



МАШИННАЯ ПЕРФУЗИЯ ПЕЧЕНИ С УМЕРЕННЫМ МАКРОСТЕАТОЗОМ: ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДВОЙНОЙ ГИПОТЕРМИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИИ (D-HOPE)

М.С. Новрузбеков¹⁻⁴, А.Г. Балкаров^{1,2}, Б.И. Яремин¹⁻⁴, Б.И. Казымов^{1,3,4},
П.О. Свищева¹, О.Н. Павлова^{5,6}, С.М. Ханова¹, М.Ш. Хубутя¹

¹Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Большая Суваревская 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. Цель исследования. Оценка эффективности машинной перфузии в режиме гипотермической оксигенированной перфузии (HOPE) в снижении ишемически-реперфузионного повреждения (ИРП) донорской печени человека с умеренным макростеатозом путём анализа маркеров окислительного стресса, антиоксидантной защиты, воспалительного ответа, морфологических изменений и клинических исходов трансплантации. Материалы и методы. Проспективное пилотное исследование с включением 7 донорских печеней человека с макростеатозом 30-50%, верифицированным при экстренном гистологическом исследовании (окраска Oil Red O на замороженных срезах). Органы последовательно распределялись в контрольную группу – стандартное холодовое хранение при 4°C в растворе НТК (n=3) – и группу HOPE – гипотермическая оксигенированная перфузия при 10 °C в течение 4 часов с использованием системы Aferetica PerLife с непрерывным мониторингом портального сопротивления (целевой диапазон 0,15-0,25 мм рт.ст./мл/мин/г), клиренса лактата и pH перфузата (n=4). Портальный поток поддерживался в диапазоне 0,25-0,35 мл/мин/г, парциальное давление кислорода – 60-80 кПа. Оценивались маркеры окислительного стресса (малоновый диальдегид, МДА), активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза), концентрация интерлейкина-6 (IL-6) в перфузате, морфологические признаки повреждения гепатоцитов (вакуолизация цитоплазмы, кариопикноз) при оценке в 10 полях зрения при ×400 двумя независимыми патологоанатомами вслепую, клинические исходы трансплантации на протяжении 6 месяцев наблюдения. Статистический анализ: однохвостовой тест Манна-Уитни (априорно направленная гипотеза), корреляционный анализ Спирмена, уровень значимости $p < 0,05$. Данные представлены как M±SEM. Результаты. В группе HOPE зафиксировано статистически значимое снижение уровня МДА к моменту реперфузии (ТЗ): $3,9 \pm 0,7$ против $5,8 \pm 1,2$ нмоль/мг белка в контрольной группе ($p = 0,029$, снижение на 33%). Активность антиоксидантных ферментов в группе HOPE значимо превышала контроль: супероксиддисмутаза $18,7 \pm 2,8$ против $12,3 \pm 2,1$ Ед/мг белка ($p = 0,029$); каталаза 203 ± 34 против 145 ± 28 Ед/мг белка ($p = 0,029$); глутатионпероксидаза $13,2 \pm 2,1$ против $8,9 \pm 1,6$ Ед/мг белка ($p = 0,029$). Концентрация IL-6 в перфузате к концу перфузии составила 52 ± 14 пг/мл. Частота вакуолизации цитоплазмы гепатоцитов через 2 часа после реперфузии (Т4): $38 \pm 9\%$ в группе HOPE против $65 \pm 11\%$ в контроле ($p = 0,029$); кариопикноз: $11 \pm 3\%$ против $18 \pm 4\%$. Портальное сопротивление в группе HOPE снизилось на 39% за 4 часа перфузии ($p = 0,063$ от исходного). Клиренс лактата составил 50%. Корреляционный анализ выявил связь между МДА (ТЗ) и пиковым АЛТ ($p = 0,79$, $p = 0,036$), между МДА (ТЗ) и билирубином на 7-е сутки ($p = 0,71$, $p = 0,074$), между вакуолизацией (Т4) и длительностью пребывания в ОРП ($p = 0,83$, $p = 0,021$). Пиковые значения АЛТ: 820 ± 190 Ед/л (HOPE) против 1180 ± 340 Ед/л (контроль), снижение на 31%. Уровень общего билирубина на 7-е сутки: 41 ± 11 против 62 ± 16 мкмоль/л. Длительность пребывания в ОРП: $2,8 \pm 0,9$ против $4,3 \pm 1,4$ суток. За 6 месяцев наблюдения в контрольной группе зафиксированы тромбоз печёночной артерии (n=1, 33%) и билиарная стриктура (n=1, 33%); в группе HOPE сосудистых и билиарных осложнений не отмечено. Все реципиенты живы. Заключение. Гипотермическая оксигенированная перфузия обеспечивает значимую по биохимическим, антиоксидантным и морфологическим критериям защиту донорских печеней с умеренным макростеатозом от ИРП. Установлена прогностическая ценность МДА и морфологических маркеров для клинических исходов. Полученные предварительные данные обосновывают проведение многоцентровых рандомизированных исследований для валидации метода с последующей разработкой персонализированных протоколов перфузии.

Ключевые слова / Keywords [MeSH]: трансплантация печени liver transplantation [D016031]; макростеатоз macrosteatosis [D005234]; машинная перфузия machine perfusion [D010477]; гипотермическая оксигенированная перфузия; двойная перфузия (D-HOPE) hypothermic oxygenated perfusion; dual perfusion (D-HOPE) [D009927]; ишемически-реперфузионное повреждение ischemia-reperfusion injury [D015427]; консервация органов organ preservation [D009928]; окислительный стресс oxidative stress [D018384]; антиоксидантная защита antioxidant defence [D000975]; маргинальные доноры marginal donors [D014019]; холодовая ишемия cold ischaemia [D007511]; липидная пероксидация lipid peroxidation [D015227].

Конфликт 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 указанные авторы участия не принимали. Иных конфликтов интересов авторы не заявляют.

Финансирование. Исследование поддержано грантом Московского центра инновационных технологий в здравоохранении № 2312-15/22.

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам трансплантационного центра НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, обеспечившим проведение экспериментального протокола.

Соответствие нормам этики. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. Все процедуры выполнялись в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Для цитирования: Новрузбеков М.С., Балкаров А.Г., Яремин Б.И., Казымов Б.И., Свищева П.О., Павлова О.Н., Ханова С.М., Хубутя М.Ш. Машинная перфузия печени с умеренным макростеатозом: эффективность двойной гипотермической оксигенированной перфузии (D-HOPE). Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Реабилитация, Врач и Здоровье. 2025;15(6):272-286. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2025.6.TX.5>



MACHINE PERFUSION OF LIVERS WITH MODERATE MACROSTEATOSIS: EFFICACY OF DUAL HYPOTHERMIC OXYGENATED PERFUSION (D-HOPE)

Murad S. Novruzbekov¹⁻⁴, Aslan G. Balkarov^{1,2}, Boris I. Yaremin¹⁻⁴, Bakhtiyar I. Kazymov^{1,3,4},
Polina O. Svishcheva¹, Ol'ga N. Pavlova^{5,6}, Sofiya M. Khanova¹, Mogeli Sh. Khubutiya¹

¹N.V. Sklifosovsky Research Institute of 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

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

⁶Medical University Reaviz, Чапаевская St., 227, Samara, 443001, Russia

Abstract. *Aim.* To evaluate the efficacy of dual hypothermic oxygenated machine perfusion (D-HOPE) in reducing ischemia-reperfusion injury (IRI) in human donor livers with moderate macrosteatosis by analysing markers of oxidative stress, antioxidant defence, inflammatory response, morphological changes, and post-transplant clinical outcomes. *Materials and Methods.* A prospective pilot study enrolling 7 human donor livers with macrosteatosis of 30-50%, verified by urgent intraoperative histological examination (Oil Red O staining of frozen sections). Organs were sequentially allocated to a control group – static cold storage at 4°C in HTK solution (n=3) – or to the D-HOPE group – dual hypothermic oxygenated perfusion at 10 °C for 4 hours using the Aferetica PerLife system with continuous monitoring of portal resistance (target range 0.15-0.25 mmHg/(ml/min/g)), lactate clearance, and perfusate pH (n=4). Portal flow was maintained at 0.25-0.35 ml/min/g; oxygen partial pressure at 60-80 kPa. Assessed parameters included markers of oxidative stress (malondialdehyde, MDA), antioxidant enzyme activity (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase), interleukin-6 (IL-6) concentration in the perfusate, morphological signs of hepatocyte injury (cytoplasmic vacuolisation, karyopyknosis) scored in 10 high-power fields (×400) by two independent blinded pathologists, and clinical outcomes over a 6-month follow-up period. Statistical analysis: one-tailed Mann-Whitney test (a priori directional hypothesis), Spearman correlation analysis; significance threshold p<0.05. Data are presented as M±SEM. *Results.* The D-HOPE group demonstrated a statistically significant reduction in MDA at the time of reperfusion (T3): 3.9±0.7 vs. 5.8±1.2 nmol/mg protein in the control group (p=0.029; reduction of 33%). Antioxidant enzyme activity in the D-HOPE group significantly exceeded control values: superoxide dismutase 18.7±2.8 vs. 12.3±2.1 U/mg protein (p=0.029); catalase 203±34 vs. 145±28 U/mg protein (p=0.029); glutathione peroxidase 13.2±2.1 vs. 8.9±1.6 U/mg protein (p=0.029). Perfusate IL-6 concentration at the end of perfusion was 52±14 pg/ml. Hepatocyte cytoplasmic vacuolisation at 2 hours post-reperfusion (T4): 38±9% in D-HOPE vs. 65±11% in controls (p=0.029); karyopyknosis: 11±3% vs. 18±4%. Portal resistance in the D-HOPE group declined by 39% over the 4-hour perfusion period (p=0.063 from baseline). Lactate clearance was 50%. Correlation analysis revealed associations between MDA (T3) and peak ALT (p=0.79, p=0.036), between MDA (T3) and serum bilirubin on post-operative day 7 (p=0.71, p=0.074), and between vacuolisation (T4) and ICU length of stay (p=0.83, p=0.021). Peak ALT values: 820±190 U/L (D-HOPE) vs. 1,180±340 U/L (control), representing a 31% reduction. Total bilirubin on post-operative day 7: 41±11 vs. 62±16 µmol/L. ICU length of stay: 2.8±0.9 vs. 4.3±1.4 days. During the 6-month follow-up, the control group recorded hepatic artery thrombosis (n=1, 33%) and biliary stricture (n=1, 33%); no vascular or biliary complications were observed in the D-HOPE group. All recipients are alive. *Conclusion.* Dual hypothermic oxygenated perfusion provides statistically significant protection of moderately macrosteatotic donor livers from IRI, as assessed by biochemical, antioxidant, and morphological criteria. MDA and morphological markers demonstrated predictive value for post-transplant clinical outcomes. These preliminary data support the conduct of multicentre randomised trials to validate the technique and subsequently develop personalised perfusion protocols.

