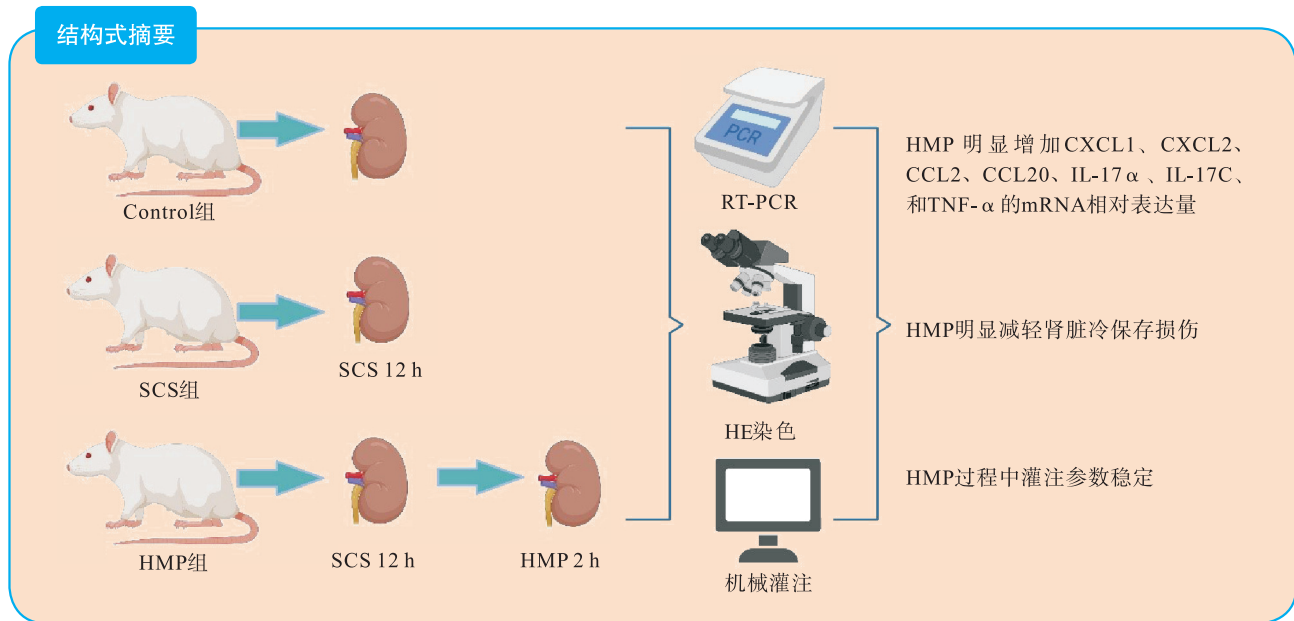


低温机械灌注对大鼠肾脏炎症因子表达水平的影响

罗德 刘江 周鹏程 王飘 李栩嘉 林号民 苏松



【摘要】 目的 探讨低温机械灌注（HMP）对大鼠肾脏炎症因子表达水平的影响。方法 雄性大鼠30只，随机分为对照组（Control组），静态冷保存组（SCS组）和HMP组，每组10只。记录HMP过程中流速、肾内阻力和灌注流出液pH值。收集每组肾脏组织，采用逆转录聚合酶链反应（RT-PCR）检测CXC趋化因子配体（CXCL）1、CXCL2、干扰素（IFN）- β 1、IFN- α 4、CC趋化因子配体（CCL）2、CCL20、白细胞介素（IL）-17 α 、IL-17C和肿瘤坏死因子（TNF）- α 的信使RNA（mRNA）表达水平，苏木素-伊红（HE）染色观察肾脏组织病理学改变。结果 HMP过程中的流速、肾内阻力保持稳定，灌注流出液pH值缓慢降低。RT-PCR结果显示，与Control组比较，SCS组和HMP组CXCL1、CXCL2、CCL2、CCL20、IL-17 α 、IL-17C和TNF- α 的mRNA相对表达量升高；与SCS组比较，HMP组CXCL1、CXCL2、CCL2、CCL20、IL-17 α 和TNF- α 的mRNA相对表达量升高（均为 $P < 0.05$ ）。HE染色结果显示，Control组肾脏细胞形态正常，SCS组出现明显的上皮坏死、胞质空泡化、刷状缘丢失、上皮脱落，与SCS组比较，HMP组病理改变程度减轻。结论 HMP能激活肾脏炎症反应，抑制HMP过程中的炎症反应激活有望进一步提高移植保存效果。

【关键词】 肾移植；低温机械灌注；静态冷保存；炎症因子；白细胞介素；干扰素；肿瘤坏死因子；趋化因子

【中图分类号】 R617, R364.5 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2023) 06-0008-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2023132

