



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Medical Engineering—Review

“机械灌注+”应用于扩大标准供肝移植——肝尽其用

王周城^{a,b,#}, Jack Martin^{c,d,#}, 余炯杰^{a,b}, 汪恺^{a,b,e}, Kourosh Saeb-Parsy^{c,d,*}, 徐骁^{a,b,e,*}

^a Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China

^b Key Laboratory of Integrated Oncology and Intelligent Medicine of Zhejiang Province, Hangzhou 310006, China

^c Department of Surgery, University of Cambridge & NIHR Cambridge Biomedical Research Centre, Cambridge CB2 2QQ, UK

^d Department of Surgery, Cambridge University Hospitals & NHS Foundation Trust, Cambridge CB2 2QQ, UK

^e Institute of Organ Transplantation, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 March 2023

Revised 2 November 2023

Accepted 13 November 2023

Available online 22 November 2023

关键词

肝移植

扩大标准供体

机械灌注+

器官短缺

摘要

移植是终末期肝病最有效的治疗方法,但由于供体器官的短缺而受到限制。扩大标准供体(ECD)供肝在临床实践中越来越多地用于缓解这一挑战。然而,这些移植耐缺血的能力下降,危及冷保存期间器官的活力。机器灌注(MP)旨在改善器官保存并减少移植后并发症。然而,越来越明显的是,单独使用MP无法达到ECD供肝的最佳保存状态。因此,人们逐渐开始重视改良的MP策略,包括使用不同的灌注剂、改良的灌注方式并结合不同的治疗干预策略。本文提出了“机械灌注+”的新理念,代表这些旨在提升器官功能并可能实现ECD供肝体外再生的机械灌注新策略。为此,本文总结了现有和改良的MP策略,并阐述其在临床场景中修复不同ECD供肝的优势。

© 2023 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

肝移植(liver transplantation, LT)是目前终末期肝病的最佳治疗方法,但器官短缺仍然限制了该疗法对所有可能获益的患者的适用性[1]。2020年,美国肝移植名单新增患者12 609例,等待移植患者总数达到24 936例,实际仅进行了8 906例肝移植手术[2]。使用扩大标准供体(extended criteria donor, ECD)供肝作为解决这种差异的一种策略越来越受到追捧[3]。文献中经常描述的ECD供肝的定义通常包括老年性、脂肪变性、感染性和劈裂式供肝,以及从心脏死亡(circulatory death, DCD)的供体获得的

供肝[4]。利用上述ECD供肝与移植后并发症风险的增加有关,包括早期移植物功能不全(early allograft dysfunction, EAD)、原发性失功(primary nonfunction, PNF)、缺血性胆管病和死亡等[5]。然而,预计除了缩小等待名单上众多受者与可用器官之间的差距外,精准选择并修复此类ECD供肝也可能改善移植预后。

2018年,美国的器官丢弃率为8.4%,而其他国家的这一比例甚至可能更高[2]。机械灌注(machine perfusion, MP)是一种模拟人体生理环境的复杂技术,旨在维持或增强器官功能[6]。随着ECD器官的使用越来越多,未来有机会将MP的作用扩展到器官质量评估和常规保存

* Corresponding authors.

E-mail addresses: ks10014@cam.ac.uk (K. Saeb-Parsy), zjxu@zju.edu.cn (X. Xu).

These authors contributed equally to this work and share the first authorship.

之外[7]。最近, 本文研究团队提出了“机械灌注+”(machine perfusion plus, MP Plus)的新理念, 描述了MP与其他旨在体外修复、修复和再生ECD供器官的策略的结合。本文总结了现有和潜在的较新的“机械灌注+”策略, 并强调了它们在不同ECD供肝临床移植场景中的重要性。此外, 还讨论了“机械灌注+”在扩大肝脏供体池和进一步改善移植预后方面的重要作用。

2. 扩大标准供体肝移植

由于各种既定的器官质量评估标准, ECD供肝通常被认为是“边缘性”的, 存在移植后移植物功能不全的风险, 且受者的生存率可能会受到影响。ECD供肝的定义尚未得到普遍认可[4,8]。然而, 文献中经常描述的ECD供肝的常见类型包括:

(1) 老年性供肝: 肝移植供体和受体的平均年龄随时间推移明显增加[9]。尽管缺乏对老年性供肝的明确定义, 但人们普遍认为, 70岁以上供体来源的肝脏通常被丢弃。老年性供肝通常表现为纤维化、脂肪变性和病毒感染, 这些疾病状态导致供肝对缺血应激和再灌注损伤的耐受性较差[10]。尽管有报道称, 如果选择得当, 移植肝的存活率不受供体年龄的影响, 且通过利用此类边缘性老年性供肝, 有可能进一步扩大供肝池。

(2) 脂肪变性供肝: 肥胖症的患病率在世界范围内呈上升趋势, 导致相关代谢综合征及其肝脏表现的沉重负担。这已经影响了死亡供者供体池, 因此, 在不久的将来, 提高脂肪变性供肝的利用率将变得越来越重要[11]。脂肪变性供肝通常定义为 $\geq 30\%$ 大疱样脂肪变性的肝脏。大囊泡性脂肪含量增加被认为会通过释放活性氧加重缺血输注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI), 而活性氧会因脂质过氧化而被放大[12]。此外, 有研究显示, 负载脂肪的肝细胞会导致肝窦受压, 最终导致肝脏微循环受损和IRI加重[13]。

(3) DCD供肝: DCD是一种器官获取方式, 其器官获取自循环死亡的捐献者, 而不是脑死亡后的捐献者(在脑死亡后, 捐献者仍然有完整的心肺循环)。由于法律限制, DCD供肝的使用因国家而异(例如, 德国法律禁止DCD器官)。但作为供肝的潜在来源, DCD正被更广泛地接受和利用[14]。根据欧洲肝移植登记处的数据, 在荷兰和比利时等国家, DCD供肝已逐渐增加, 占成人死亡捐献的近40% [15]。大多数DCD供肝来源于受控的DCD; 快速获取技术是首选的供肝获取策略, 因为它可以缩短功能性缺血和实际热缺血时间[16]。

DCD供肝的使用与移植后PNF、EAD和缺血性胆管病的发病率较高相关[17]。因此, 旨在扩大DCD器官安全使用的技术改进应侧重于最大限度地减少器官保存期间的缺血时间。

(4) 感染性供肝: 乙型肝炎和丙型肝炎病毒(HBV/HCV)感染以前被认为是移植的禁忌症。活动性HBV感染是指乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、IgM抗乙型肝炎核心抗原(HBc)和(或)乙型肝炎e抗原(HBeAg)阳性和(或)HBV DNA水平升高[18]。抗HBcAg阳性供体的供肝可以安全使用, 尤其是用于HBsAg阳性或抗HBcAg/抗HBsAg阳性受者, 但术后应给予充分的抗病毒策略, 以避免移植物再次感染[19]。一项研究比较了42例HBsAg+供体与327例HBsAg-供体的临床结局, 发现两组在移植后并发症或移植物存活率方面没有差异[20]。另一项研究分析了9例接受抗HBcAg阳性供体肝脏的患者, 发现这些供体的肝脏应按特定顺序优先进行移植: 首先是HBsAg阳性的受者, 然后是拥有HBV抗体的受者, 最后是未感染HBV的受者[21]。通过在移植前确定供体和受者感染HBV的危险因素, 可以不加区别地采用抗病毒预防, 这可以潜在地缓解可用供体的稀缺性。

对于HCV, 检测病毒RNA水平是主要的诊断策略[22]。研究表明, 将直接作用抗病毒药物(DAA)治疗与在HCV阴性接受者中使用HCV阳性肝脏相结合时, 短期结果良好。急性细胞排斥反应的发生率则存在疑问(据报道, 此类受者中高达16%) [23]。其他病毒[如巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)]、细菌(供体感染状态或脓毒症)和真菌感染也可能影响肝移植后结局。