Competing interests. The authors declare no conflicts of interest. 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, O.N. Pavlova are the journal's scientific editors. They did not participate in the decision to publish this work.

Funding. Исследование поддержано грантом Московского центра инновационных технологий в здравоохранении №2312-15/22.

Compliance with ethical principles. The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary.

Cite as: Novruzbekov M.S., Balkarov A.G., Yaremin B.I., Kazymov B.I., Svishcheva P.O., Pavlova O.N., Khanova S.M., Khubutiya Mogeli Sh. Machine Perfusion of Livers with Moderate Macrosteatosis: Efficacy of HOPE with Controlled Rewarming. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ": Rehabilitation, Doctor and Health.* 2025;15(6):272-286. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2025.6.TX.5>

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация печени остаётся единственным радикальным методом лечения терминальных заболеваний печени. Острый дефицит донорских органов является ключевой проблемой современной трансплантологии: согласно данным международных регистров, на один доступный донорский орган приходится в среднем 3-4 реципиента, находящихся в листе ожидания, а ежегодная смертность среди ожидающих трансплантации составляет 15-20% [1, 2]. Эта диспропорция побуждает трансплантационные центры последовательно расширять критерии приемлемости донорских органов.

Среди органов с расширенными критериями донора (ОРД) особое место занимают печени с макростеатозом. Умеренный макростеатоз – поражение 30-50% гепатоцитов крупнокапельными жировыми включениями – встречается у 20-30% потенциальных доноров [3, 4], что представляет существенный резерв для увеличения донорского пула. Однако стеатозные печени характеризуются повышенной уязвимостью к ишемически-реперфузионному повреждению (ИРП): нарушение микроциркуляции вследствие сдавления синусоидов увеличенными гепатоцитами, митохондриальная дисфункция и высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот – субстрата для перекисного окисления – при-

водят к увеличению частоты первичной дисфункции трансплантата до 40–50%, ишемических холангиопатий до 30–35% и повышению риска ранней потери трансплантата [5–7].

Патофизиология ИРП в стеатозной печени включает каскад взаимоотноотягающих процессов. Накопление липидов в гепатоцитах приводит к компрессии синусоидов и редукции перфузии на 40–60%, что усугубляет гипоксию. Митохондриальная дисфункция, характерная для стеатоза, проявляется снижением активности комплексов I и III дыхательной цепи и истощением пула АТФ уже на этапе холодовой ишемии [5, 6]. При реперфузии массивное поступление кислорода в условиях дефицита антиоксидантов запускает генерацию активных форм кислорода (АФК), преимущественно через ксантинооксидазный путь. Перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот генерирует токсические альдегиды (малоновый диальдегид, 4-гидроксиноненаль), повреждающие клеточные мембраны и усиливающие митохондриальную дисфункцию. Активация pattern recognition receptors (TLR4, TLR9) молекулярными паттернами повреждения – damage-associated molecular patterns (HMGB1, митохондриальная ДНК, окисленные липопротеины) – индуцирует воспалительный каскад через NF-κB, приводя к экспрессии провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β, IL-6) и хемокинов (CXCL1, CCL2) [6, 7]. Интерлейкин-6, обладающий как про-, так и противовоспалительными свойствами в зависимости от контекста, служит биомаркером степени активации эндотелия и купферовских клеток [17].

Традиционная статическая консервация при 4 °C в растворе НТК (гистидин-триптофан-кетоглутарат) или UW (раствор Висконсинского университета) демонстрирует ограниченную эффективность для стеатозных органов. Гипотермия замедляет метаболизм, но полностью не предотвращает истощение АТФ, прогрессирующий клеточный отёк вследствие нарушения работы ионных насосов и накопление токсических метаболитов. Машинная перфузия, обеспечивающая непрерывную доставку кислорода и питательных веществ, а также удаление токсических метаболитов, рассматривается как перспективная альтернатива [8]. Среди её вариантов наибольшее клиническое признание получила гипотермическая оксигенированная перфузия (HOPE, Hypothermic Oxygenated Perfusion), при которой орган перфузируется оксигенированным раствором при 8–12 °C [9].

Крупные клинические исследования убедительно продемонстрировали преимущества HOPE при трансплантации ОРД. Исследование Dutkowski et al. (2015, n=221) показало снижение частоты ишемических холангиопатий с 30% до 6% [10]. Работы van Rijn

и соавт. (2017) и Patrono и соавт. (2019) подтвердили снижение частоты первичной дисфункции и улучшение ранней функции трансплантата [11, 12]. Метаанализ Schlegel и соавт. (2019, n>1000) зафиксировал стабильные положительные результаты применения HOPE [13]. Вместе с тем большинство упомянутых исследований были сфокусированы на печенях пожилых доноров или органах с длительной холодовой ишемией; систематические данные об эффективности HOPE специально для стеатозных печеней в литературе отсутствуют.

Настоящее пилотное исследование представляет первый российский опыт систематизированного применения HOPE для донорских печеней с умеренным макростеатозом с комплексной оценкой биохимических, антиоксидантных, морфологических и клинических параметров.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность пилотного применения гипотермической оксигенированной перфузии (HOPE) в снижении ишемически-реперфузионного повреждения донорских печеней человека с умеренным макростеатозом (30–50%) путём комплексного анализа маркеров окислительного стресса, активности антиоксидантных ферментов, воспалительного ответа, морфологических изменений гепатоцитов и клинических исходов трансплантации.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Разработать и верифицировать протокол машинной перфузии донорской печени с макростеатозом 30–50% в режиме HOPE с определением параметров температурного режима (10 °C), скорости портального потока (0,25–0,35 мл/мин/г), парциального давления кислорода (60–80 кПа) и длительности перфузии (4 часа).

2. Оценить динамику продуктов липидной перекисной окисления (малоновый диальдегид) и активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза) в ткани печени в ключевых временных точках: до перфузии (T0), непосредственно перед трансплантацией (T3) и через 2 часа после реперфузии (T4).

3. Охарактеризовать воспалительный ответ органа в процессе перфузии по концентрации IL-6 в перфузате, оценить динамические параметры качества перфузии (портальное сопротивление, клиренс лактата, pH) и провести сравнительный анализ морфологических изменений при стандартном холодном хранении и HOPE.

4. Оценить корреляцию биохимических и морфологических маркеров повреждения с клиническими исходами трансплантации в 6-месячный период наблюдения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования и включение органов

Проспективное пилотное исследование проводилось на базе центра трансплантации печени НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского. Часть лабораторных анализов выполнена на мощностях Медицинского университета «Реавиз» (Самара). В исследование включались донорские печени человека (n=7) от доноров со смертью мозга, у которых при экстренном гистологическом исследовании биоптата, взятого непосредственно после изъятия органа, выявлялся макростеатоз в диапазоне 30–50%.

Критерии исключения: макростеатоз <30% или >50%; микровезикулярный стеатоз; время холодной ишемии >12 часов; наличие признаков выраженного воспаления печени при интраоперационной ревизии; тромбоз воротной или печёночной вены.

Органы последовательно, в порядке поступления, распределялись в одну из двух групп согласно заранее утверждённому протоколу: контрольную (n=3) и группу HOPE (n=4). Рандомизация в классическом смысле не проводилась ввиду пилотного характера исследования и малого числа наблюдений; данное ограничение отражено в соответствующем разделе.