基金项目：四川省科技厅联合创新项目（2022YFS0632-B4）

作者单位：646000 四川泸州，西南医科大学附属医院肝胆外科（罗德、王飘、李栩嘉、林号民、苏松），肾病内科（刘江）；西南医科大学附属中医医院肾病科（周鹏程）

作者简介：罗德（ORCID: 0000-0002-2295-1822），博士，研究方向为器官移植与免疫，Email: luode2019@swmu.edu.cn

通信作者：苏松（ORCID: 0000-0002-0894-1361），博士，研究方向为器官移植与免疫，Email: 13882778554@163.com

Effect of hypothermic machine perfusion on expression levels of inflammatory cytokines in rat kidney Luo De*, Liu Jiang, Zhou Pengcheng, Wang Piao, Li Xujia, Lin Haomin, Su Song. *Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

Corresponding author: Su Song, Email: 13882778554@163.com

【 Abstract 】 Objective To evaluate the effect of hypothermic machine perfusion (HMP) on the expression levels of inflammatory cytokines in rat kidney. **Methods** Thirty male rats were randomly divided into the control (Control group), static cold storage group (SCS group) and HMP group, with 10 rats in each group. The velocity, intrarenal resistance and pH value of perfusion effluent were recorded during HMP. The expression levels of CXC chemokine ligand (CXCL)1, CXCL2, interferon (IFN)- β 1, IFN- α 4, CC chemokine ligand (CCL)2, CCL20, interleukin (IL)-17 α , IL-17C and tumor necrosis factor (TNF)- α messenger RNA (mRNA) in renal tissues were evaluated by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Pathological changes of the kidney were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. **Results** During HMP, the velocity and intrarenal resistance remained stable, and the pH value of perfusion effluent was decreased slowly. RT-PCR showed that the relative expression levels of CXCL1, CXCL2, CCL2, CCL20, IL-17 α , IL-17C and TNF- α mRNA in the SCS and HMP groups were higher compared with those in the Control group. Compared with the SCS group, the relative expression levels of CXCL1, CXCL2, CCL2, CCL20, IL-17 α and TNF- α mRNA were up-regulated in the HMP group (all $P < 0.05$). HE staining revealed that the morphology of renal cells was normal in the Control group, whereas evident epithelial necrosis, cytoplasmic vacuolation, brush border loss and epithelial shedding were observed in the SCS group. Compared with the SCS group, pathological changes in the HMP group were alleviated. **Conclusions** HMP may activate renal inflammation, and inhibiting the activation of inflammation during HMP is expected to further improve the effect of allograft preservation.

【 Key words 】 Kidney transplantation; Hypothermic mechanical perfusion; Static cold storage; Inflammatory factor; Interleukin; Interferon; Tumor necrosis factor; Chemokine

肾移植被视为终末期肾病的最佳治疗选择。然而，器官保存过程中的缺血-再灌注损伤（ischemia-reperfusion injury, IRI）严重影响移植功能，是移植成功的主要障碍^[1]。因此，减轻器官保存中的 IRI 并改善器官功能成为当前移植领域亟须解决的问题。静态冷保存（static cold storage, SCS）是一种通过降低保存温度和减缓细胞代谢来实现器官保存的技术^[2-3]。然而，大量研究证实，在 SCS 过程中，能量耗竭、氧化应激和免疫炎症激活等因素可能导致细胞结构和功能的受损，从而引发冷缺血损伤^[4-6]。这种损伤在边缘供者中尤为显著，并且随着保存时间的延长，损伤程度会进一步加重。低温机械灌注（hypothermic machine perfusion, HMP）通过持续供应氧气和能量物质，并及时清除代谢废物，能够减轻 IRI 并改善器官保存质量和效果，提高移植成功率并降低移植后并发症的风险^[7-8]。在 IRI 中，炎症反应激活起着关键的作用，适度的炎症反应有助于组织修复和再生，但过度激活则会加剧组织损伤^[9-10]。因此，控制炎症反应激活对于减轻 IRI 和保护器官功能至关重要。然而，目前关于肾脏 HMP 过程中炎症反

应激活的研究报道非常有限。因此，本研究通过构建大鼠肾脏离体 SCS 和 HMP 模型，比较这两种器官保存方式对肾脏炎症因子水平的影响，为进一步研究器官保存提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂和仪器

雄性 Fisher 大鼠 30 只，体质量 260~300 g，饲养于西南医科大学动物实验中心。组氨酸-色氨酸-酮戊二酸盐液（histidine-tryptophan-ketoglutarate solution, HTK 液）购于德国 Custodiol 公司，威斯康星大学保存液（University of Wisconsin solution, UW 液）购于美国 Bridge to Life 公司，QuantiTect 逆转录试剂盒购于德国 Qiagen 公司，TaqMan fast universal PCR master mix 购于美国赛默飞公司，CXC 趋化因子配体（CXC chemokine ligand, CXCL）1、CXCL2、干扰素（interferon, IFN）- β 1、IFN- α 4、CC 趋化因子配体（CC chemokine ligand, CCL）2、CCL20、白细胞介素（interleukin, IL）-17 α 、IL-17C、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）- α 、 β -actin 引物购于