(5) 劈裂式供肝: 劈裂肝脏将全尺寸移植物分成两个解剖学和功能上“较小”的移植物, 这种情况可能导致两个器官的功能障碍并影响预后[24]。在一些非常专业的研究中心, 劈裂式供肝的使用已被证明是扩大可用移植物数量的好方法。由于报告结果的高度异质性及其固有的逻辑问题, 这种方式并没有得到大规模执行[25]。因此, 劈裂式肝移植(split liver transplantation, SLT)仍被视为有风险的肝移植方式[26]。

使用上述所有ECD供肝, 存在移植后结果不佳的潜在风险; 然而, 其广泛使用将能够缩小移植等待名单与稀缺的供器官之间的差距。此外, 目前已经表明, 除了更细致、精准的供器官选择外, 离体损伤修复和功能提升还可以提高此类ECD供肝的安全性, 并达到与使用标准供肝获得的移植预后效果相当。

3. 机械灌注和“机械灌注+”

MP不是在冰上冷却器官以减缓代谢过程，而是旨在尽可能模拟在正常的生理环境中支持供器官正常的代谢功能，并提供一个可以评估、保存甚至修复器官的平台[27]。MP设备已经证明在生物工程技术的辅助下，改善不同器官移植预后方面初具成效。

1812年，在Cesar Julien Jean Legallois的专著中首次出现了类似于“MP”的概念，其被认为是心脏的替代品。据报道，Max von Frey和Max Gruber于1885年设计了第一个用于输送含氧血液的封闭系统[28]。1895年，Carl Jacobj发明了“双血泵”系统，由两个血氧泵和插入其中的肺组成[29]。1912年诺贝尔奖获得者Alexis Carrel与Charles Lindbergh一起研究了培养组织的年轻化，并首次从雏鸡胎儿的脾脏、皮肤、心包和门静脉中获得再生细胞[30]。这些研究主要促进了体外循环的发展，但也为MP的先驱奠定了基础（图1）。

1968年，Belzer等[31]使用冷沉淀血浆成功移植了低温机械灌注（hypothermic machine perfusion, HMP）17 h后的第一个肾脏。Brettschneider等[32]探索了HMP在供体犬中通过门静脉和肝动脉灌注稀释、肝素化、含氧血液的应用，Starzl等[33]则首次在11例人类肝移植中采用了这种方法。第一项临床试验共涉及20例供肝，比较了HMP与静态冷保存（static cold storage, SCS）在临床肝移植中的可行性和安全性，其结果显示HMP组的EAD率较低[34]。另一项基于“孤儿”肝脏的研究显示，与SCS肝脏相比，接受HMP肝脏治疗的患者的EAD发生率、胆道并发症和住院时间均有所降低[35]。2021年，van Rijn等[36]进行的一项随机对照试验（RCT）招募了160名患者，

该试验表明，与传统SCS相比，HMP能够减少DCD肝脏的非吻合口胆道狭窄。一项最新报道的meta分析（包括9项RCT和30项队列研究）显示，HMP可显著降低非吻合口胆道狭窄和EAD的风险，并可提高ECD供肝肝移植患者的一年生存率[37]。

HMP影响肝脏移植物的机制尚未得到完全表征。最近研究了仅通过门静脉[低温氧合MP（HOPE）]或同时通过肝动脉和门静脉[双重HOPE（D-HOPE）]输送氧气的HMP。实验数据表明，HOPE可显著减少线粒体氧化损伤和进一步的下游组织炎症反应[38–39]。Schlegel等[40]最新报道的多中心RCT首次研究了HOPE对肝移植后12个月内累积并发症的影响，证明了HOPE可以显著降低严重肝移植相关事件的风险。一项meta分析则证实了这一结论，该分析纳入了7项RCT，与SCS相比，HOPE减少了主要并发症的发生，降低了“再移植”率，并具有更好的移植存活率[41]。