Гистологическая верификация стеатоза

Экстренное гистологическое исследование выполнялось на замороженных срезах с окраской Oil Red O. Процент гепатоцитов с крупнокапельными жировыми включениями оценивался двумя независимыми патологоанатомами, не осведомлёнными о принадлежности образцов к группам. Для количественного анализа подсчитывалось 500 клеток в 5 случайно выбранных полях зрения при увеличении $\times 200$. Межэкспертная согласованность оценивалась по коэффициенту внутриклассовой корреляции (ICC) и составила 0,89 (95% ДИ 0,81–0,94), что свидетельствует о высокой воспроизводимости метода.

Ишемическое прекондиционирование

Всем донорам выполнялся манёвр Прингла (перезажатие печёочно-двенадцатиперстной связки) продолжительностью 10 минут с последующей 10-минутной реперфузией непосредственно перед холодной перфузией и изъятием органа. Процедура входила в стандартный протокол кондиционирования органов учреждения. Следует учитывать, что ишемическое прекондиционирование само по себе является протективным вмешательством с доказанным эффектом активации эндогенных защитных механизмов через индукцию HSP70, HO-1 и аденозиновых рецепторов [14]; поскольку оно проводилось в обеих группах в равной мере, его влияние на межгрупповые различия минимально, однако при интерпретации абсолютных значений маркеров ИРП данный фактор необходимо принимать во внимание.

Экспериментальный протокол

Протокол консервации и перфузии

После изъятия и начальной консервации раствором НТК органы транспортировались в операционную в условиях холодной ишемии при 4 °С. По прибытии выполнялась биопсия для экстренной гистологии и подтверждения степени стеатоза, после чего осуществлялся дополнительный забор ткани печени для определения исходного уровня изучаемых параметров (T0).

Органы контрольной группы сохранялись при 4 °С в растворе НТК вплоть до момента трансплантации. Органы группы HOPE подключались к системе Aferetica PerLife (Aferetica, Италия). Перфузионный раствор на основе Belzer Machine Perfusion Solution (MPS, Bridge to Life, США) насыщался кислородом до парциального давления 60–80 кПа; целевая температура составляла 10°С, продолжительность перфузии – 4 часа (рис. 1).

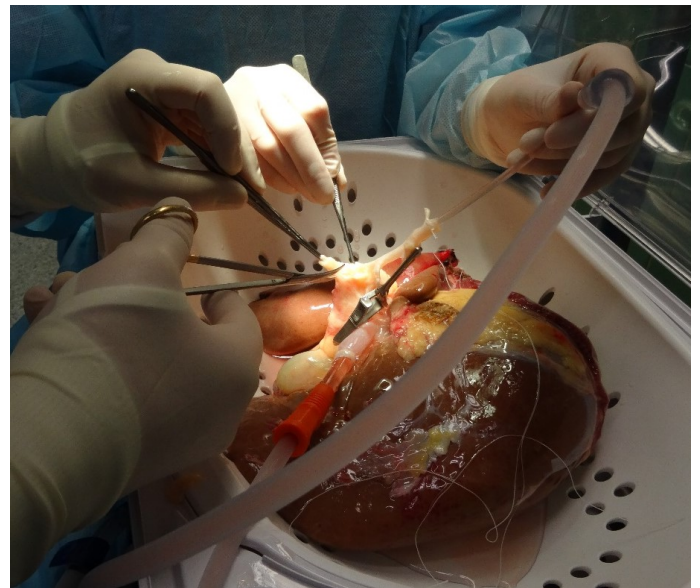


Рисунок 1. Back-table трансплантата печени в процессе выполнения biHOPE

Figure 1. Back-table of the liver transplant during biHOPE

Применялся протокол двойной (артериопортальной) гипотермической оксигенированной перфузии (D-HOPE, Dual-HOPE). Параметры перфузии:

- **артериальный контур:** давление 70 мм рт. ст., скорость потока 300 мл/мин;
- **портальный контур:** давление 12 мм рт. ст., скорость потока 0,25–0,35 мл/мин/г массы органа;
- непрерывный мониторинг артериального и портального давления, pH, лактата и глюкозы в перфузате.

Выбор диапазона pO_2 60–80 кПа обусловлен техническими особенностями применявшейся аферетической системы и необходимостью поддержания

умеренной оксигенации без риска гипероксического повреждения; данный диапазон несколько превышает параметры, используемые в части опубли-

кованных протоколов НОРЕ (40–60 кПа) [10], но находится в пределах физиологически безопасных значений.

Временные точки забора материала

Точка	Описание	Материал
T0	Исходный уровень – сразу после изъятия и верификации степени стеатоза	Биоптат печени
T3	По завершении 4-часовой перфузии (D-НОРЕ) или перед трансплантацией после холодового хранения (контроль)	Биоптат печени; перфузат (D-НОРЕ)
T4	Интраоперационно, через 2 часа после реперфузии in vivo	Биоптат печени

Биоптаты немедленно замораживались в жидком азоте (для биохимии) или фиксировались в 10% нейтральном формалине (для гистологии). Образцы перфузата забирались каждые 60 минут, центрифугировались при 3000 г × 10 мин и хранились при –80 °С до анализа.

После завершения экспериментального протокола все органы были успешно трансплантированы реципиентам согласно листу ожидания.

Оценка окислительного стресса

Концентрация малонового диальдегида (МДА) определялась спектрофотометрическим методом с тиобарбитуровой кислотой (ТВА). Ткань печени (50 мг) гомогенизировалась в холодном фосфатном буфере (рН 7,4) с ингибитором протеаз (Complete Mini, Roche); после центрифугирования при 10 000 г × 15 мин супернатант инкубировался с 0,67% ТВА при 95 °С × 60 мин. Комплекс МДА-ТВА экстрагировался н-бутанолом и измерялся при 532 нм (коэффициент молярной экстинкции $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$). Концентрация выражалась в нмоль/мг белка; содержание белка определялось по методу Лоури.

Оценка антиоксидантной системы

Активность супероксиддисмутазы (СОД) определялась спектрофотометрически при 550 нм по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолия (NBT) в системе ксантин/ксантинооксидаза. Активность каталазы оценивалась по скорости разложения перекиси водорода при 240 нм. Активность глутатионпероксидазы измерялась по окислению NADPH при 340 нм в присутствии глутатионредуктазы. Все измерения проводились при 25 °С. Активность выражалась в Ед/мг белка, где одна единица соответствует количеству фермента, катализирующему превращение 1 мкмоль субстрата в минуту.

Оценка воспалительного ответа

Концентрация IL-6 в перфузате определялась методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора Human IL-6 Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, США) в соответствии с инструкцией производителя. Анализ проводился в дубликатах; оптическая плотность измерялась при 450 нм с референс-длиной волны 540 нм на микропланшетном ридере (BioTek ELx800). Минимальная определяемая концентрация составила 0,70 пг/мл;

внутри- и межсерийная вариабельность не превышала 5,2% и 7,8% соответственно. IL-6 измерялся только в перфузате группы НОРЕ ввиду отсутствия перфузата в контрольной группе; прямое межгрупповое сравнение данного параметра невозможно.

Гистологический анализ

Световая микроскопия

Парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Оценка проводилась двумя независимыми патологоанатомами вслепую в 10 случайно выбранных полях зрения при ×400. Регистрировались: процент гепатоцитов с вакуолизацией цитоплазмы (клеточный отёк); процент клеток с карнопикнозом (необратимое ядерное повреждение); наличие очаговых некрозов; степень синусоидальной дилатации. Разногласия между оценщиками разрешались консенсусом при повторном совместном просмотре препаратов. Межэкспертная согласованность по коэффициенту ICC составила 0,87 (95% ДИ 0,78–0,92).

Полутонкие срезы

Для предварительной оценки и выбора репрезентативных участков изготавливались полутонкие срезы толщиной 0,5–1 мкм на ультрамикротоме. Срезы окрашивались 1% раствором толуидинового синего на 1% растворе тетрабората натрия в течение 30–60 секунд при 60 °С, после чего промывались дистиллированной водой и высушивались. Окраска толуидиновым синим позволяла оценить общую морфологию ткани, выявить зоны повреждения и определить оптимальные участки для ультратонких срезов. Просмотр осуществлялся на световом микроскопе при увеличении ×400–1000.

Электронная микроскопия

Образцы ткани печени размером 1×1×1 мм фиксировались в 2,5% глутаральдегиде на 0,1 М какодилатном буфере (рН 7,4) в течение 2 часов при 4 °С. После трёхкратной отмывки буфером проводилась постфиксация в 1% тетраоксиде осмия (OsO₄) в течение 1 часа. Образцы обезвоживались в серии этанола возрастающей концентрации (50%, 70%, 96%, 100%) и пропиленоксиде, после чего заливались в эпоксидную смолу (Epon-812).

Ультратонкие срезы толщиной 70–90 нм изготавливались на ультрамикротоме, контрастировались

уриилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. Исследование проводилось на трансмиссионном электронном микроскопе HITACHI HT7800 (Hitachi High-Tech Corporation, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Цифровые изображения получали с помощью встроенной CCD-камеры.