美国赛默飞公司, StepOne 逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 系统购于美国赛默飞公司, 机械灌注系统购于德国 Hugo Sachs Elektronik 公司。本实验通过西南医科大学附属医院伦理委员会审批 (批号: 20211119-067)。

1.2 实验分组及处理方式

将 30 只大鼠随机分为对照组 (Control 组)、SCS 组和 HMP 组, 每组 10 只, 术前自由饮水。4.5% 异氟醚深度麻醉后, 打开胸腹腔并剪破心脏, 经腹主动脉使用 4 °C HTK 液冲洗肾脏, 直至肾脏颜色变为均匀黄白色, 剪破心脏到开始冲洗肾脏的时间大约为 5 min。Control 组冲洗结束后获取肾脏置于 10% 多聚甲醛中固定, 用于后续的病理组织学检查; SCS 组冲洗结束后获取肾脏置于 4 °C HTK 液中保存 12 h; HMP 组冲洗结束后获取肾脏置于 4 °C HTK 液中保存 12 h, 再使用 4 °C UW 液以 80 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa) 的恒定压力进行 2 h 低温机械灌注, 采用 95% O₂、5% CO₂ 通过纤维膜氧合器对灌注液进行氧合。

1.3 研究内容及方法

1.3.1 灌注参数 机械灌注系统能实时记录流速及肾内阻力, 灌注结束后收集灌注过程中的流速和阻力数据, 并用大鼠肾脏质量进行标准化后进行后续分析。灌注过程中每 15 min 收集静脉流出液, 并使用酸碱度测定计测量其 pH 值。

1.3.2 逆转录聚合酶链反应实验 取 20 mg 肾脏组织于组织裂解器中使其变成组织匀浆, 使用 RNAeasy Mini 试剂盒提取总 RNA, 分光光度计测定浓度, 使用 QuantiTect 逆转录试剂盒进行逆转录获得 cDNA。随后使用 RT-PCR 系统检测 CXCL1、CXCL2、IFN- β 1、IFN- α 4、CCL2、CCL20、IL-17 α 、IL-17C、TNF- α 的 CT 值。每个标本设 3 个复孔, 用 β -actin 将每个基因平均 CT 值进行标化, 并使用相对定量方法计算

信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 的相对表达水平。

1.3.3 肾脏组织病理学检查 多聚甲醛固定肾脏, 经过不同浓度的乙醇脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、水化、苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色后封片制成病理切片, 进行病理组织学观察并对肾小管损伤进行评分。肾小管损伤采用改良的评分方法: 在每张病理切片中, 高倍镜下随机选取 10 个非重叠区域分别对肾小管扩张、空泡形成、刷状缘缺失、上皮坏死和上皮脱落五种组织形态学变化进行半定量评估。评分标准: 结构正常 0 分; 轻度改变为 1 分 (< 25%); 中度改变为 2 分 (25%~50%); 严重改变为 3 分 (> 50%)。计算 10 个区域的平均分作为每张病理切片的肾小管损伤评分。

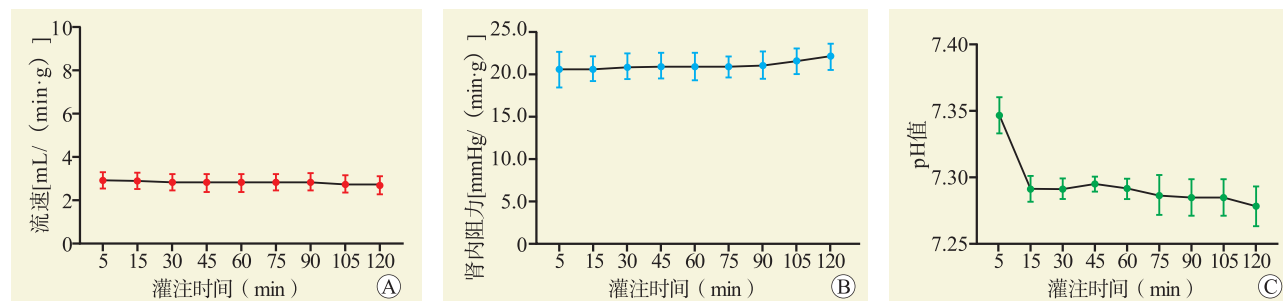
1.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。对于符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差表示, 两组独立样本间比较采用非配对 *t* 检验, 同一组样本灌注前后比较采用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 机械灌注过程中各参数变化

