротивления более 60%, снижение FMN более 60%, визуально ярко-розовая упругая паренхима с гомогенной перфузией.

Категория В означает хорошую жизнеспособность с возможностью трансплантации. Большинство следующих критериев должны выполняться: лактат 2-2.5 ммоль/л, клиренс лактата 65-75%, pH выше 7.35, желчь 15-20 мл, pH желчи 7.40-7.45, глюкоза желчи 2-3 ммоль/л, портальный поток 300-400 мл/мин, снижение портального сосудистого сопротивления 50-60%, снижение FMN 50-60%.

Категория С означает сомнительную жизнеспособность с показанием к продлению перфузии. Признаками служат лактат 2.5-5 ммоль/л, pH желчи менее 7.35 или объем желчи менее 15 мл, глюкоза желчи более 5 ммоль/л, портальный поток менее 300 мл/мин, высокие маркеры клеточной гибели с RIPK3 выше 500 пг/мл и 4-HNE выше 4 мкмоль/л. Действием является переход на нормотермическую перфузию при температуре 37 °C на 2-4 часа для дальнейшей оценки.

Категория D означает неприемлемую жизнеспособность с показанием к отказу от органа. Критериями служат любой из следующих признаков: лактат более 8 ммоль/л после 120 минут, полное отсут-

ствие желчи, pH перфузата менее 7.20 несмотря на коррекцию бикарбонатом, FMN не снижается или растет, множественные маркеры клеточной гибели критически высокие, визуально участки некроза, неравномерная перфузия, тромбоз.

6. ПРОТОКОЛ НОРЕ ДЛЯ ПОЧЕК

Протокол НОРЕ для почек имеет существенные отличия от протокола для печени. Перфузия является только артериальной без портального компонента. Длительность составляет 180 минут вместо 120 минут для печени. Температура поддерживается стабильно на уровне 6°C в течение всей процедуры. Артериальное давление ниже и составляет 30 мм рт.ст. Газовая смесь содержит 95% кислорода и 5% углекислого газа с потоком 800 мл/мин.

Канюляция почечной артерии осуществляется через аортальный патч, что облегчает фиксацию. При одной артерии используется канюля на 1 мм меньше диаметра артерии (обычно 4-6 мм). При множественных артериях применяется Y-образная канюля. Канюля вводится на глубину 2 см и фиксируется одной лигатурой викриловой нитью 3-0 в пределах аортального патча с дополнительной фиксацией kleem. Венозный дренаж обеспечивает установкой дренажа в почечную вену.

Мониторинг осуществляется на 5, 30, 60, 90 и 180 минутах. На 5-й минуте ожидаемый лактат составляет 6-12 ммоль/л, при значениях выше 15 ммоль/л следует проверить оксигенацию. Артериальный поток составляет 15-40 мл/мин, значения ниже 10 мл/мин требуют проверки положения канюли. Артериальное парциальное давление кислорода должно превышать 500 мм рт.ст., при значениях ниже 400 мм рт.ст. следует увеличить газовый поток. Венозное парциальное давление кислорода должно превышать 200 мм рт.ст., значения ниже 150 мм рт.ст. могут указывать на обструкцию. Измеряется базовый уровень NGAL.

На 30-й минуте целевой лактат составляет 4-8 ммоль/л, значения выше 12 ммоль/л указывают на плохую оксигенацию. Поток должен увеличиться на 30-50% до значений 20-50 мл/мин, отсутствие прироста свидетельствует о высоком сосудистом сопротивлении. FMN должен снизиться более чем на 20%, стабильно высокие значения указывают на митохондриальное повреждение. NGAL обычно составляет 200-500 нг/мл, значения выше 800 нг/мл свидетельствуют о тяжелом повреждении канальцев.

На 60-й минуте целевой лактат составляет 3-6 ммоль/л, что соответствует снижению более чем на 50% от начального. Поток обычно составляет 25-60 мл/мин. pH должен быть выше 7.30. KIM-1 целевой составляет менее 3 нг/мл, значения выше

5 нг/мл указывают на ишемическое повреждение канальцев.

На 90-й минуте целевой лактат составляет менее 5 ммоль/л, значения выше 6 ммоль/л требуют продления перфузии до 240 минут. pH должен быть выше 7.35. Поток должен быть стабильным или расти, снижение потока является плохим прогностическим признаком.

Финальная оценка на 180-й минуте включает следующие критерии. Отличные показатели: лактат менее 2 ммоль/л, клиренс лактата более 70%, pH выше 7.38, поток 40-70 мл/мин, прирост потока более 60% от начального, снижение почечного сосудистого сопротивления более 50%, снижение FMN более 60%. Приемлемые показатели: лактат 2-2.5 ммоль/л, клиренс лактата 60-70%, pH 7.35-7.38, поток 30-40 мл/мин, прирост потока 40-60%, снижение почечного сосудистого сопротивления 40-50%, снижение FMN 50-60%. Сомнительные показатели: лактат более 2.5 ммоль/л, клиренс лактата менее 60%, pH менее 7.35, поток менее 30 мл/мин, прирост потока менее 40%, снижение почечного сосудистого сопротивления менее 40%, снижение FMN менее 50%.