2018年，van Rijn等[42]于荷兰报道的I期临床研究包括SCS后用D-HOPE保存的10个DCD肝脏。其结果显示，D-HOPE组再灌注后胆管损伤程度未增加，胆周深部损伤程度低于对照组。该团队还进行了国际多中心III期RCT，纳入了共157名受试者，比较了D-HOPE与SCS在使用DCD供肝预防移植后非吻合口胆道狭窄方面的疗效[43]。该试验已于近期完成受试者纳入，但其试验结果尚未公布。然而，另一份包括了21例接受HOPE或D-HOPE的DCD移植物的临床报道称，接受灌注供肝的患者住院时间更短，EAD发生率更低，移植预后更好[44]。

低温灌注策略的局限性包括可进行的功能评估有限、使用药物调节肝脏代谢的能力降低，以及在最大限度地减少器官缺血时间方面的获益有限，因此在器官的运输后勤

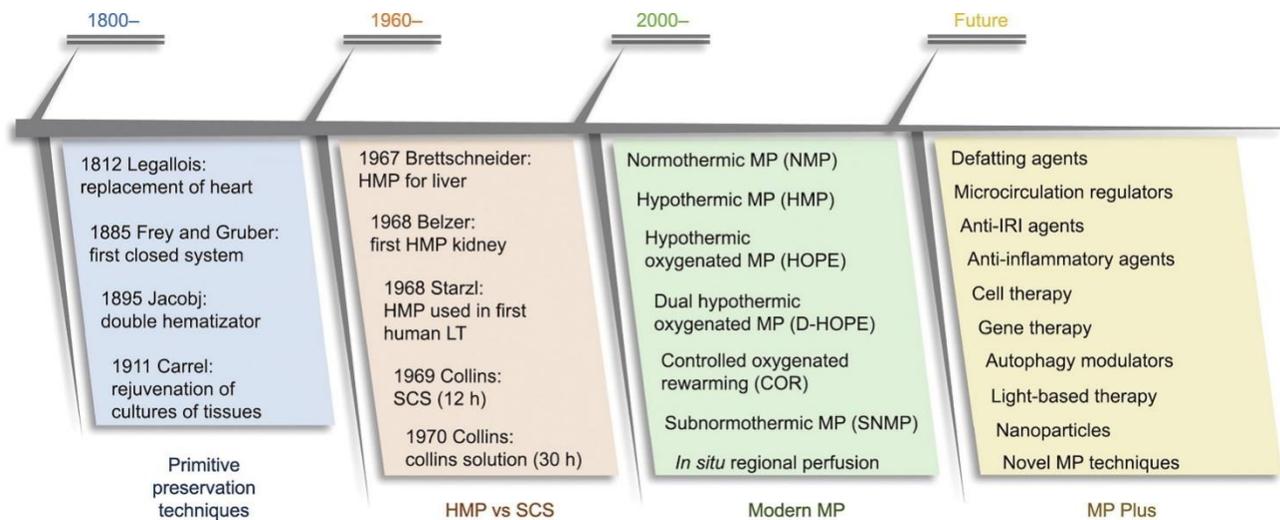


图 1. 器官保存的发展历史。

保障方面的作用也十分有限。常温机械灌注（normothermic machine perfusion, NMP）是一种允许在模拟正常体温下使用胶体悬浮液中的含氧浓缩红细胞作为灌注液的器官灌注技术，能够模拟优化生理状态下的器官功能；与SCS相比，这种方式在临床上已被证明可显著降低IRI [45]。此外，NMP期间监测的参数，包括乳酸清除率、pH值维持、葡萄糖代谢和胆汁生成，被证明可以预测器官质量和移植预后[45–46]。最近，Meszaros等[47]报道了NMP期间琥珀酸盐的线粒体呼吸和组织活力保持情况，线粒体外膜损伤的标志物、三磷酸腺苷（ATP）合成效率和耗散呼吸等可以预测肝移植的临床结局。许多致力于HMP、NMP或SCS比较分析的临床研究目前正在进行中，以进一步阐明MP在临床肝移植中的具体作用。