流速在 HMP 过程中相对稳定, 灌注结束时流速并未降低 [(2.7 \pm 0.4) mL/(min·g) 比 (2.9 \pm 0.4) mL/(min·g)], $P=0.5$, 图 1A]。肾内阻力在 HMP 过程中均相对稳定, 灌注结束时与灌注开始时比肾内阻力没有明显变化 [(22.2 \pm 1.6) mmHg/(min·g) 比 (20.1 \pm 2.1) mmHg/(min·g)], $P=0.3$, 图 1B]。肾静脉灌注流出液 pH 值在 HMP 最初阶段下降, 随后保持相对稳定, 灌注结束时的 pH 值低于灌注开始时 (7.28 \pm 0.01 比 7.35 \pm 0.01, $P=0.002$, 图 1C)。



注: A 图为 HMP 过程中流速的变化; B 图为 HMP 过程中肾内阻力的变化; C 图为 HMP 过程中静脉流出液 pH 值的变化。

图 1 HMP 过程中各参数变化

Figure 1 Changes of parameters during HMP

2.2 各组肾脏炎症因子 mRNA 表达水平比较

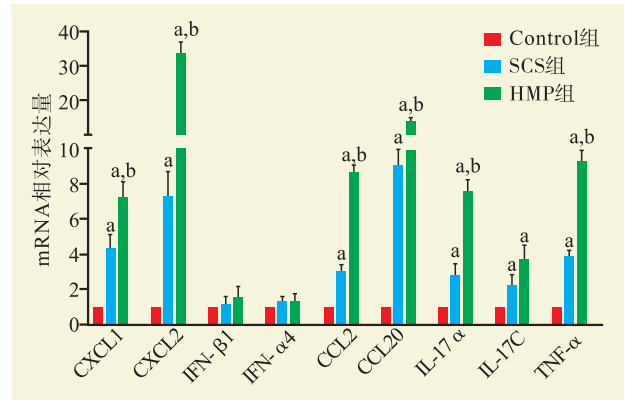
与 Control 组比较, SCS 组和 HMP 组 CXCL1、CXCL2、CCL2、CCL20、IL-17 α 、IL-17C、TNF- α 的 mRNA 相对表达量升高; 与 SCS 组比较, HMP 组 CXCL1、CXCL2、CCL2、CCL20、IL-17 α 和 TNF- α 的 mRNA 相对表达量升高 (均为 $P < 0.05$, 图 2)。

2.3 各组肾脏组织病理学结果的比较

肾脏组织切片 HE 染色结果显示, Control 组肾小管刷状缘完整, 管腔无细胞碎片, 细胞形态正常; SCS 组存在大量的细胞质广泛空泡化、刷状缘缺失、上皮坏死、上皮脱落、管腔阻塞, 肾小管损伤严重; HMP 组仅有少量刷状缘丢失和上皮脱落, 肾小管损伤轻微 (图 3)。

Control 组肾小管损伤评分为 (0.34 \pm 0.11) 分, 低于 SCS 组的 (6.20 \pm 0.59) 分和 HMP 组的 (4.10 \pm

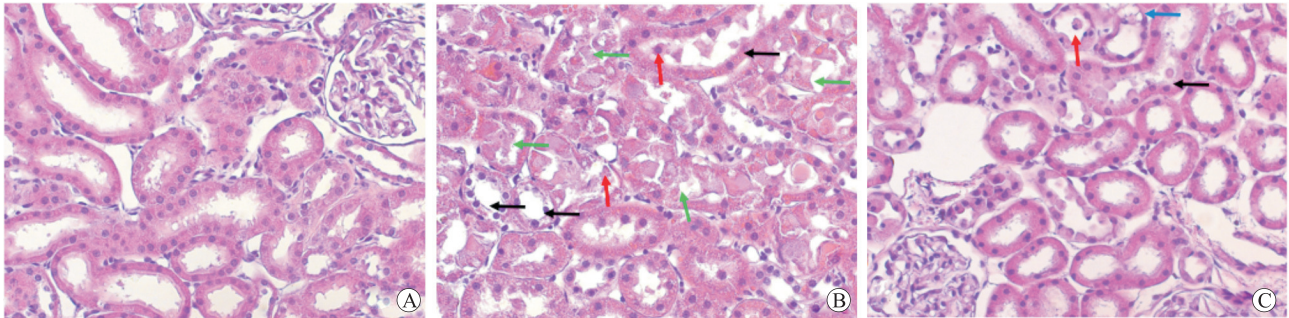
0.76) 分, 而 HMP 组肾小管损伤评分低于 SCS 组 (均为 $P < 0.05$)。



注: 与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 SCS 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 2 各组肾脏炎症因子 mRNA 表达水平

Figure 2 mRNA expression levels of inflammatory factors of kidneys in each group



注: A 图为 Control 组; B 图为 SCS 组; C 图为 HMP 组。绿色箭头为上皮坏死, 黑色箭头为刷状缘丢失, 蓝色箭头为胞质空泡化, 红色箭头为上皮脱落。

图 3 各组肾脏组织病理学改变 (HE, $\times 400$)