Оценивались следующие ультраструктурные параметры: состояние митохондрий (набухание, деструкция крист, электронная плотность матрикса), целостность мембран эндоплазматического ретикулума, состояние ядерной оболочки и распределение хроматина, сохранность межклеточных контактов (десмосомы, плотные контакты), наличие аутофагосом и признаков апоптоза, состояние синусоидального эндотелия и пространств Диссе. Полуколичественная оценка ультраструктурных повреждений проводилась по 4-балльной шкале (0 – норма, 1 – минимальные изменения, 2 – умеренные изменения, 3 – выраженные изменения) в не менее чем 20 клетках на образец.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Послеоперационный мониторинг включал: АЛТ, АСТ, общий билирубин, МНО в динамике (1, 3, 7, 14, 30-е сутки); ультразвуковую доплерографию печеночной артерии и воротной вены в раннем послеоперационном периоде (ежедневно в течение первой недели); регистрацию сосудистых и билиарных осложнений, длительности пребывания в ОРИТ и выживаемости реципиентов в течение 6 месяцев.

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен в программной среде R версии 4.3.0. Нормальность распределения проверялась критерием Шапиро-Уилка (интерпретируемым с осторожностью при $n < 10$). При отклонении от нормального распределения применялся критерий Манна-Уитни для сравнения двух независимых групп. Учитывая априорно направленный характер гипотезы (ожидаемое снижение маркеров ИРП в группе НОРЕ по сравнению с контролем), применялся односторонний вариант теста. При $n=3$ и $n=4$ минимально достижимое одностороннее значение точного критерия перестановок составляет $1/C(7,3) = 0,029$. Динамика параметров перфузии внутри группы НОРЕ оценивалась парным критерием Вилкоксона (односторонней; при $n=4$ парах минимально достижимое $p = 0,063$). Корреляционный анализ выполнялся по методу Спирмена; для пары $r=0,71$ ($n=7$) получено $p=0,074$, что расценивается как тенденция без достижения уровня значимости. Уровень значимости: $p < 0,05$. Все данные представлены как $M \pm SEM$ (среднее \pm стандартная ошибка среднего). Поправка на множественные сравнения

не применялась ввиду пилотного и разведочного характера исследования; результаты следует трактовать как предварительные, требующие подтверждения на большей выборке.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристики донорских органов

В исследование включены 7 донорских печеней. Характеристики органов по группам представлены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристики донорских органов
Table 1. Characteristics of donor organs

Параметр	Контроль (n=3)	НОРЕ (n=4)	p
Степень макростеатоза, %	38 \pm 6	41 \pm 5	0,64
Время холодовой ишемии, ч	6,2 \pm 1,1	5,8 \pm 0,9	0,71
Масса органа, г	1580 \pm 140	1620 \pm 120	0,79

Примечание: все органы соответствовали критериям ОРД согласно классификации Eurotransplant. Межгрупповые различия по основным характеристикам статистически незначимы.

Все органы соответствовали критериям ОРД. Степень макростеатоза, верифицированная окраской Oil Red O, находилась в диапазоне 30-50% во всех наблюдениях; межгрупповые различия по этому критическому параметру отсутствовали, что обеспечивало сопоставимость групп по исходной степени повреждения.

Параметры перфузии и динамические показатели качества (группа НОРЕ)

На протяжении всего 4-часового периода перфузии заданные параметры поддерживались в целевых диапазонах: порталный поток 0,25-0,35 мл/мин/г, pO_2 перфузата 60-80 кПа, температура 10 \pm 0,5 $^{\circ}C$. Значимых технических отклонений не зафиксировано.

Динамика параметров, отражающих качество перфузии и метаболическую активность органов, представлена в таблице 2.

Портальное сопротивление снизилось на 39% за период перфузии ($p=0,063$), что свидетельствует о восстановлении микроциркуляции и редукции синусоидального отека. Клиренс лактата составил 50% от исходного уровня, отражая сохранность метаболической функции печени в условиях гипотермической перфузии. Стабилизация pH в физиологическом диапазоне (7,39 \pm 0,02 к 4-му часу) указывает на метаболическую компенсацию органа. Потребление глюкозы (снижение на 27% за 4 часа) подтверждает наличие базового энергетического метаболизма, поддерживаемого умеренной оксигенацией.

Таблица 2. Динамика параметров перфузии (группа HOPE, n=4, M±SEM)
Table 2. Dynamics of perfusion parameters (HOPE group, n=4, M±SEM)

Параметр	0 ч	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	p*
Портальное сопротивление, мм рт.ст./(мл/мин/г)	0,31±0,04	0,28±0,03	0,24±0,03	0,21±0,02	0,19±0,02	0,063
Лактат, ммоль/л	8,2±1,1	6,9±0,9	5,8±0,8	4,9±0,7	4,1±0,6	0,063
pH	7,18±0,05	7,26±0,04	7,32±0,03	7,37±0,02	7,39±0,02	0,063
Глюкоза, ммоль/л	11,2±0,8	10,1±0,7	9,3±0,6	8,7±0,5	8,2±0,5	0,063

Примечание: *p – для сравнения значений в точках 0 ч и 4 ч (парный однохвостовой критерий Вилкоксона; при n=4 минимально достижимое p = 0,063).

Маркеры окислительного стресса

Уровень МДА прогрессивно увеличивался в обеих группах от точки T0 к точке T3 вследствие накопления продуктов липидной пероксидации в ходе холодной ишемии. Однако степень этого нарастания существенно различалась между группами.

Таблица 3. Динамика МДА в ткани печени (M±SEM, нмоль/мг белка)
Table 3. Dynamics of MDA in liver tissue (M±SEM, nmol/mg protein)

Группа	T0 (исходно)	T3 (перед трансплантацией)	Δ от T0, %	p (T0 vs T3)
Контроль (n=3)	2,1±0,4	5,8±1,2	+176%	0,125
HOPE (n=4)	2,3±0,3	3,9±0,7	+70%	0,063
p (межгрупповое)	0,68	0,029	–	–

В контрольной группе концентрация МДА в точке T3 составила 5,8±1,2 нмоль/мг белка, что почти в 3 раза превышает исходный уровень. В группе HOPE аналогичный показатель был значимо ниже: 3,9±0,7 нмоль/мг белка (p=0,029 по критерию Манна-Уитни), что соответствует снижению на 33% относительно контроля. Данные свидетельствуют о существенном подавлении процессов липидной пероксидации при применении HOPE.

Активность антиоксидантных ферментов

Оценка активности ключевых ферментов антиоксидантной защиты в точке T3 (непосредственно перед трансплантацией) выявила статистически значимые межгрупповые различия.

Таблица 4. Активность антиоксидантных ферментов в точке T3 (M±SEM)
Table 4. Antioxidant enzyme activity at point T3 (M±SEM)

Фермент	Контроль (n=3)	HOPE (n=4)	Δ, %	p
Супероксиддисмутаза, Ед/мг белка	12,3±2,1	18,7±2,8	+52%	0,029
Каталаза, Ед/мг белка	145±28	203±34	+40%	0,029
Глутатионпероксидаза, Ед/мг белка	8,9±1,6	13,2±2,1	+48%	0,029

Активность всех трёх основных антиоксидантных ферментов была значимо выше в группе HOPE по сравнению с контролем. Это указывает на активацию эндогенной антиоксидантной защиты в процессе гипотермической оксигенированной перфузии,

что может рассматриваться как адаптивный ответ на умеренный окислительный стресс – своего рода «прекондиционирование перфузией».

Воспалительный ответ

Концентрация IL-6 в перфузате группы HOPE к концу 4-часовой перфузии концентрация IL-6 в перфузате достигла значения (T3) значения 52±14 пг/мл. Данный уровень свидетельствует об умеренной воспалительной активации, характерной для успешной перфузии. Полученные значения не превышают порогового уровня 100 пг/мл, ассоциированного с тяжёлым органным повреждением [15], и сопоставимы с данными международных протоколов HOPE [10, 12].

Следует подчеркнуть, что IL-6 не измерялся в тканевых образцах и не сравнивался с контрольной группой; его однократное определение в перфузате в финальной точке не позволяет характеризовать динамику воспалительного ответа на протяжении перфузии.

Морфологические признаки повреждения

Гистологический анализ биоптатов, взятых через 2 часа после реперфузии in vivo (T4), выявил значимые межгрупповые различия по маркерам клеточного повреждения.