Специфические почечные маркеры включают NGAL с низким риском отсроченной функции при значениях менее 200 нг/мл, средним риском 200-500 нг/мл, высоким риском более 500 нг/мл. KIM-1 с низким риском менее 2 нг/мл, средним риском 2-5 нг/мл, высоким риском более 5 нг/мл. Интерлейкин-18 с низким риском менее 100 пг/мл, средним риском 100-300 пг/мл, высоким риском более 300 пг/мл.

Почечное сосудистое сопротивление рассчитывается как артериальное давление, деленное на артериальный поток. Целевое финальное значение составляет менее 0.4 мм рт.ст./мл/мин.

Предикция отсроченной функции трансплантата осуществляется следующим образом. Риск отсроченной функции в процентах рассчитывается как базовый риск, умноженный на множитель факторов. Базовый риск по индексу KDPI составляет 15% для KDPI менее 50%, 30% для KDPI 50-85%, 50% для KDPI более 85%. Множители после НОРЕ: лактат менее 2 ммоль/л умножает на 0.5, лактат 2-2.5 ммоль/л умножает на 0.7, лактат более 2.5 ммоль/л умножает на 1.3. Снижение почечного сосудистого сопротивления более 50% умножает на 0.6, снижение менее 40% умножает на 1.4. NGAL менее 200 нг/мл умножает на 0.5, NGAL более 500 нг/мл умножает на 1.8. Снижение FMN более 60% умножает на 0.6, снижение FMN менее 50% умножает на 1.5.

Решение о трансплантации принимается при всех критериях в категории отлично или приемле-

мо, расчетном риске отсроченной функции менее 30%, отсутствии признаков необратимого повреждения. Отказ от трансплантации показан при лактате более 4 ммоль/л после 180 минут, почечном сосудистом сопротивлении без снижения или с ростом, NGAL более 800 нг/мл, множественных маркерах критически плохих, расчетном риске отсроченной функции более 70%. Dual kidney transplantation рассматривается при пограничных показателях одиночной почки, возрасте донора более 70 лет, KDPI более 90%, гистологическом балле Remuzzi 7-9.

7. ОСЛОЖНЕНИЯ И БЕЗОПАСНОСТЬ

Технические осложнения во время перфузии в нашем центре наблюдались в 11 из 287 случаев (3.8%). Подтекание перфузата из канюли отмечено в 6 случаях (2.1%), во всех случаях проблема решена снижением давления или переканюляцией. Воздушная эмболия произошла в 2 случаях (0.7%), в обоих случаях успешно устранена промыванием сосудов и массажем органа. Технический сбой оборудования отмечен в 3 случаях (1.0%), во всех случаях перфузия продолжена на резервной системе без потери органа.

Профилактика воздушной эмболии включает тщательную деаэрацию контура в течение 7 минут с визуальным контролем, проверку ловушки пузырьков в артериальной линии, избегание отрицательного давления в резервуаре. При обнаружении признаков эмболии в виде внезапного повышения сосудистого сопротивления, неравномерной перфузии с белыми участками, снижения потока при стабильном давлении требуется немедленная остановка перфузии, удаление канюль, промывка сосудов 200 мл холодного раствора, массаж органа для мобилизации пузырьков, повторная канюляция и возобновление перфузии с тщательным мониторингом следующие 30 минут.

Профилактика контаминации включает строгую асептику при канюляции, антибиотики в перфузате в виде пенициллина 150,000 единиц на литр, закрытую систему, минимизацию открытия контура. При подозрении на контаминацию проводится микробиологический посев перфузата, визуальная оценка органа на мутность и хлопья. При контаминации осуществляется замена перфузата и добавление антибиотиков широкого спектра. При грамотрицательной инфекции донора добавляется гентамицин 80 мг/л. При тяжелой контаминации показан отказ от органа.

Заключение

Машинная перфузия донорских органов завершила путь от экспериментальной технологии до

стандарта клинической практики для органов расширенных критериев. Гипотермическая оксигенированная перфузия убедительно продемонстрировала способность снижать частоту билиарных осложнений и улучшать исходы трансплантации печени и почек от доноров с асистолией и расширенными критериями. Контролируемая оксигенированная реваскуляризация открыла принципиально новую возможность функциональной оценки маргинальных органов непосредственно перед принятием окончательного решения о трансплантации, что имеет критическое значение для повышения утилизации доступного донорского пулла.

Доказательная база машинной перфузии достигла уровня, позволяющего рекомендовать эту технологию для широкого клинического применения. Метаанализы подтверждают не только клиническую, но и экономическую эффективность с числом пациентов, которых необходимо пролечить для предотвращения одного случая билиарных осложнений, равным 8, и возвратом инвестиций в соотношении от 4:1 до 6:1. Современные биомаркеры обеспечили переход от простого измерения лактата к комплексной оценке митохондриального здоровья через флавин мононуклеотид, сукцинат и соотношение ATP/ADP, а также к дифференциальной диагностике типов клеточной гибели, включая апоптоз, некроптоз и ферроптоз. Это позволяет значительно точнее предсказывать жизнеспособность органа и принимать обоснованные решения.

Персонализированный подход становится основой современной практики машинной перфузии. Не существует универсального протокола, применимого ко всем случаям. Выбор стратегии перфузии должен основываться на интегральной оценке характеристик конкретного донора, времени ишемии и динамике биомаркеров в режиме реального времени. Безопасность технологии подтверждена низкой частотой технических осложнений менее 5% при соблюдении стандартизированного протокола и адекватном обучении персонала.