Figure 3 Histopathological changes of the kidney tissues in each group

3 讨论

肾移植仍然是终末期肾病的最佳治疗选择, 能够改善患者生活质量和延长寿命^[11-12]。供者短缺是目前器官移植面临的巨大挑战^[13-15]。边缘供者被迫用以补充供者池以改善供者短缺的窘境, 这类供者对保存过程中的 IRI 更加敏感, 术后移植物无功能发生率更高^[16-17]。随着 Collins 液、UW 液、HTK 液等器官保存液相继开发和改进, SCS 成为了目前常用的器官保存方式, 被多数器官移植中心广泛使用^[18-19]。SCS 主要通过降低温度来抑制细胞代谢, 然而长时间 SCS 可能会导致细胞活力丧失甚至坏死^[20-21]。冷保存时间越长, 器官遭受的损伤越严重, 特别是对于边缘

供器官, 这大大降低了 SCS 的效果^[22-24]。近年来, 研究人员开始更加关注 HMP, 它不仅可以保存器官, 改善器官功能, 还可用于评估器官功能^[25-28]。本研究结果表明, HMP 虽然激活了肾脏的炎症反应, 但减轻了肾脏冷保存损伤。靶向调控 HMP 过程中的炎症反应为进一步改善器官功能提供了新的思路。

肾脏机械灌注过程中的血流动力学变化是一个重要的功能参数, 可用于评估灌注效果和肾脏损伤程度^[6]。由于体外灌注过程中灌注压力恒定, 因此流速与肾内阻力成反比。本研究发现, 灌注过程中肾内阻力相对稳定, 无明显变化。Blum 等^[29]对猪肾脏进行 8 h 的 HMP, 也发现灌注过程中肾内阻力保持基本稳定。IRI 过程中存在多种炎症因子的释放和激活, 如

细胞因子 TNF- α 、IFN- β 1、IFN- α 4、IL-17 α 、IL-17C, 趋化因子 CXCL1、CXCL2、CCL2、CCL20^[30]。这些炎症因子在 IRI 中发挥着重要的作用, 调控这些炎症因子有助于减轻 IRI, 改善器官保存和移植效果。对机械灌注过程中炎症因子的研究, 有助于深入理解机械灌注对器官的影响, 并为开发相关的治疗策略提供基础。目前, 对于机械灌注过程中移植炎症细胞因子的变化, 大部分研究集中在常温机械灌注 (normothermic machine perfusion, NMP)^[31], 对于 HMP 过程中炎症因子的变化研究非常有限。一项包括 293 例肝移植受者的随机临床多中心试验数据显示, 相比于 SCS, NMP 能显著减轻肝小叶炎症, 减轻 IRI^[32]。Beetz 等^[33]研究发现, 相比于 SCS, 6 h 的 NMP 明显提高了猪肝 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-6 和 IL-18 的表达水平。然而, Fontes 等^[34]研究表明, 与 SCS 相比, 机械灌注明显降低猪肝 IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 、IL-4 和 IL-12 的水平。Jager 等^[35]分别对猪和人的肾脏进行 4 h 和 6 h 的 NMP, 每小时采集灌注液样本以评估促炎因子变化水平, 发现 IL-6、IL-8 和 TNF 在 NMP 期间显著增加。Yang 等^[36]使用夹闭兔子肾脏 25 min 模拟热缺血损伤, SCS 组松开夹子再灌注 29 h 后在 4 °C 高渗柠檬酸腺嘌呤溶液-II 溶液 (hypertonic citrate adenine solution-II, HCA-II 溶液) 中进行 6 h 的 SCS, NMP 组松开夹子恢复血流 1 h, 然后再进行 HMP 保存 6 h, 结果发现与 SCS 组相比, HMP 组核因子 (nuclear factor, NF) - κ B 和 TNF- α 的表达明显降低。然而本研究发现与 SCS 组相比, HMP 组肾脏多种促炎因子 mRNA 表达水平显著升高, 且 HMP 能减轻冷保存损伤, 研究结果的差异可能与两个实验方案中热缺血时间、保存液种类以及保存时间不同有关。

赵德芳等^[37]比较了 SCS 和 HMP 对犬肝脏炎症因子水平的影响, 发现移植后 HMP 组肝脏 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8、巨噬细胞炎症蛋白 (macrophage inflammatory protein, MIP) -1 α 、MIP-1 β 、CCL20 的 mRNA 表达水平明显低于 SCS 组, 而在移植前的肝脏中只有 TNF- α 、MIP-1 α 、MIP-1 β 、CCL20 的 mRNA 表达水平差异有统计学意义。本研究采用大鼠肾脏作为实验对象, 实验设计也有所不同, 获取的肾脏置于 4 °C 的 HTK 液中保存 12 h, 而赵德芳等^[37]对移植前的肝脏采用生理盐水保存约 3 h。此外, 本研究中的 HMP 组肾脏在 SCS 12 h