尽管NMP允许在移植前对ECD供肝进行胆道活力测试，但在SCS后应用时，它仍然与IRI相关。考虑HOPE或D-HOPE可以有效降低IRI，研究人员尝试将序贯D-HOPE和NMP相结合，以进一步改善高危人类供肝的保存和活力评估。该组合的首次临床试验显示效果极佳，移植后胆管病发生率低，从而使可移植肝脏数量增加了20% [48]。最近，来自荷兰格罗宁根的研究团队报道了出色的长期结局，他们证明，在序贯低温和常温MP后，供体热缺血时间不再被视为拒绝DCD肝脏移植的理由[49]。因此，不同MP技术的结合可能成为未来进一步改善器官保存和修复的关键策略。

由于较低的成本和较高的便利性，SCS在过去40年中一直是器官保存的重要方式[50]。最近，由于更好的生物工程设计和更高的成本效益，人们重新审视了MP的应用。现在已经探索了多种离体MP策略[6]，许多临床试验也在持续关注、研究这些策略的有效性[51]。

随着ECD供肝的使用越来越多，有机会将MP的作用

扩展到评估和保存之外，以修复和提升移植体。目前已有广泛的潜在策略[37,40]。本文提出了“机械灌注+”（MP Plus）的新理念，将“传统”的MP与旨在移植前修复和提升ECD移植体的策略相结合。“机械灌注+”平台旨在通过器官循环特定的灌注液来维持器官在特定的生理环境中以预防或减轻因不同原因导致的离体器官损伤；更好地保存器官，修复、提升甚至促进ECD供肝的再生，从而扩大肝脏供体池。

在“机械灌注+”过程中，许多物理参数很重要，因为它们会影响器官质量：①温度；②氧合；③过滤；④流速；⑤灌注压力；⑥保留动脉或静脉循环通路和血流方向；⑦肝脏运动[52]。迄今为止，已有多家公司和实验室开发了离体肝脏灌注平台，包括TransMedics器官护理系统（美国）、OrganOx Metra（英国）、XVIVO Organ Assist（荷兰）和LifePort Machine（瑞士）[6,27,52]。通过设计由一组外科医生、生物学家和工程师共同合作开发的灌注技术，可以使损伤的离体人类肝脏长期保持功能状态并进一步改善器官功能[52]。

在2020年国际肝移植学会（International Liver Transplant Society, ILTS）的MP分会上，有人提出研究者应更多地关注ECD移植体中已建立的研究方案和试验的发表，并将临床结局而不是实验室值作为主要终点[53]。对于ECD供肝，“机械灌注+”可能发挥超出器官保护之外的作用，即识别不同的病理生理过程并干预它们以减轻器官损伤。这些策略的例子包括脱脂治疗、微循环调节、抗IRI治疗、抗炎治疗、干细胞或祖细胞疗法、基因或病毒清除疗法，以及免疫调节疗法等（表1 [54–87]）。为了实现这些目标，“机械灌注+”将取决于在设计灌注机器和灌注方法时通过添加有效的药物或物质来改变相应的灌注液，清除有害废物以及优化生物工程技术等方面（图2）。

表1 不同“机械灌注+”策略的主要模式及其优势

ECD	MP	Plus	Advantages
MP plus vascular therapy			
DCD & steatosis	NMP	Hyperthermy [54]	Induce vasodilation, increase aerobic metabolism, induce protective molecules
Steatosis		Pentoxifylline [55], carvedilol [56]	Reduce vascular resistance, reduce peliosis at the end of perfusion
DCD		Prostaglandin E1 [57], epoprostenol [58], BQ123/verapamil [59]	Improve liver function, decrease hepatocytes death
MP plus defatting therapy			
Steatosis	NMP	GW7647, GW501516, hypericin, scoparone, forskolin, and visfatin [60]	A 65% decrease of hepatocyte triglyceride content after three hours
		Polyphenols, hypericin, scoparone, forskolin, and visfatin [61]	Defat steatotic rat livers with an optimized safety and reduced hepatotoxicity
		L-carnitine [62–63]	Reduce liver fat content both <i>in vitro</i> and in discarded liver grafts