Будущее машинной перфузии связано с несколькими перспективными направлениями. Фармакологическая модуляция перфузата с использованием ингибиторов ферроптоза и митохондриальных протекторов находится на стадии клинических исследований. Генная терапия *ex vivo* может обеспечить доставку защитных факторов непосредственно в орган во время перфузии. Долговременная перфузия продолжительностью более 24 часов имеет потенциал трансформировать трансплантацию из экстренной процедуры в плановую, обеспечивая время для детальной оценки и терапевтических интервенций.

Для трансплантационных центров, приступающих к внедрению программы машинной перфузии, рекомендуется начинать с простой НОРЕ для печени от доноров с асистолией, поскольку эта категория имеет наиболее убедительную доказательную базу. Необходимо инвестировать в обучение персонала и создание протоколов контроля качества с последующим постепенным расширением показаний на органы расширенных критериев от доноров со смертью мозга. Внедрение измерения современных биомаркеров, как минимум флавина мононуклеотида и маркеров ферроптоза, должно стать приоритетом.

Центры с накопленным опытом машинной перфузии должны рассматривать внедрение контролируемой оксигенированной реваскуляризации для оценки сомнительных органов, участвовать в клинических исследованиях фармакологической модуляции перфузата и развивать персонализированные протоколы на основе алгоритмов искусственного интеллекта для оптимизации параметров перфузии.

На уровне системы здравоохранения необходимо обеспечить возмещение затрат на машинную

перфузию, учитывая доказанную экономическую эффективность этой технологии. Создание национальных регистров с обязательной регистрацией всех случаев машинной перфузии позволит накапливать данные для дальнейшего совершенствования протоколов. Финансирование исследований долговременной перфузии и регенеративных технологий должно стать стратегическим приоритетом.

Машинная перфузия представляет собой не самоцель, а инструмент для спасения жизней через расширение пула донорских органов и улучшение качества трансплантации. Каждый орган, успешно трансплантированный благодаря машинной перфузии, означает пациента, который не погиб в листе ожидания. Баланс между стремлением максимизировать утилизацию органов и обеспечением безопасности реципиентов остается ключевым этическим вызовом современной трансплантологии. Объективные биомаркеры и стандартизованные протоколы служат нашими союзниками в поиске этого баланса, позволяя принимать решения на основе данных, а не интуиции.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Интегральная оценка жизнеспособности после COR

КАТЕГОРИЯ А: Отличная жизнеспособность (немедленная трансплантация)

Критерии (ВСЕ должны выполняться):

- ✓ Лактат <2 ммоль/л
- ✓ Клиренс лактата >75%
- ✓ pH перфузата >7.38
- ✓ Желчь >20 мл за последние 30 минут
- ✓ pH желчи >7.45
- ✓ Глюкоза желчи <2 ммоль/л
- ✓ Портальный поток >400 мл/мин
- ✓ PVR снижение >60%
- ✓ FMN снижение >60%
- ✓ Визуально: ярко-розовая, упругая, гомогенная

КАТЕГОРИЯ В: Хорошая жизнеспособность (трансплантация возможна)

Критерии (большинство должны выполняться):

- ✓ Лактат 2-2.5 ммоль/л
- ✓ Клиренс лактата 65-75%
- ✓ pH >7.35
- ✓ Желчь 15-20 мл
- ✓ pH желчи 7.40-7.45
- ✓ Глюкоза желчи 2-3 ммоль/л
- ✓ Портальный поток 300-400 мл/мин
- ✓ PVR снижение 50-60%
- ✓ FMN снижение 50-60%

КАТЕГОРИЯ С: Сомнительная жизнеспособность (продление перфузии)

Признаки:

- Лактат 2.5-5 ммоль/л
- pH желчи <7.35 или желчи <15 мл
- Глюкоза желчи >5 ммоль/л
- Портальный поток <300 мл/мин
- Высокие маркеры клеточной гибели (RIPK3 >500, 4-HNE >4)

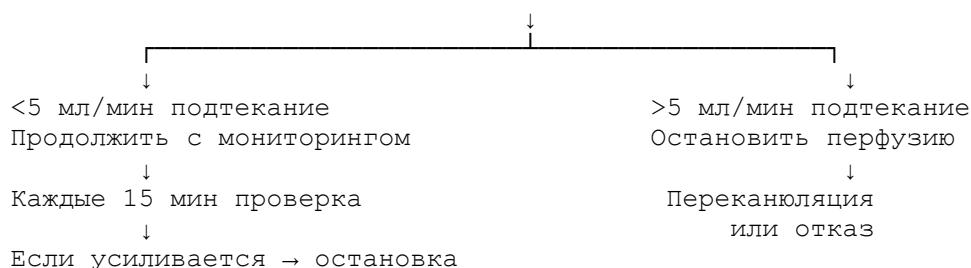
Действие: Переход на нормотермическую перфузию (37 °C) на 2-4 часа**КАТЕГОРИЯ D: Неприемлемая жизнеспособность (отказ от органа)**

Критерии (любой из):