后, 继续进行 2 h 的 HMP, 而 SCS 组仅接受了 12 h 的 SCS, 因此 HMP 组肾脏的冷缺血时间更长。这可能是导致 HMP 组肾脏炎症因子表达水平明显升高的原因。相较于 SCS, 虽然 HMP 升高了肾脏炎症因子的 mRNA 表达水平, 但改善了肾脏病理损伤, 这可能与 HMP 降低移植物代谢率、提供氧气、清除代谢产物、维护细胞膜稳定性和抗氧化等多种机制有关。

综上所述, 肾脏移植在 HMP 期间的炎症反应被激活, 在 HMP 过程中降低移植肾的免疫炎症活性有望进一步提高机械灌注效果, 改善移植物存活率。

参考文献:

- [1] MICÓ-CARNERO M, ZAOUALI MA, ROJANO-ALFONSO C, et al. A potential route to reduce ischemia/reperfusion injury in organ preservation[J]. *Cells*, 2022, 11(17): 2763. DOI: 10.3390/cells11172763.
- [2] PARSONS RF, GUARRERA JV. Preservation solutions for static cold storage of abdominal allografts: which is best?[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2014, 19(2): 100-107. DOI: 10.1097/MOT.000000000000063.
- [3] COTTER TG, ODENWALD MA, PEREZ-GUTIERREZ A, et al. Preservation solutions for static cold storage in donation after circulatory death and donation after brain death liver transplantation in the United States[J]. *Liver Transpl*, 2022, 28(9): 1454-1462. DOI: 10.1002/lt.26457.
- [4] SCHIPPER DA, MARSH KM, FERNG AS, et al. The critical role of bioenergetics in donor cardiac allograft preservation[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2016, 9(3): 176-183. DOI: 10.1007/s12265-016-9692-2.
- [5] BARDALLO RG, COMPANY-MARIN I, FOLCH-PUY E, et al. PEG35 and glutathione improve mitochondrial function and reduce oxidative stress in cold fatty liver graft preservation[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(1): 158. DOI: 10.3390/antiox11010158.
- [6] MELLATI A, LO FARO L, DUMBILL R, et al. Kidney normothermic machine perfusion can be used as a preservation technique and a model of reperfusion to deliver novel therapies and assess inflammation and immune activation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 850271. DOI: 10.3389/fimmu.2022.850271.
- [7] CERESA CDL, NASRALLA D, POLLOK JM, et al. Machine perfusion of the liver: applications in transplantation and beyond[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(3): 199-209. DOI: 10.1038/s41575-021-00557-8.
- [8] DE DEKEN J, KOCABAYOGLU P, MOERS C. Hypothermic machine perfusion in kidney