ECD	MP	Plus	Advantages
		GDNF-loaded nanoparticles [64] Filters	Reduction of fat in high-fat diet-fed mice livers Physically remove solubilized fats (not applicable yet)
MP plus anti-aging therapy			
Elderly	—	Irisin [65]	Improve autophagy (tested <i>in vitro</i>)
	NMP	Senolytics (dasatinib, quercetin, navitoclax, and HSP90 inhibitors) [66]	Remove the aggravating effects when elderly liver grafts undergo the process of transplantation
MP plus anti-infectious therapy			
Bacterial infections	NMP or HMP	Antibiotics [67–68]	Reduce bacterial counts, reduce endotoxin levels, improve organ function (applied in kidney and lung)
	Sub-NMP (33°C)	Anti-inflammatory strategies (alprostadil, <i>n</i> -acetylcysteine, carbon monoxide, and sevoflurane) [69]	Decrease IL-6 and TNF- α , increase IL-10
	NMP	Antimicrobial agents [70]	Prolong the liver graft preservation time
		Antimicrobial agent (cefuroxime) [71]	Successful transplantation of septic donor livers
CMV infection	NMP	Immunotoxin (F49A-FTP) [72]	Reduce human CMV reactivation in recipients (applied in the lung)
HCV infection	NMP	Miravirsin [73]	Optimize liver function
	HMP	Methylene blue [74]	Reduce infectious HCV particles and transmission (applied in the kidney)
	NMP	Germicidal light or ultraviolet C irradiation [75]	Inactivate HCV in the perfusate (applied in the lung)
MP plus liver splitting			
Split liver grafts	HOPE	PEG35 and glutathione [76] D-HOPE [77]	Reduce IRI and improve liver splitting Reduce the cold ischemia time, improve transplant logistics, prolong the preservation time
	NMP	Ferroptosis regulator (deferroxamine) [78] Albumin, bicarbonate methylprednisolone, heparin, antibiotics, ursodeoxycholic acid, parenteral nutrition, lipids, and carnitine [79]	Decrease intrahepatic iron, HO-1, HIF α , AST, and ALT Long-term preservation of human hemi-livers Potential for liver regeneration <i>ex vivo</i>
MP plus cell therapy			
All ECD	NMP	MSCs [80]	Inhibit inflammatory reactions, alleviate rejection
DCD		MSCs [81]	Improve liver function, reduce hepatocyte apoptosis, repair mitochondrial damage
Discarded human livers		MAPCs [82] Primary cholangiocyte organoids [83]	Half of the grafts met the established criteria for organ viability Repair bile duct injury
MP plus gene therapy			
All ECD	NMP or HMP	siRNA targeting Fas receptor and <i>p53</i> gene [84]	Reduce hepatocyte apoptosis
	HOPE	siRNA [85]	A proof-of-concept study
MP plus immunotherapy			
All ECD	NMP	Bioengineering filtration [86] MSC-derived extracellular vesicles [87]	Remove passenger leukocytes Modulate the immune microenvironment

HSP90: heat-shock protein 90; GDNF: glial cell line-derived neurotrophic factor; MSC: mesenchymal stem cell; MAPC: multipotent adult progenitor cell; HO-1: heme oxygenase 1; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; IL-6: interleukin-6; PEGH35: polyethylene glycol 35; HIF α : hypoxia inducible factor α ; AST: aspartate transaminase; ALT: alanine aminotransferase; siRNA: small interfering RNA.