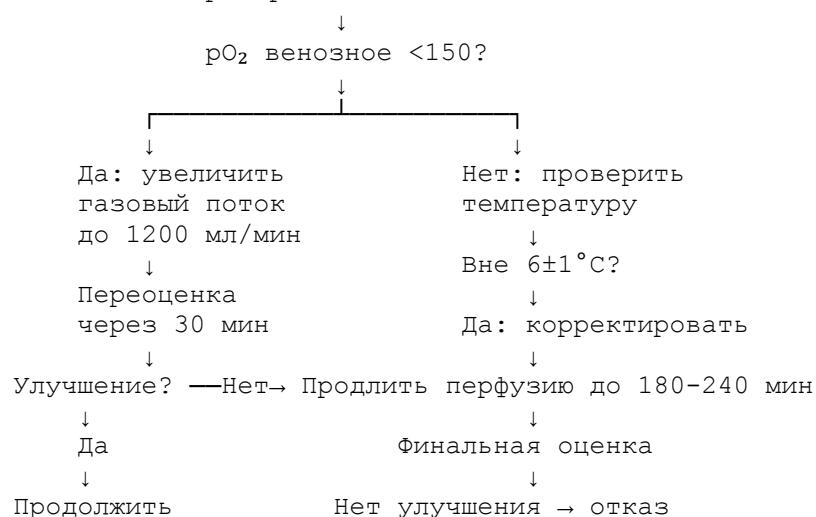
- Лактат >8 ммоль/л после 120 минут
- Полное отсутствие желчи
- pH перфузата <7.20 несмотря на коррекцию
- FMN не снижается или растет
- Множественные маркеры клеточной гибели критически высокие
- Визуально: участки некроза, неравномерная перфузия, тромбоз

Приложение 2. Алгоритмы действий при критических ситуациях**Сценарий 1: Массивное подтекание перфузата**

Обнаружение → Снизить давление 50% → Оценить источник и объем

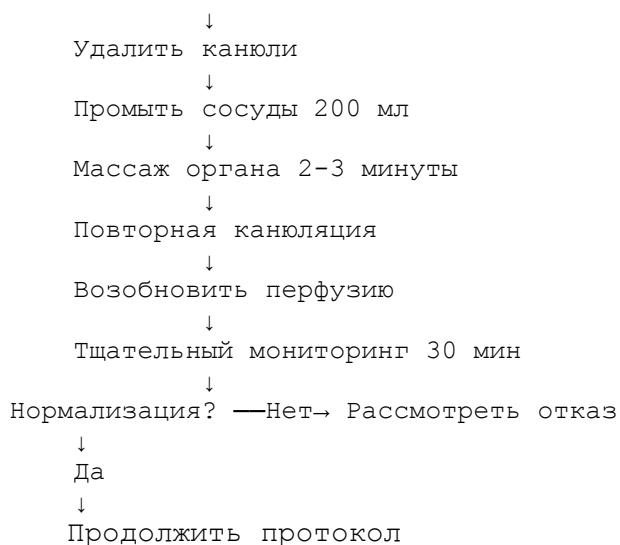
**Сценарий 2: Лактат не снижается**

Лактат стабилен/растет на 60 мин → Проверить оксигенацию

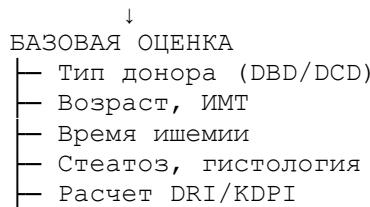
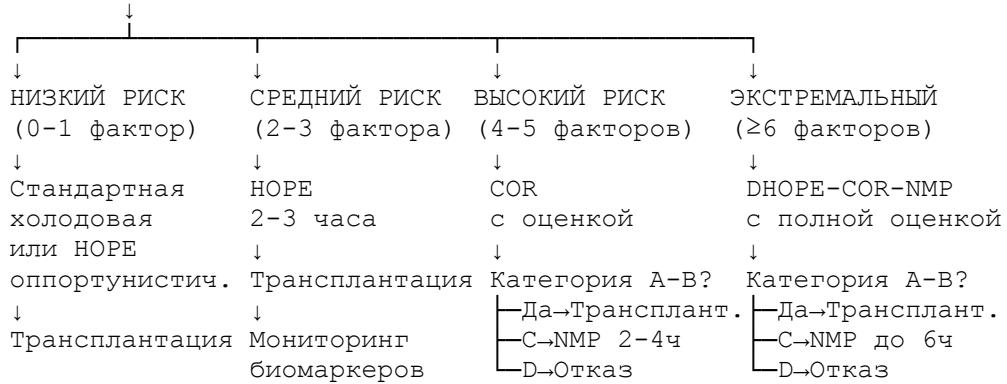