- transplantation[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2016, 21(3): 294-300. DOI: [10.1097/MOT.000000000000306](https://doi.org/10.1097/MOT.000000000000306).
- [9] COOKE JP. Inflammation and its role in regeneration and repair[J]. *Circ Res*, 2019, 124(8): 1166-1168. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.118.314669](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.314669).
- [10] HOLDERIED A, KRAFT F, MARSCHNER JA, et al. "Point of no return" in unilateral renal ischemia reperfusion injury in mice[J]. *J Biomed Sci*, 2020, 27(1): 34. DOI: [10.1186/s12929-020-0623-9](https://doi.org/10.1186/s12929-020-0623-9).
- [11] 魏健超, 何凯鸣, 孙启全. 2022年中国肾移植研究年度盘点[J]. *器官移植*, 2023, 14(3): 336-342. DOI: [10.3969/j.issn.1674-7445.2023.03.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7445.2023.03.003).
WEI JC, HE KM, SUN QQ. Research highlights on kidney transplantation in 2022 from China[J]. *Organ Transplant*, 2023, 14(3): 336-342. DOI: [10.3969/j.issn.1674-7445.2023.03.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7445.2023.03.003).
- [12] HARIHARAN S, ISRANI AK, DANOVIATCH G. Long-term survival after kidney transplantation[J]. *N Engl J Med*, 2021, 385(8): 729-743. DOI: [10.1056/NEJMr2014530](https://doi.org/10.1056/NEJMr2014530).
- [13] 窦科峰, 张玄. 临床异种器官移植十大问题的思考[J]. *器官移植*, 2022, 13(4): 411-416. DOI: [10.3969/j.issn.1674-7445.2022.04.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7445.2022.04.001).
DOU KF, ZHANG X. Reflection on 10 problems of clinical xenotransplantation[J]. *Organ Transplant*, 2022, 13(4): 411-416. DOI: [10.3969/j.issn.1674-7445.2022.04.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7445.2022.04.001).
- [14] 聂峰, 黄晨, 谭庆, 等. 关于扩大标准供者肾脏质量评估中的伦理学思考[J]. *中国医学伦理学*, 2022, 35(4): 386-390. DOI: [10.12026/j.issn.1001-8565.2022.04.06](https://doi.org/10.12026/j.issn.1001-8565.2022.04.06).
NIE F, HUANG C, TAN Q, et al. Ethical thoughts on the quality evaluation of the kidneys from expanded criteria donors[J]. *Chin Med Ethics*, 2022, 35(4): 386-390. DOI: [10.12026/j.issn.1001-8565.2022.04.06](https://doi.org/10.12026/j.issn.1001-8565.2022.04.06).
- [15] 郑树国. 利用腹腔镜肝切除术“废弃肝”行活体肝移植的思考[J]. *中华消化外科杂志*, 2021, 20(5): 487-491. DOI: [10.3760/cma.j.cn115610-20210510-00218](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn115610-20210510-00218).
ZHENG SG. Reflection about using the otherwise discarded partial liver after laparoscopic hepatectomy for living donor liver transplantation [J]. *Chin J Dig Surg*, 2021, 20(5): 487-491. DOI: [10.3760/cma.j.cn115610-20210510-00218](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn115610-20210510-00218).
- [16] CZIGANY Z, LURJE I, SCHMELZLE M, et al. Ischemia-reperfusion injury in marginal liver grafts and the role of hypothermic machine perfusion: molecular mechanisms and clinical implications[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(3): 846. DOI: [10.3390/jcm9030846](https://doi.org/10.3390/jcm9030846).
- [17] WARMUZIŃSKA N, ŁUCZYKOWSKI K, BOJKO B. A review of current and emerging trends in donor graft-quality assessment techniques[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(3): 487. DOI: [10.3390/jcm11030487](https://doi.org/10.3390/jcm11030487).
- [18] 苏松, 宋建生, 罗德, 等. 甲磺酸去铁胺减轻大鼠肝脏低温保存期缺血损伤的实验研究[J]. *泸州医学院学报*, 2016, 39(6): 531-536. DOI: [10.3969/j.issn.1000-2669.2016.06.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-2669.2016.06.010).
SU S, SONG JS, LUO D, et al. Desferrioxamine in HTK solution attenuates the cold ischemic injury of preserved rat liver graft[J]. *J Luzhou Med Coll*, 2016, 39(6): 531-536. DOI: [10.3969/j.issn.1000-2669.2016.06.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-2669.2016.06.010).
- [19] 苏松, 彭晓智, 刘江, 等. 小鼠肝脏冷缺血状态下细胞凋亡及长链非编码 RNA 表达情况的试验研究[J]. *西南医科大学学报*, 2017, 40(2): 109-112. DOI: [10.3969/j.issn.2096-3351.2017.02.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.2096-3351.2017.02.003).
SU S, PENG XZ, LIU J, et al. Experimental study on apoptosis and expression of long non-coding RNA in mouse liver under cold ischemia[J]. *J Luzhou Med Coll*, 2017, 40(2): 109-112. DOI: [10.3969/j.issn.2096-3351.2017.02.003](https://doi.org/10.3969/j.issn.2096-3351.2017.02.003).
- [20] ABOU TAKA M, DUGBARTEY GJ, SENER A. The optimization of renal graft preservation temperature to mitigate cold ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 567. DOI: [10.3390/ijms24010567](https://doi.org/10.3390/ijms24010567).
- [21] 宋继勇, 张向军, 袁嵩, 等. 常温机械灌注在肝脏移植中的应用进展[J]. *中国医疗设备*, 2023, 38(6): 175-179. DOI: [10.3969/j.issn.1674-1633.2023.06.031](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-1633.2023.06.031).
SONG JY, ZHANG XJ, YUAN S, et al. Progress in the application of normothermic machine perfusion in liver transplantation[J]. *China Med Devices*, 2023, 38(6): 175-179. DOI: [10.3969/j.issn.1674-1633.2023.06.031](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-1633.2023.06.031).
- [22] TINGLE SJ, FIGUEIREDO RS, MOIR JA, et al. Hypothermic machine perfusion is superior to static cold storage in deceased donor kidney transplantation: a meta-analysis[J]. *Clin Transplant*, 2020, 34(4): e13814. DOI: [10.1111/ctr.13814](https://doi.org/10.1111/ctr.13814).
- [23] SUMMERS DM, AHMAD N, RANDLE LV, et al. Cold pulsatile machine perfusion versus static cold storage for kidneys donated after circulatory death: a multicenter randomized controlled trial[J]. *Transplantation*, 2020, 104(5): 1019-1025. DOI: [10.1097/TP.0000000000002907](https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002907).
- [24] CZIGANY Z, PRATSCHKE J, FRONĚK J, et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion reduces early allograft injury and improves post-transplant outcomes in extended criteria donation liver