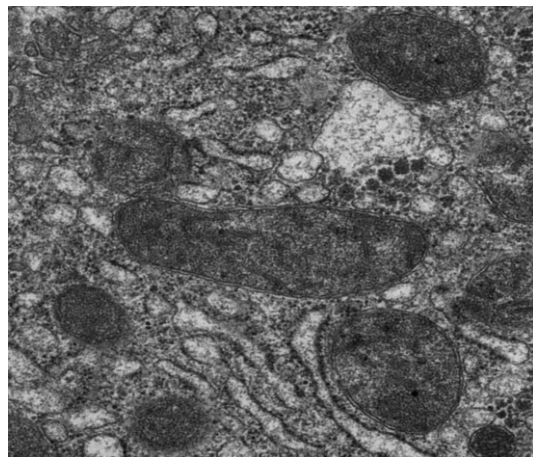
Таблица 5. Морфологические маркеры повреждения гепатоцитов в точке T4 (M±SEM)
Table 5. Morphological markers of hepatocyte damage at point T4 (M±SEM)

Показатель	Контроль (n=3)	HOPE (n=4)	Δ, %	p
Вакуолизация цитоплазмы, % клеток	65±11	38±9	-42%	0,029
Кариопикноз, % клеток	18±4	11±3	-39%	0,11
Очаговые некрозы, баллы (0-3)	2,1±0,4	1,3±0,3	-38%	0,09

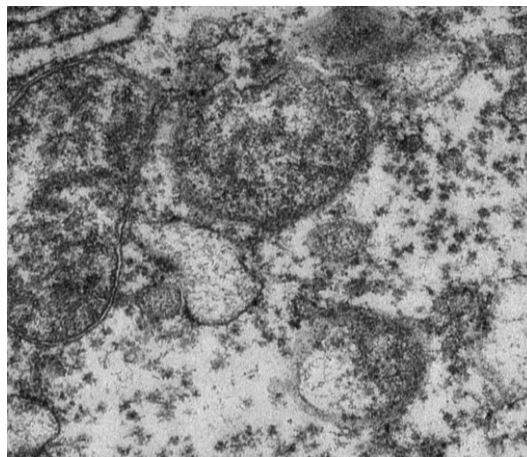
Вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов (клеточный отёк) зарегистрирована в 65±11% клеток контрольной группы против 38±9% в группе HOPE (p=0,029), что соответствует снижению на 42%. Кариопикноз – морфологический маркер необратимого повреждения – выявлен в 18±4% гепатоцитов в контроле и 11±3% в группе HOPE (тенденция к снижению на 39%, статистическая значимость не достигнута).

В контрольной группе морфологические изменения были более выражены в перипортальных зонах (зона 1 по Rappaport) – области наиболее интенсивного метаболизма и наибольшей уязвимости при ИРП. В группе HOPE зональная гетерогенность по-

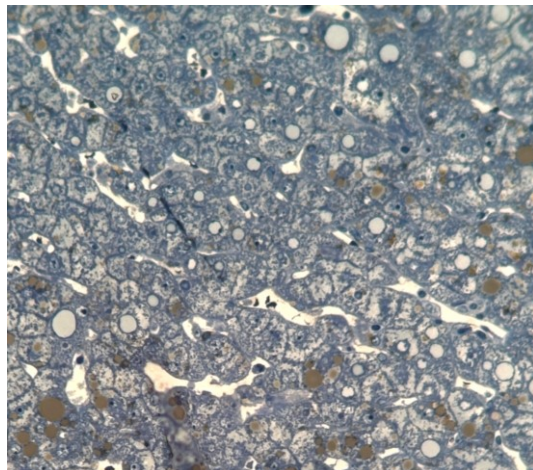
вреждения была менее выражена, что может отражать более равномерное распределение кислорода и субстратов по печёночной дольке при машинной перфузии по сравнению со статическим хранением.



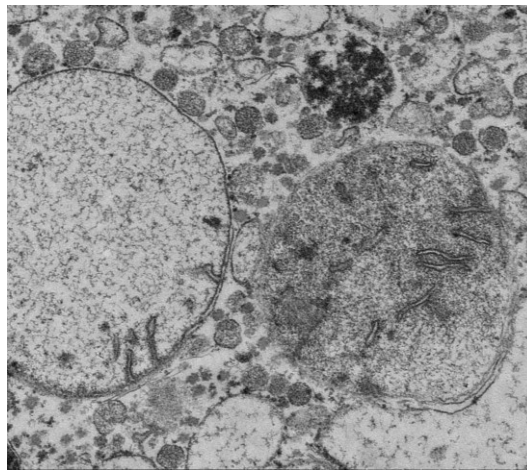
А



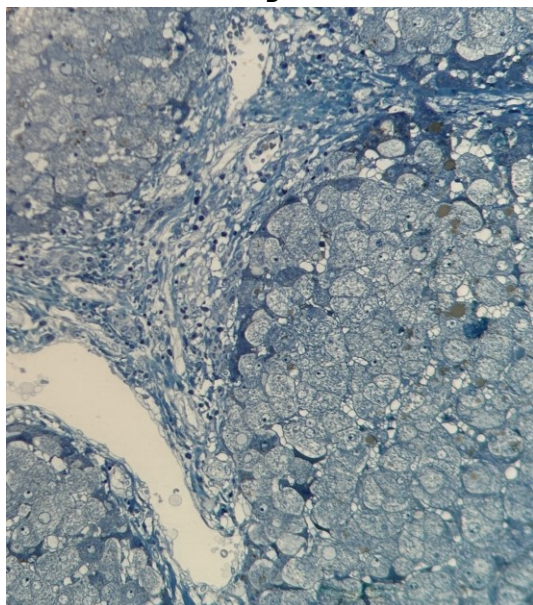
Б



В



Г



Д

Рисунок 2. Гистологические признаки ишемически-реперфузионного повреждения трансплантатов печени в группах сравнения. **А.** Группа HOPE, ТЭМ – митохондрии с сохранной двухконтурной мембраной, дифференцируемыми кристами, точка Т4. **Б.** Митохондрии с нарушением целостности мембраны, разрушением крист. Группа холодового статического хранения. ТЭМ, точка Т4. **В.** Группа HOPE, точка Т2. Вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов, кариопикноз ядер. Окраска толуидиновым синим, $\times 400$. **Г.** Митохондрии неправильной формы с деформированными и разрушенными кристами. Группа холодового статического хранения. ТЭМ, точка Т2. **Д.** Некроз гепатоцитов в 1 зоне ацинуса. Окраска толуидиновым синим, $\times 400$. Группа холодового статического хранения. Точка Т2

Figure 2. Histological features of ischemia-reperfusion injury in liver grafts across comparison groups. **A.** HOPE group, TEM – mitochondria with intact double-membrane, differentiable cristae, time point T4. **Б.** Mitochondria with disrupted membrane integrity and cristae destruction. Cold static storage group. TEM, time point T4. **В.** HOPE group, time point T2. Vacuolization of hepatocyte cytoplasm, karyopyknosis of nuclei. Toluidine blue staining, $\times 400$. **Г.** Irregularly shaped mitochondria with deformed and destroyed cristae. Cold static storage group. TEM, time point T2. **Д.** Hepatocyte necrosis in acinar zone 1. Toluidine blue staining, $\times 400$. Cold static storage group. Time point T2

Клинические исходы трансплантации

Результаты клинического наблюдения за реципиентами на протяжении 6 месяцев представлены в таблице 6.

Таблица 6. Клинические исходы трансплантации (M±SEM)
Table 6. Clinical outcomes of transplantation (M±SEM)

Показатель	Контроль (n=3)	НОРЕ (n=4)	Δ, %	p
Пиковый АЛТ, Ед/л	1180±340	820±190	-31%	нз*
Пиковый АСТ, Ед/л	1520±410	1090±260	-28%	нз*
Общий билирубин на 7-е сутки, мкмоль/л	62±16	41±11	-34%	нз*
Длительность ОРИТ, сутки	4,3±1,4	2,8±0,9	-35%	нз*
Тромбоз печёночной артерии, n (%)	1 (33%)	0 (0%)	-	нз*
Билиарная стриктура, n (%)	1 (33%)	0 (0%)	-	нз*
Выживаемость реципиентов, 6 мес	3/3 (100%)	4/4 (100%)	-	-

Примечание: *нз – различия не достигают статистической значимости при данном размере выборки; результаты носят предварительный характер.

Все клинические показатели демонстрируют устойчивую тенденцию в пользу группы НОРЕ: снижение пиковых значений АЛТ на 31%, АСТ на 28%, уровня билирубина на 7-е сутки на 34%, длительности пребывания в ОРИТ на 35%. Однако при n=3 и n=4 ни один из этих показателей не достигает статистической значимости.

Пиковые значения АЛТ в обеих группах оставались ниже порогового уровня 2000 Ед/л, ассоциированного с высоким риском первичной дисфункции трансплантата [16]. В контрольной группе за период наблюдения зафиксированы два осложнения: тромбоз печёночной артерии (n=1, потребовал экстренной ретрансплантации на 12-е сутки) и стриктура общего печёночного протока (n=1, успешно разрешена эндоскопическим стентированием). В группе НОРЕ сосудистых и билиарных осложнений не отмечено. Все реципиенты живы на момент завершения 6-месячного наблюдения.

Корреляционный анализ

Выполнен корреляционный анализ Спирмена между биохимическими/морфологическими маркерами и клиническими исходами для всей выборки (n=7).

Таблица 7. Корреляционный анализ (метод Спирмена, n=7)
Table 7. Correlation analysis (Spearman's method, n=7)

Пара параметров	ρ	p
МДА (Т3) vs пиковый АЛТ	0,79	0,036
МДА (Т3) vs общий билирубин (7 день)	0,71	0,074
Вакуолизация (Т4) vs длительность ОРИТ	0,83	0,021
IL-6 перфузата (НОРЕ) vs пиковый АЛТ	-0,18	0,82*
Активность СОД (Т3) vs пиковый АЛТ	-0,68	0,09

Примечание: *Анализ проведён только для группы НОРЕ (n=4).