Сценарий 3: Подозрение на воздушную эмболию

Внезапное ↑ сопротивления + белые участки → Немедленно СТОП

**Интегральный алгоритм выбора стратегии перфузии**

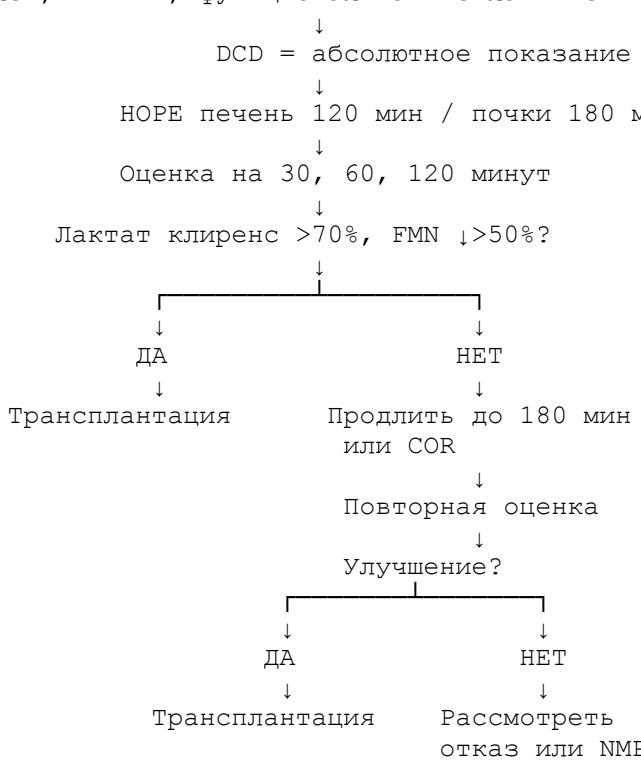
ИЗЪЯТИЕ ОРГАНА

↓
СТРАТИФИКАЦИЯ РИСКА

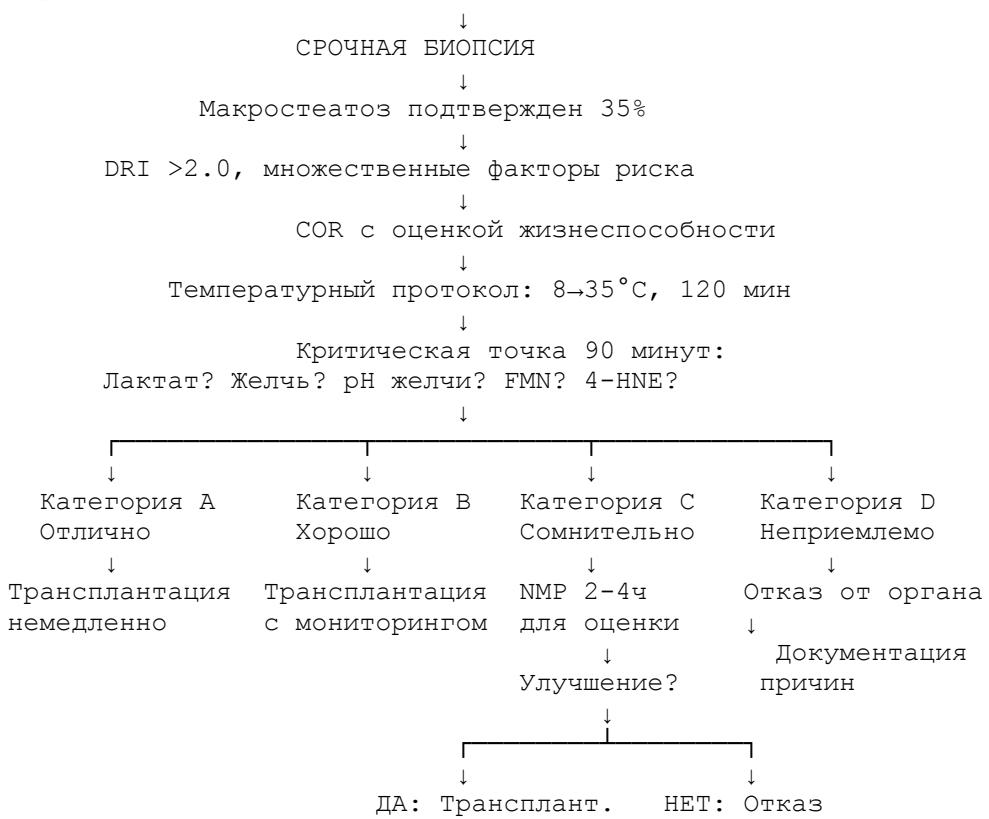
Алгоритм для конкретных клинических сценариев

СЦЕНАРИЙ 1: Молодой DCD донор (категория III)

Донор: 35 лет, ИМТ 24, функциональная теплая ишемия 15 минут

**СЦЕНАРИЙ 2: Пожилой DBD донор со стеатозом**

Донор: 68 лет, ИМТ 32, визуальный стеатоз ~35%, холодовая ишемия 9 часов



СЦЕНАРИЙ 3: Почка от старого донора с высоким KDPI

Донор: 72 года, KDPI 92%, креатинин 1.8 мг/дл, гистология Remuzzi балл 6

↓
ECD = показание к HOPE↓
HOPE 180 минут, 6°C↓
Мониторинг: 30, 60, 90, 180 минут

Ключевые маркеры: Лактат, RVR, NGAL, FMN

↓
Оценка на 180 минут:

↓	↓	↓	↓
Лактат <2	Лактат 2-2.5	Лактат 2.5-4	Лактат >4
RVR ↓>50%	RVR ↓40-50%	RVR ↓<40%	RVR растет
NGAL <200	NGAL 200-500	NGAL >500	NGAL >800

↓	↓	↓	↓
Низкий риск DGF	Средний риск DGF	Высокий риск DGF	Критически высокий DGF
Прогноз <10%	~25%	~50%	>70%

↓	↓	↓	↓
Одиночная трансплантация молодому реципиенту	Одиночная трансплантация для старого реципиента	Dual kidney transplant или отказ	Рассмотреть отказ
			↓
			Альтернатива: Dual для старого реципиента с согласием

Приложение 3. Стандартизованные формы документации**Форма 1: Чек-лист подготовки системы**