- transplantation from donation after brain death: results from a multicenter randomized controlled trial (HOPE ECD-DBD)[J]. *Ann Surg*, 2021, 274(5): 705-712. DOI: [10.1097/SLA.0000000000005110](https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000005110).
- [25] 汪恺, 苏仁义, 王周城, 等. “机械灌注+”视阈下扩大标准供肝的修复与功能提升[J]. *中华消化外科杂志*, 2022, 21(1): 74-78. DOI: [10.3760/cma.j.cn115610-20211220-00668](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn115610-20211220-00668).
- WANG K, SU RY, WANG ZC, et al. Extended criteria donor reconditioning and functional improvement in the viewshed of machine perfusion plus [J]. *Chin J Dig Surg*, 2022, 21(1): 74-78. DOI: [10.3760/cma.j.cn115610-20211220-00668](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn115610-20211220-00668).
- [26] VAN RIJN R, SCHURINK IJ, DE VRIES Y, et al. Hypothermic machine perfusion in liver transplantation - a randomized trial[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(15): 1391-1401. DOI: [10.1056/NEJMoa2031532](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031532).
- [27] MALINOSKI D, SAUNDERS C, SWAIN S, et al. Hypothermia or machine perfusion in kidney donors[J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(5): 418-426. DOI: [10.1056/NEJMoa2118265](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2118265).
- [28] KNIJFF LWD, VAN KOOTEN C, PLOEG RJ. The effect of hypothermic machine perfusion to ameliorate ischemia-reperfusion injury in donor organs[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 848352. DOI: [10.3389/fimmu.2022.848352](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.848352).
- [29] BLUM MF, LIU Q, SOLIMAN B, et al. Comparison of normothermic and hypothermic perfusion in porcine kidneys donated after cardiac death[J]. *J Surg Res*, 2017, 216: 35-45. DOI: [10.1016/j.jss.2017.04.008](https://doi.org/10.1016/j.jss.2017.04.008).
- [30] KALTENMEIER C, WANG R, POPP B, et al. Role of immuno-inflammatory signals in liver ischemia-reperfusion injury[J]. *Cells*, 2022, 11(14): 2222. DOI: [10.3390/cells11142222](https://doi.org/10.3390/cells11142222).
- [31] JASSEM W, XYSTRAKIS E, GHNEWA YG, et al. Normothermic machine perfusion (NMP) inhibits proinflammatory responses in the liver and promotes regeneration[J]. *Hepatology*, 2019, 70(2): 682-695. DOI: [10.1002/hep.30475](https://doi.org/10.1002/hep.30475).
- [32] MARKMANN JF, ABOULJOUND MS, GHOBRIAL RM, et al. Impact of portable normothermic blood-based machine perfusion on outcomes of liver transplant: the OCS Liver PROTECT randomized clinical trial[J]. *JAMA Surg*, 2022, 157(3): 189-198. DOI: [10.1001/jamasurg.2021.6781](https://doi.org/10.1001/jamasurg.2021.6781).
- [33] BEETZ O, CAMMANN S, WEIGLE CA, et al. Interleukin-18 and high-mobility-group-protein B1 are early and sensitive indicators for cell damage during normothermic machine perfusion after prolonged cold ischemic storage of porcine liver grafts[J]. *Transpl Int*, 2022, 35: 10712. DOI: [10.3389/ti.2022.10712](https://doi.org/10.3389/ti.2022.10712).
- [34] FONTES P, LOPEZ R, VAN DER PLAATS A, et al. Liver preservation with machine perfusion and a newly developed cell-free oxygen carrier solution under subnormothermic conditions[J]. *Am J Transplant*, 2015, 15(2): 381-394. DOI: [10.1111/ajt.12991](https://doi.org/10.1111/ajt.12991).
- [35] JAGER NM, VENEMA LH, ARYKBAEVA AS, et al. Complement is activated during normothermic machine perfusion of porcine and human discarded kidneys[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 831371. DOI: [10.3389/fimmu.2022.831371](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.831371).
- [36] YANG Z, ZHONG Z, LI M, et al. Hypothermic machine perfusion increases A20 expression which protects renal cells against ischemia/reperfusion injury by suppressing inflammation, apoptosis and necroptosis[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 161-171. DOI: [10.3892/ijmm.2016.2586](https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2586).
- [37] 赵德芳, 陈立坤. 单纯冷藏与低温机械灌注保存肝移植前后炎症因子和凋亡因子的变化[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(33): 5322-5326. DOI: [10.3969/j.issn.2095-4344.2015.33.015](https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.2015.33.015).
- ZHAO DF, CHEN LK. Static cold storageversushypothermic machine perfusion: changes in inflammatory cytokines and apoptotic factors in isolated liver before and after liver transplantation[J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2015, 19(33): 5322-5326. DOI: [10.3969/j.issn.2095-4344.2015.33.015](https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.2015.33.015).

(收稿日期: 2023-07-05)

(本文编辑: 方引超 吴秋玲)