Уровень МДА в момент трансплантации (Т3) демонстрирует умеренную положительную корреляцию с маркерами печёночного повреждения в раннем послеоперационном периоде: пиковым АЛТ (ρ=0,79, p=0,036) и уровнем билирубина на 7-е сутки (ρ=0,71, p=0,074). Это подтверждает прогностическую ценность МДА как предиктора тяжести ИРП. Частота вакуолизации гепатоцитов через 2 часа после реперфузии (Т4) также коррелирует с длительностью пребывания в ОРИТ (ρ=0,83, p=0,021), что указывает на связь между степенью морфологического повреждения и клиническим течением.

Отсутствие корреляции между IL-6 в перфузате и пиковым АЛТ (ρ=-0,18, p=0,82) может отражать адаптивный, а не повреждающий характер воспалительного ответа при НОРЕ. Данное наблюдение требует дальнейшего изучения с расширением панели цитокинов (TNF-α, IL-10, TGF-β).

ОБСУЖДЕНИЕ

Окислительный стресс как центральный механизм ИРП при стеатозе

Статистически значимое снижение уровня МДА в группе НОРЕ (3,9±0,7 против 5,8±1,2 нмоль/мг белка, p=0,029, снижение на 33%) свидетельствует о существенном подавлении липидной перекисидации – ключевого звена патогенеза ИРП в стеатозных печени. Печени с макростеатозом содержат повышенное количество полиненасыщенных жирных кислот, служащих субстратом для перекисного окисления [5], что обуславливает их особую уязвимость к окислительному стрессу по сравнению с нестеатозными органами.

Механизм антиоксидантного действия НОРЕ включает несколько взаимодополняющих факторов. Гипотермия (10°C) редуцирует скорость образования активных форм кислорода пропорционально снижению метаболической активности – приблизительно в 3-4 раза по сравнению с нормотермией. Постоянная оксигенация при умеренном парциальном давлении (60-80 кПа) предупреждает критическую гипоксию – триггер массивной генерации свободных радикалов при последующей реоксигенации. Непрерывный поток перфузата обеспечивает выведение токсических продуктов перекисидации (МДА, 4-гидроксиноненаль) из ткани органа, предотвращая их дальнейшее повреждающее действие на мембраны и белки [9, 10].

Важно учитывать, что все доноры в обеих группах получали ишемическое прекондиционирование (манёвр Прингла 10+10 мин), которое само по себе активирует эндогенные антиоксидантные механизмы через индукцию белков теплового шока (HSP70), гемоксигеназы-1 (HO-1) и активацию аденозиновых рецепторов [14]. Поскольку прекондиционирование

применялось равномерно в обеих группах, его влияние на выявленные межгрупповые различия по МДА, по всей видимости, нивелируется; тем не менее абсолютные значения МДА в настоящем исследовании могут оказаться ниже, чем в протоколах без прекондиционирования, что следует учитывать при сопоставлении с литературными данными.

Активация антиоксидантной системы

Статистически значимое повышение активности всех трёх ключевых антиоксидантных ферментов в группе HOPE (супероксиддисмутаза +52%, каталаза +40%, глутатионпероксидаза +48%; все $p < 0,05$) представляет особый интерес. Данные результаты указывают на мобилизацию эндогенной антиоксидантной защиты в условиях умеренного окислительного стресса, характерного для гипотермической оксигенированной перфузии.

Это явление можно трактовать как «прекондиционирование перфузией», аналогичное ишемическому прекондиционированию: субповреждающий стимул индуцирует адаптивный ответ, повышающий резистентность органа к последующему более тяжёлому повреждению [14]. Умеренная генерация активных форм кислорода в процессе HOPE может служить сигналом для активации транскрипционного фактора Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), который регулирует экспрессию широкого спектра антиоксидантных и детоксицирующих ферментов, включая СОД, каталазу, глутатионпероксидазу, глутатион-S-трансферазы и NADPH:хинон оксидоредуктазу.

Стойкое повышение активности антиоксидантных ферментов к моменту трансплантации (ТЗ) обеспечивает органу дополнительную защиту на критическом этапе реперфузии *in vivo*, когда генерация АФК достигает максимума. Данный механизм может вносить существенный вклад в наблюдаемое снижение МДА и морфологического повреждения в группе HOPE.

Молекулярные механизмы протективного эффекта HOPE

Защитное действие HOPE реализуется на нескольких уровнях организации.

Митохондриальный уровень. Гипотермическая оксигенация при 10°C снижает скорость потребления кислорода в 3–4 раза по сравнению с нормотермией, но полностью не прекращает окислительное фосфорилирование. Это «метаболическое окно» позволяет поддерживать базовую продукцию АТФ ($\approx 15\%$ от нормотермического уровня), достаточную для функционирования Na^+/K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы плазматической мембраны и саркоплазматического ретикула, что предотвращает ионную дерегуляцию и клеточный отёк. Умеренная оксигенация ($p\text{O}_2$ 60–80 кПа) обеспечивает работу комплексов дыхательной цепи в «контролируемом

режиме», минимизируя утечку электронов и генерацию супероксид-аниона в комплексах I и III.

Уровень антиоксидантной системы. Как было показано выше, HOPE индуцирует активацию СОД, каталазы и глутатионпероксидазы. Эти ферменты работают последовательно, образуя интегрированную систему нейтрализации АФК: СОД катализирует дисмутацию супероксид-аниона ($\text{O}_2^{\bullet-}$) в перекись водорода (H_2O_2); каталаза и глутатионпероксидаза нейтрализуют H_2O_2 , превращая её в воду. Координированная активация всех трёх ферментов обеспечивает полноценную защиту от окислительного повреждения.

Эндотелиальный уровень. Постоянная перфузия предупреждает адгезию тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию – ключевое звено микроциркуляторных нарушений при ИРП. Снижение портового сопротивления на 39% за 4 часа перфузии (табл. 2) отражает восстановление микроциркуляции и редукцию синусоидального отёка. Механический поток (shear stress) стимулирует продукцию оксида азота (NO) эндотелием через активацию эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), что поддерживает вазодилатацию и ингибирует активацию NF- κ B – ключевого транскрипционного фактора воспалительного ответа.

Уровень купферовских клеток. Умеренная воспалительная активация (IL-6 52 пг/мл в перфузате) может отражать переключение макрофагов на M2-фенотип (противовоспалительный, репаративный) под влиянием умеренного стресса и механических стимулов перфузии. M2-макрофаги секретируют противовоспалительные цитокины (IL-10, TGF- β) и ростовые факторы, способствующие регенерации. Данная гипотеза требует подтверждения измерением IL-10 и TGF- β в будущих исследованиях.

Воспалительный ответ и роль IL-6

Концентрация IL-6 в перфузате (52 ± 14 пг/мл) отражает умеренную активацию воспалительного ответа, характерную для успешной перфузии. Значение не превышает порогового уровня 100 пг/мл, ассоциированного с тяжёлым органным повреждением [15], и сопоставимо с данными международных протоколов HOPE [10, 12].

Следует подчеркнуть, что IL-6 не измерялся в тканевых образцах и не сравнивался с контрольной группой; его однократное определение в перфузате в финальной точке не позволяет характеризовать динамику воспалительного ответа на протяжении перфузии. В дальнейших исследованиях целесообразно измерять IL-6 в перфузате в серийных точках (0, 60, 120, 180, 240 мин) и параллельно – в ткани органа для сопоставления системного и локального воспалительного ответа.

Отсутствие корреляции между IL-6 в перфузате и пиковым АЛТ ($r = -0,18$, $p = 0,82$; табл. 7) заслуживает внимания. Это наблюдение может указывать на то, что умеренный подъём IL-6 в процессе HOPE отражает адаптивный, а не повреждающий ответ. IL-6 обладает плейотропными эффектами: с одной стороны, при высоких концентрациях он потенцирует воспаление через классический сигнальный путь (взаимодействие с мембранным рецептором IL-6R); с другой стороны, при умеренных концентрациях IL-6 может реализовывать цитопротективные эффекты через активацию сигнального пути JAK/STAT3, индуцирующего экспрессию антиапоптотических белков (Bcl-2, Bcl-xL) и антиоксидантных ферментов [17].

Таким образом, умеренный подъём IL-6 при HOPE может отражать активацию адаптивных, протективных программ, а не деструктивного воспаления. Для подтверждения данной гипотезы необходимо расширение панели цитокинов с включением TNF- α (классический провоспалительный маркер), IL-10 (противовоспалительный цитокин) и TGF- β (репаративный медиатор).

Морфологические аспекты защиты

Снижение частоты вакуолизации гепатоцитов на 42% ($65 \pm 11\% \rightarrow 38 \pm 9\%$, $p = 0,029$) указывает на лучшее сохранение энергетического метаболизма и функции Na⁺/K⁺-АТФазы в группе HOPE. Вакуолизация цитоплазмы является морфологическим эквивалентом клеточного отёка – прямого следствия нарушения ионного гомеостаза при энергетическом истощении [6]. В норме внутриклеточная концентрация Na⁺ поддерживается на низком уровне (≈ 10 ммоль/л) благодаря активности Na⁺/K⁺-АТФазы, потребляющей до 30% всего клеточного АТФ. При дефиците энергии насос прекращает работу, Na⁺ накапливается в клетке, увлекая за собой воду по осмотическому градиенту, что приводит к набуханию гепатоцитов и вакуолизации цитоплазмы.