- Охлаждение раствора завершено ($T = 4-8^{\circ}\text{C}$)
- Визуальная проверка контура (без повреждений)
- Контур подключен к PerLife (все соединения защелкнуты)
- Картридж PerSorb установлен
- Резервуар заполнен 1500 мл + добавки
- Оксигенация завершена ($\text{pO}_2 >500$ мм рт.ст.)
- Деаэрация выполнена (7 минут, визуально без пузырьков)
- Температура системы 6°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$)
- Параметры запрограммированы
- Газовая смесь подключена (95% O_2 + 5% CO_2)

Дата: _____ Время: _____ Оператор: _____

Форма 2: Протокол канюляцииОрган: Печень Почка Донор ID: _____**КАНЮЛЯЦИЯ:**

Портальная вена (печень):

Диаметр вены: _____ мм

Размер канюли: _____ мм

Фиксация: 2 лигатуры Vicryl 0Проверка проходимости: Пройдена**Печеночная/почечная артерия:**

Диаметр артерии: _____ мм

Размер канюли: _____ мм

Фиксация: 1 лигатура Vicryl _____ + клейПроверка проходимости: ПройденаМножественные артерии: Нет Да (Y-канюля)Венозный дренаж: УстановленОсложнения: Нет Да (описать): _____

Оператор: _____ Время: _____

Форма 3: Протокол перфузии и мониторинга

(Автоматическая запись каждые 5 минут + ручная регистрация в ключевых точках)

Протокол: НОРЕ печень НОРЕ почка COR DНORE-COR-NMP

Время (мин)	T °C	Рпорт	Рарт	Потокпорт	Потокарт	Примечания
5						
30						
60						
90						
120						

БИОМАРКЕРЫ:Время | Лактат | pH | pO₂арт | pO₂вен | FMN | Сукцинат | АЛТ | АСТ | NGAL* | Желчь
(мл) **

Время	Лактат	pH	pO ₂ арт	pO ₂ вен	FMN	Сукцинат	АЛТ	АСТ	NGAL*	Желчь
5										
30										
60										
90										
120										

*NGAL - только для почек

**Желчь - только для печени (COR)

МАРКЕРЫ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ (60, 120 минут) :

Время	Каспаза-3	RIPK3	4-HNE	GSH/GSSG	HMGB1
60					
120					

РАСЧЕТНЫЕ ПАРАМЕТРЫ (120 минут) :

Клиренс лактата: _____ %

Снижение PVR/RVR: _____ %

Потребление O_2 (COR 35°C) : _____ мл/100г/мин

Дельта pH (желчь-перфузат) : _____

Дельта глюкозы (перфузат-желчь) : _____ ммоль/л

Форма 4: Финальная оценка жизнеспособности

КАТЕГОРИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ: A (Отличная) B (Хорошая) C (Сомнительная) D (Неприемлемая)

ОБОСНОВАНИЕ:

Критерии выполнены/не выполнены (отметить) :

- Лактат <3 ммоль/л
- Клиренс лактата >70%
- pH >7.35
- FMN снижение >50%
- Поток: прирост >50%
- PVR/RVR снижение >50%
- Маркеры клеточной гибели в пределах нормы
- Желчь >15 мл, pH >7.40, глюкоза <3 (COR печень)
- NGAL <500 нг/мл (НОРЕ почка)
- Визуально: хорошая перфузия, розовый цвет, упругость

РЕШЕНИЕ:

- Немедленная трансплантация (Категории А-В)
- Продление до NMP (Категория С)
- Отказ от органа (Категория D)

ПРИЧИНА ОТКАЗА (если применимо) : _____

Оператор: _____ Ответственный хирург: _____ Дата/Время: _____

Литература [References]