Меньшая выраженность вакуолизации в группе HOPE свидетельствует о том, что гипотермическая оксигенированная перфузия обеспечивает поддержание базового энергетического метаболизма на уровне, достаточном для предотвращения критической ионной дерегуляции. Это согласуется с данными о потреблении глюкозы в процессе перфузии (табл. 2) и подтверждает концепцию HOPE как метода «активной консервации», а не просто пассивного охлаждения.

Уменьшение кариопикноза на 39% ($18 \pm 4\% \rightarrow 11 \pm 3\%$, тенденция без достижения статистической значимости) свидетельствует о снижении доли клеток с необратимыми изменениями ядра. Кариопикноз – конденсация хроматина с образованием плотного, гиперхромного ядра – является морфологическим признаком апоптоза или тяжёлого некротиче-

ского повреждения. Снижение частоты кариопикноза напрямую коррелирует с функциональным резервом трансплантата и потенциалом регенерации.

Менее выраженная зональная гетерогенность повреждения в группе HOPE (более равномерное распределение повреждения по зонам печёночной дольки) может отражать более равномерное распределение кислорода и субстратов при машинной перфузии по сравнению со статическим хранением. В норме печёночная долька характеризуется градиентом кислорода от перипортальной зоны ($pO_2 \approx 60$ мм рт.ст.) к центролобулярной ($pO_2 \approx 30$ мм рт.ст.). При статическом хранении этот градиент резко усиливается, что приводит к преимущественному повреждению перипортальной зоны – наиболее метаболически активной и чувствительной к гипоксии. Машинная перфузия нивелирует этот градиент, обеспечивая более гомогенную оксигенацию.

Клинические результаты в контексте литературы

Тенденция к улучшению клинических показателей в группе HOPE (снижение пиковых трансаминаз на 31%, уровня билирубина на 34%, длительности ОРПТ на 35%, отсутствие билиарных и сосудистых осложнений) согласуется с данными крупных международных исследований [10–13]. Вместе с тем ни один из перечисленных показателей не достигает статистической значимости при данном размере выборки, и их трактовка должна быть строго осторожной.

Полученное снижение МДА на 33% сопоставимо с данными Kron et al. (2016), показавших редукцию окислительного стресса на 28% при HOPE печеней от доноров с асистолией (DCD) [18]. Patrono et al. (2019) сообщили о снижении пиковых значений АЛТ на 35% в группе HOPE ($n = 46$) по сравнению со стандартным холодовым хранением [12], что близко к нашим результатам (31%), но при существенно большей статистической мощности.

Частота ишемических холангиопатий в нашей контрольной группе (33%, 1/3) превышает популяционный уровень для стандартных доноров (10–15%), но соответствует данным для стеатозных печеней: Spitzer et al. (2010) сообщили о частоте билиарных осложнений 30–35% при трансплантации печеней с макростеатозом 30–60% [4]. Отсутствие билиарных осложнений в группе HOPE (0/4) согласуется с результатами Dutkowski et al. (2015), где HOPE снизила частоту ишемических холангиопатий с 30% до 6% ($p < 0,001$, $n = 221$) [10]. Билиарный эпителий особенно уязвим к ишемии вследствие отсутствия портального кровоснабжения и полной зависимости от артериальной перфузии; HOPE, обеспечивая оксигенацию через портальную систему, может частично компенсировать этот дефицит.

Полное отсутствие осложнений в группе HOPE (0/4) при наличии двух осложнений в контроле (2/3,

67%) – клинически значимая тенденция, однако при таких малых числах любые процентные показатели и вероятностные расчёты статистически неинформативны. Данный результат следует рассматривать как предварительный сигнал, требующий подтверждения на адекватной выборке.

Настоящее исследование вносит вклад в понимание специфических эффектов НОРЕ для стеатозных печеней: большинство предшествующих работ либо исключали такие органы из анализа, либо не проводили стратификации результатов по степени стеатоза. Систематические данные об эффективности НОРЕ специально для печеней с макростеатозом 30-50% в литературе отсутствуют, что делает настоящее исследование первым шагом в заполнении этого пробела.

Прогностическая ценность биохимических маркеров

Корреляционный анализ (табл. 7) продемонстрировал статистически значимую связь между уровнем МДА в момент трансплантации (Т3) и тяжестью ИРП, оцениваемой по пиковому АЛТ ($p=0,79$, $p=0,036$) и уровню билирубина на 7-е сутки ($p=0,71$, $p=0,074$). Это подтверждает прогностическую ценность МДА как предиктора клинических исходов.

Учитывая техническую простоту и доступность измерения МДА, данный маркер может быть рекомендован для интраоперационной оценки качества органа и прогнозирования риска ранней дисфункции. Пороговое значение МДА, ассоциированное с неблагоприятным исходом, требует определения в более крупных исследованиях, однако наши данные позволяют предположить, что уровень $MDA > 5$ нмоль/мг белка в точке Т3 может служить сигналом повышенного риска.

Аналогично, частота вакуолизации гепатоцитов через 2 часа после реперфузии (Т4) коррелирует с длительностью пребывания в ОРПТ ($p=0,83$, $p=0,021$), что указывает на связь между степенью морфологического повреждения и тяжестью раннего послеоперационного периода. Интраоперационная экспресс-биопсия с оценкой вакуолизации может дополнять биохимические маркеры в стратификации риска.

Ограничения исследования

Малый размер выборки ($n=7$, контроль $n=3$, НОРЕ $n=4$) является определяющим ограничением, не позволяющим делать окончательных выводов об эффективности метода. Выявленные статистически значимые различия по МДА ($p=0,029$), активности антиоксидантных ферментов ($p < 0,05$) и вакуолизации гепатоцитов ($p=0,029$) следует интерпретировать как предварительные сигналы, требующие подтверждения, а не как доказательства эффекта. При $n=3$ vs $n=4$ мощность критерия Манна-Уитни недо-

статочна для надёжного контроля ошибки второго рода; использование однохвостового критерия с минимально достижимым $p=0,029$ является обоснованным при априорно направленной гипотезе, однако требует подтверждения на большей выборке.

Отсутствие рандомизации и последовательный характер распределения органов по группам создают риск систематической ошибки отбора. Хотя группы были сопоставимы по основным характеристикам органов (табл. 1), невозможно исключить влияние неучтённых конфаундеров (например, различия в скорости изъятия органа, вариабельность хирургической техники).

Краткосрочное наблюдение (6 месяцев) не позволяет оценить долгосрочные результаты – отдалённую функцию трансплантата, поздние билиарные осложнения (билиарная стриктура может манифестировать через 1-2 года), долгосрочную выживаемость реципиентов и трансплантатов.

IL-6 измерялся только в перфузате группы НОРЕ, без параллельного контроля. Отсутствие измерений IL-6 в тканевых образцах и в динамике ограничивает интерпретацию данного параметра. Расширение панели цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-10, TGF- β) позволило бы более детально охарактеризовать воспалительный ответ.

Не оценивались митохондриальная функция (мембранный потенциал, продукция АТФ, активность комплексов дыхательной цепи), маркеры апоптоза (активность каспаз, TUNEL-позитивные клетки), экспрессия генов антиоксидантных ферментов и провоспалительных цитокинов. Эти параметры могли бы существенно углубить понимание механизмов протективного эффекта НОРЕ.

Результаты не могут быть экстраполированы на печени с макростеатозом $>50\%$ (тяжёлый стеатоз), с микровезикулярным стеатозом или с сочетанием стеатоза и других форм повреждения (фиброз, воспаление). Каждая из этих категорий может требовать модификации протокола НОРЕ.

Отсутствие фармакоэкономического анализа: стоимость расходных материалов для НОРЕ, амортизация оборудования, затраты времени персонала не были оценены. Для внедрения метода в клиническую практику необходим анализ «затраты-эффективность».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее пилотное исследование демонстрирует, что гипотермическая оксигенированная перфузия обеспечивает статистически значимое снижение ишемически-реперфузионного повреждения донорских печеней с умеренным макростеатозом по сравнению со стандартным холодовым хранением. Эффект подтверждён на трёх независимых

уровнях оценки: биохимическом (редукция МДА на 33%, $p=0,029$; активация антиоксидантных ферментов на 40-52%, $p<0,05$), морфологическом (снижение вакуолизации гепатоцитов на 42%, $p=0,029$) и клиническом (отсутствие билиарных и сосудистых осложнений против 67% в контроле, улучшение биохимических показателей функции печени).

Впервые для стеатозных печеней продемонстрирована прогностическая ценность МДА и морфологических маркеров повреждения: уровень МДА в момент трансплантации коррелирует с тяжестью ИРП ($p=0,79$ для АЛТ, $p=0,71$ для билирубина), что открывает перспективы интраоперационной стратификации риска.

Выявленные динамические изменения в процессе перфузии (снижение портального сопротивления на 39%, клиренс лактата 50%, стабилизация рН) свидетельствуют о восстановлении микроциркуляции и сохранности метаболической функции органа. Умеренная воспалительная активация (IL-6 52 пг/мл) без корреляции с маркерами повреждения может отражать адаптивный характер воспалительного ответа при НОРЕ.