- 1 Schlegel A, Muller X, Kalisvaart M, et al. Outcomes of DCD liver transplantation using organs treated by hypothermic oxygenated perfusion before implantation. *Journal of Hepatology*. 2019;70:50-57.
- 2 van Rijn R, Karimian N, Matton APM, et al. Dual hypothermic oxygenated machine perfusion in liver transplants donated after circulatory death. *British Journal of Surgery*. 2017;104:907-917.
- 3 Patrono D, Surra A, Catalano G, et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion of liver grafts from brain-dead donors. *Scientific Reports*. 2019;9:9337.
- 4 Czigany Z, Lurje I, Tolba RH, et al. Machine perfusion for liver transplantation in the era of marginal organs - New kids on the block. *Liver International*. 2019;39:228-249.
- 5 Nasralla D, Coussios CC, Mergental H, et al. A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation. *Nature*. 2018;557:50-56.
- 6 Schlegel A, Mergental H, Fondevila C, et al. Machine perfusion of the liver and bioengineering. *Journal of Hepatology*. 2023;78:1181-1198.
- 7 Moers C, Smits JM, Maathuis MH, et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *New England Journal of Medicine*. 2009;360:7-19.
- 8 Jochmans I, Brat A, Davies L, et al. Oxygenated versus standard cold perfusion preservation in kidney transplantation (COMPARE): a randomised, double-blind, paired, phase 3 trial. *Lancet*. 2020;396:1653-1662.
- 9 Hosgood SA, Nicholson ML. First in man renal transplantation after ex vivo normothermic perfusion. *Transplantation*. 2011;92:735-738.
- 10 Kaths JM, Echeverri J, Linares I, et al. Normothermic ex vivo kidney perfusion for graft quality assessment prior to transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2018;18:580-589.
- 11 van Leeuwen OB, de Vries Y, Fujiyoshi M, et al. Transplantation of high-risk donor livers after ex situ resuscitation and assessment using combined hypo- and normothermic machine perfusion: a prospective clinical trial. *Annals of Surgery*. 2019;270:906-914.
- 12 Mergental H, Laing RW, Kirkham AJ, et al. Transplantation of discarded livers following viability testing with normothermic machine perfusion. *Nature Communications*. 2020;11:2939.
- 13 Hoyer DP, Mathe Z, Gallinat A, et al. Controlled oxygenated rewarming of cold stored livers prior to transplantation: First clinical application of a new concept. *Transplantation*. 2016;100:147-152.
- 14 Schlegel A, Kron P, Graf R, et al. Warm vs. cold perfusion techniques to rescue rodent liver grafts. *Journal of Hepatology*. 2014;61:1267-1275.
- 15 Dutkowski P, Polak WG, Muijesan 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. *Annals of Surgery*. 2015;262:764-770.
- 16 Bruinsma BG, Yeh H, Özer S, et al. Subnormothermic machine perfusion for ex vivo preservation and recovery of the human liver for transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2014;14:1400-1409.
- 17 Ravaioli M, De Pace V, Angeletti A, et al. Hypothermic oxygenated new machine perfusion system in liver and kidney transplantation of extended criteria donors: first Italian clinical trial. *Scientific Reports*. 2020;10:6063.
- 18 Detelich D, Markmann JF. The dawn of liver perfusion machines. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2018;23:151-161.
- 19 Karangwa SA, Dutkowski P, Fontes P, et al. Machine perfusion of donor livers for transplantation: a proposal for standardized nomenclature and reporting guidelines. *American Journal of Transplantation*. 2016;16:2932-2942.
- 20 van Leeuwen OB, de Vries Y, Fujiyoshi M, et al. Flavin mononucleotide during ex vivo machine perfusion is a reliable predictor of human donor liver viability and post-transplant graft recovery. *Liver Transplantation*. 2022;28:1699-1709.
- 21 de Vries Y, Matton APM, Nijsten MWN, et al. Pretransplant sequential hypo- and normothermic machine perfusion of suboptimal livers donated after circulatory death using a hemoglobin-based oxygen carrier perfusion solution. *American Journal of Transplantation*. 2019;19:1202-1211.
- 22 Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell*. 2017;171:273-285.
- 23 Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012;149:1060-1072.
- 24 Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*. 2014;156:317-331.
- 25 Doll S, Freitas FP, Shah R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*. 2019;575:693-698.
- 26 Bersuker K, Hendricks JM, Li Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature*. 2019;575:688-692.
- 27 Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nature Cell Biology*. 2014;16:1180-1191.
- 28 Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, et al. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111:16836-16841.
- 29 Li Y, Feng D, Wang Z, et al. Ischemia-induced ACSL4 activation contributes to ferroptosis-mediated tissue injury in intestinal ischemia/reperfusion. *Cell Death and Differentiation*. 2019;26:2284-2299.
- 30 Yamada N, Karasawa T, Wakiya T, et al. Ferroptosis driven by radical oxidation of n-6 polyunsaturated fatty acids mediates hepatotoxicity and tumorigenesis. *Cell Metabolism*. 2020;32:144-159.
- 31 Kagan VE, Mao G, Qu F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nature Chemical Biology*. 2017;13:81-90.
- 32 Wenzel SE, Tyurina YY, Zhao J, et al. PEBP1 wardens ferroptosis by enabling lipoxygenase generation of lipid death signals. *Cell*. 2017;171:628-641.
- 33 Doll S, Proneth B, Tyurina YY, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nature Chemical Biology*. 2017;13:91-98.
- 34 Mayr L, Grabherr F, Schwärzler J, et al. Dietary lipids fuel GPX4-restricted enteritis resembling Crohn's disease. *Nature Communications*. 2020;11:1775.
- 35 Degterev A, Huang Z, Boyce M, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nature Chemical Biology*. 2005;1:112-119.
- 36 Linkermann A, Bräsen JH, Dardignac M, et al. Two independent pathways of regulated necrosis mediate ischemia-reperfusion injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110:12024-12029.
- 37 Muller T, Dewitz C, Schmitz J, et al. Necroptosis and ferroptosis are alternative cell death pathways that operate in acute kidney failure. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2017;74:3631-3645.
- 38 Zhang Y, Su SS, Zhao S, et al. RIP1 autoprophosphorylation is promoted by mitochondrial ROS and is essential for RIP3 recruitment into necrosome. *Nature Communications*. 2017;8:14329.
- 39 Sun L, Wang H, Wang Z, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase. *Cell*. 2012;148:213-227.
- 40 Choi ME, Price DR, Ryter SW, Choi AMK. Necroptosis: a crucial pathogenic mediator of human disease. *JCI Insight*. 2019;4:e128834.

Авторская справка**Новрузбеков Мурад Сафтарович**

Д-р мед. наук, профессор, врач-хирург, руководитель научного отделения, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина; заведующий кафедрой трансплантологии и искусственных органов им. В.П. Демихова, Пироговский Университет; профессор кафедры хирургических болезней, Московский медицинский университет «Реавиз».

ORCID 0000-0002-6362-7914

Вклад автора: концепция и дизайн исследования, координация клинической части работы, участие в проведении трансплантаций, критический анализ рукописи, окончательное одобрение версии для публикации.

Яремин Борис Иванович

Канд. мед. наук, врач-хирург, научный сотрудник, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, доцент кафедры трансплантологии и искусственных органов им. В.П. Демихова Пироговского Университета, заведующий кафедрой хирургических болезней Московского медицинского университета «Реавиз».

ORCID 0000-0001-5889-8675

Вклад автора: концепция и дизайн исследования, разработка протокола машинной перфузии, проведение экспериментальных процедур, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи, окончательное одобрение версии для публикации.

Балкарков Аслан Галиевич

Канд. мед. наук, руководитель научного отделения, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; доцент кафедры трансплантологии и искусственных органов им. В.П. Демихова, Пироговский Университет.

ORCID 0000-0002-1396-7048

Вклад автора: планирование экспериментального дизайна, участие в проведении машинной перфузии, анализ биохимических данных, критическое рецензирование рукописи на предмет важного интеллектуального содержания.

Казымов Бахтияр Исмет Оглы

Врач-хирург, научный сотрудник, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина; ассистент кафедры хирургических болезней, Московский медицинский университет «Реавиз».

ORCID 0000-0001-5723-4818

Вклад автора: участие в проведении экспериментальных процедур, сбор и первичная обработка данных, участие в статистическом анализе, подготовка таблиц и графического материала.

Аносова Екатерина Юрьевна

Врач-хирург, ассистент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Пироговский Университет.

ORCID 0000-0002-0241-1298

Вклад автора: участие в хирургических процедурах, сбор клинических данных, анализ послеоперационных результатов, участие в подготовке рукописи.

Свищева Полина Олеговна

Врач-патологоанатом, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0000-0002-3799-7698

Вклад автора: проведение гистологических исследований, морфологический анализ биоптатов, интерпретация патоморфологических данных, подготовка соответствующих разделов рукописи.

Павлова Ольга Николаевна

Д-р биол. наук, заведующая кафедрой физиологии, Самарский государственный медицинский университет; профессор кафедры морфологии и патологии, Медицинского университета «Реавиз».

ORCID 0000-0002-8055-1958

Вклад автора: разработка методов лабораторных исследований, проведение биохимического анализа маркеров окислительного стресса и митохондриальной функции, интерпретация результатов лабораторных исследований.

Ханова Сафия Магомедовна

Врач-клинический ординатор, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0009-0002-0057-9326

Вклад автора: сбор первичных данных, ведение базы данных исследования, участие в статистической обработке результатов, техническая поддержка исследования.

Статья поступила 31.10.2025

Одобрена после рецензирования 28.11.2025

Принята в печать 30.11.2025

Author's reference**Murad S. Novruzbekov**

Dr. Sci. (Med.), Professor, Surgeon, Head of the Research Department, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; Head of the Department of Transplantology and Artificial Organs named after V.P. Demikhov, Pirogov University; Professor, Department of Surgical Diseases, Moscow Medical University "Reaviz".

ORCID 0000-0002-6362-7914

Author's contribution: study concept and design, coordination of clinical aspects, participation in transplantation procedures, critical analysis of the manuscript, final approval of the version for publication.

Boris I. Yaremin

Cand. Sci. (Med.), surgeon, researcher, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin, Associate Professor, V.P. Demikhov Department of Transplantology and Artificial Organs, Pirogov University, Head of the Department of Surgical Diseases, Moscow Medical University "Reaviz".

ORCID 0000-0001-5889-8675

Author's contribution: study concept and design, development of machine perfusion protocol, conducting experimental procedures, analysis and interpretation of results, manuscript writing, final approval of the version for publication.

Aslan G. Balkarov

Cand. Sci. (Med.), Head of the Research Department, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine; Associate Professor, V.P. Demikhov Department of Transplantology and Artificial Organs, Pirogov University.

ORCID 0000-0002-1396-7048

Author's contribution: experimental design planning, participation in machine perfusion procedures, analysis of biochemical data, critical review of the manuscript for important intellectual content.

Bakhtiyar I. Kazymov

Surgeon, Researcher, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine; National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin; Assistant Professor, Department of Surgical Diseases, Moscow Medical University "Reaviz".

ORCID 0000-0001-5723-4818

Author's contribution: participation in experimental procedures, data collection and primary processing, participation in statistical analysis, preparation of tables and graphic materials.

Ekaterina Yu. Anosova

Surgeon, Assistant Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Pirogov University.

ORCID 0000-0002-0241-1298

Author's contribution: participation in surgical procedures, clinical data collection, analysis of postoperative results, participation in manuscript preparation.

Polina O. Svischeva

Pathologist, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine.

ORCID 0000-0002-3799-7698

Author's contribution: conducting histological studies, morphological analysis of biopsies, interpretation of pathomorphological data, preparation of corresponding manuscript sections.

Ol'ga N. Pavlova

Dr. Sci. (Biol.), Head of the Department of Physiology, Samara State Medical University; Professor of the Department of Morphology and Pathology, Medical University "Reaviz".

ORCID 0000-0002-8055-1958

Author's contribution: development of laboratory research methods, conducting biochemical analysis of oxidative stress markers and mitochondrial function, interpretation of laboratory results.

Safiya M. Khanova

Clinical Resident, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine.

ORCID 0009-0002-0057-9326

Author's contribution: primary data collection, maintenance of study database, participation in statistical data processing, technical research support.

Received October, 31st 2025

Approved after reviewing November, 28th 2025

Accepted for publication November, 30th 2025