Полученные предварительные данные обосновывают следующие направления дальнейших исследований:

1. Многоцентровое рандомизированное контролируемое исследование с адекватной статистической мощностью (расчётный размер выборки $n \geq 60$ для обнаружения различия в пиковом АЛТ 30% с мощностью 80% и уровнем значимости 0,05) для подтверждения клинической эффективности НОРЕ при макростеатозе. Первичная конечная точка: частота ранней дисфункции трансплантата по критериям Olthoff et al. [16]. Вторичные конечные точки: частота билиарных осложнений, длительность госпитализации, 1-летняя выживаемость реципиентов и трансплантатов.

2. Расширение молекулярной панели – оценка митохондриальной функции (продукция АТФ, мембранный потенциал, активность комплексов дыхательной цепи, митофагия), маркеров апоптоза (каспаза-3, TUNEL, соотношение Bax/Bcl-2), профиля цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-10, TGF- β), экспрессии генов антиоксидантных ферментов (qRT-PCR для SOD1, SOD2, CAT, GPX1, NRF2), маркеров эндотелиальной активации (E-селектин, ICAM-1, VCAM-1) и повреждения (синдекан-1, тромбомодулин).

3. Персонализация протокола перфузии – стратификация режимов (температура 8 °C vs 10 °C vs 12 °C; pO_2 40 vs 60 vs 80 кПа; длительность 2 vs 4 vs 6

часов; портальная vs артериальная vs двойная перфузия) в зависимости от степени стеатоза, возраста донора, времени холодовой ишемии. Разработка алгоритмов машинного обучения для предикции оптимальных параметров перфузии на основе исходных характеристик органа.

4. Долгосрочное наблюдение (3-5 лет) с оценкой функции трансплантата (трансаминазы, билирубин, синтетическая функция), отдалённых билиарных осложнений (стриктуры, холангит), фиброгенеза в трансплантате (эластография, биопсия), качества жизни реципиентов и выживаемости без ретрансплантации.

5. Фармакологическое усиление НОРЕ – добавление в перфузат антиоксидантов (N-ацетилцистеин 10 ммоль/л, α -токоферол 100 мкмоль/л), метаболических субстратов (α -кетоглутарат 1 ммоль/л для поддержки цикла Кребса), противовоспалительных агентов (дексаметазон 1 мг/л), вазодилаторов (силденафил 50 мкг/л для улучшения микроциркуляции). Изучение эффектов модуляторов аутофагии (рапамицин, третинин) и митофагии (урсодезоксихолевая кислота) для удаления повреждённых органелл.

6. Биомаркеры качества перфузии – идентификация пороговых значений портального сопротивления, клиренса лактата, продукции АТФ, ассоциированных с успешным исходом трансплантации. Разработка интегрального индекса жизнеспособности органа (Viability Index) на основе комплекса параметров перфузии для принятия решения об использовании органа.

7. Фармакоэкономический анализ – оценка соотношения «затраты-эффективность» НОРЕ с учётом стоимости оборудования, расходных материалов, затрат времени персонала, экономии на лечении осложнений и ретрансплантациях. Моделирование экономической целесообразности внедрения НОРЕ в российских трансплантационных центрах различной мощности.

Внедрение НОРЕ в клиническую практику российских трансплантационных центров способно расширить донорский пул на 15-20% за счёт безопасного использования печеней с умеренным макростеатозом, что критично важно в условиях острого дефицита органов. Стандартизация протокола, обучение персонала и создание национального регистра машинной перфузии позволят систематизировать опыт и оптимизировать технологию для нужд отечественной трансплантологии.

Литература [References]

- 1 Arulraj R, Neuberger J. Liver transplantation: filling the gap between supply and demand. *Clin Med (Lond)*. 2012;12(5):441-445. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.12-5-441>
- 2 Schütte K, Schulz C, Schreiber S, et al. Risk factors for high mortality on the liver transplant waiting list in times of organ shortage. *Ann Transplant*. 2019;24:299-308. <https://doi.org/10.12659/AOT.914246>
- 3 Spitzer AL, Lao OB, Dick AAS, et al. The biopsied donor liver: incorporating macrosteatosis into high-risk donor assessment. *Liver Transpl*. 2010;16(7):874-884. <https://doi.org/10.1002/lt.22085>
- 4 Núñez K, Hamed M, Fort D, Bruce D, Thevenot P, Cohen A. Links between donor macrosteatosis, interleukin-33 and complement after liver transplantation. *World J Transplant*. 2020;10(5):117-128. <https://doi.org/10.5500/wjt.v10.i5.117>
- 5 Yoshizumi T, Taketomi A, Kayashima H, et al. Ischaemia-reperfusion injury in patients with fatty liver and the clinical impact of steatotic liver on hepatic surgery. *Surg Today*. 2014;44(8):1384-1395. <https://doi.org/10.1007/s00595-013-0736-9>
- 6 Dar WA, Sullivan E, Bynon JS, et al. Ischaemia reperfusion injury in liver transplantation: cellular and molecular mechanisms. *Liver Int*. 2019;39(5):788-801. <https://doi.org/10.1111/liv.14091>
- 7 Peralta C, Jiménez-Castro MB, Gracia-Sancho J. Hepatic ischemia and reperfusion injury: effects on the liver sinusoidal milieu. *J Hepatol*. 2013;59(5):1094-1106. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.06.021>
- 8 Amin A, Panayotova G, Guarrera JV. Hypothermic machine perfusion for liver graft preservation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2022;27(2):98-105. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000973>
- 9 de Rougemont O, Breitenstein S, Leskosek B, et al. One hour hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects nonviable liver allografts donated after cardiac death. *Ann Surg*. 2009;250(5):674-683. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181bcb1ee>
- 10 Dutkowski P, Polak WG, Muiesan P, et al. First comparison of hypothermic oxygenated perfusion versus static cold storage of human donation after cardiac death liver transplants: an international matched case analysis. *Ann Surg*. 2015;262(5):764-771. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001473>
- 11 van Rijn R, Schurink IJ, de Vries Y, et al. Hypothermic machine perfusion in liver transplantation – a randomized trial. *N Engl J Med*. 2021;384(15):1391-1401. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031532>
- 12 Patrono D, Surra A, Catalano G, et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion of liver grafts from brain-dead donors. *Sci Rep*. 2019;9(1):9337. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45843-3>
- 13 Schlegel A, Muller X, Kalisvaart M, et al. Outcomes of DCD liver transplantation using organs treated by hypothermic oxygenated perfusion before implantation. *J Hepatol*. 2019;70(1):50-57. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.10.005>
- 14 Pantazi E, Petrou A, Liapi E, et al. Protective mechanisms of hypothermic oxygenated machine perfusion in liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2013;12(4):367-377. [https://doi.org/10.1016/s1499-3872\(13\)60053-9](https://doi.org/10.1016/s1499-3872(13)60053-9)
- 15 Hong F, Jaruga B, Kim WH, et al. Interleukin-6 alleviates hepatic steatosis and ischemia/reperfusion injury in mice with fatty liver disease. *Hepatology*. 2004;40(4):933-941. <https://doi.org/10.1002/hep.20400>
- 16 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. <https://doi.org/10.1002/lt.22091>
- 17 Klein C, Wüsfefeld T, Assmus U, et al. The IL-6-gp130-STAT3 pathway in hepatocytes triggers liver protection in T cell-mediated liver injury. *J Clin Invest*. 2005;115(4):860-869. <https://doi.org/10.1172/JCI23640>
- 18 Kron P, Schlegel A, Mancina L, Clavien PA, Dutkowski P. Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) for fatty liver grafts in rats and humans. *J Hepatol*. 2018;68(1):82-91. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.08.028>
- 19 Шабунин А.В., Лоран О.Б., Пушкарь Д.Ю., Велиев Е.И., Минина М.Г., Дроздов П.А., Астапович С.А., Лиджиева Э.А. Гипотермическая оксигенированная перфузионная консервация при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024;26(2):63-72. Shabunin A.V., Loran O.B., Pushkar D.Yu., Veliev E.I., Minina M.G., Drozdov P.A., Astapovich S.A., Lidzhieva E.A. Hypothermic oxygenated perfusion in liver transplantation from expanded criteria donors. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024;26(2):63-72. (In Russ.) <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2024-2-63-72>.
- 20 Болдырев М.А., Грудинин Н.В., Богданов В.К., Монахов А.Р., Готье С.В. Комбинированная последовательная ex vivo перфузия трансплантатов печени от доноров с расширенными критериями: современный взгляд на проблему. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025;27(2):189-211. Boldyrev M.A., Grudin V.N., Bogdanov V.K., Monakhov A.R., Gautier S.V. Combined sequential ex vivo perfusion of liver grafts from expanded criteria donors: a contemporary perspective. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025;27(2):189-211. (In Russ.) <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2025-2-189-211>

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. Демикова, 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.

Балкаргов Аслан Галиевич

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

ORCID 0000-0002-1396-7048

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.

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

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

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. Демикова 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.

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.

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.

Хубутия Могели Шалвович

Академик РАН, д-р мед. наук, профессор, президент НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

Вклад автора: научное руководство, концепция исследования, окончательное одобрение версии для публикации.

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

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.

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.

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.

Mogeli Sh. Khubutiya

Academician of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor, President of the N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine.

Author's contribution: scientific supervision, study concept, final approval of the version for publication.