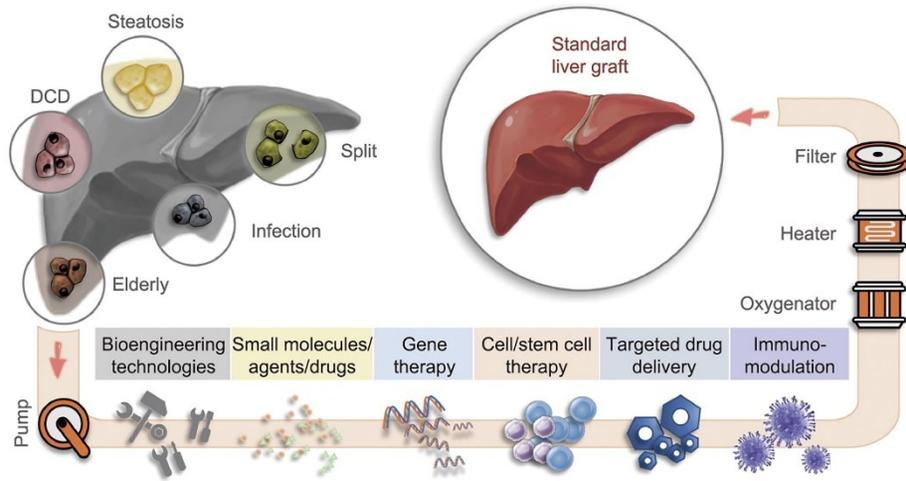


图 2. ECD 供肝的主要类型和“机械灌注+”的作用策略。

4. 应用于ECD供肝移植的“机械灌注+”策略

4.1. 机械灌注+循环调节治疗

富含脂肪的肝细胞被认为会导致肝窦受压，从而损害肝脏微循环。动物模型和人体研究均表明，微血栓导致的胆周血管损伤在DCD中更为突出，并且可能是促使DCD供肝相关移植后胆管病增加的病理生理过程，而这些现象也可能进一步加重肝脏IRI [88–89]。NMP为移植前修复和改善移植物的微循环提供了机会。MP的参数设置与NMP期间的微循环和血管阻力变化密切相关，并且可以很容易地通过一系列参数（包括温度）进行修改。NMP的新方法，包括超常温MP (> 38 °C)，已被提出作为诱导血管舒张、增加有氧代谢和诱导保护分子（如热休克蛋白）产生的有效策略[54]（表1）。

除了用于MP的可修改参数外，外源性血管扩张剂也被提议作为改善脂肪变性肝功能的治疗策略。其中一些药物已被应用于SCS保存溶液，但NMP现在提供了一种新的方法来使用这些药物，包括己酮可可碱（PTX）和卡维地洛（CVD）。PTX是一种甲基黄嘌呤磷酸二酯酶抑制剂，在外周血管中具有血管舒张作用，特别是在肝脏血管中[90]。Arnault等[55]在分离的大鼠脂肪变性肝脏SCS期间将PTX添加到威斯康星大学（UW）溶液中；PTX组在保存结束时具有显著降低的血管阻力和淤血（表1）。CVD是一种肾上腺素能阻断药物，用于治疗高血压和心脏缺血性疾病[91]。Ben Mosbah等[56]研究了UW溶液中CVD对保存大鼠脂肪变性肝脏的影响，并证明了在体外再灌注肝脏时血管阻力和灌注流速的变化（表1）。

微血栓的存在促使研究者探索在DCD供肝植入前使用溶栓治疗的情况[92]。人们担心溶栓疗法的作用可能持

续存在或转移到受者体内；然而，MP提供了一个安全、有效地利用此类疗法的机会，同时确保药物在移植前已代谢完成或从灌注液中移除，从而将受者的风险降至最低。最近，强效血管扩张剂在MP后移植受者中的疗效得到了验证。前列腺素E1（prostaglandin E1, PGE1）联合非控制性DCD对供肝进行短暂的氧合NMP可改善肝功能，减少肝细胞坏死或凋亡[57,93]（表1）。依前列醇是一种前列腺素类似物，是一种有效的血管扩张剂和血小板聚集抑制剂。在NMP的猪模型中，依前列醇治疗可显著降低血清天冬氨酸转氨酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）和乳酸脱氢酶（LDH）水平，并促进胆汁生成[58]（表1）。Echeverri等[59]将BQ123（内皮素-1拮抗剂）、依前列醇和维拉帕米（钙通道拮抗剂）应用于猪DCD肝脏的NMP。结果显示，BQ123组和维拉帕米组的肝动脉血流量显著高于依前列醇组，AST水平亦显著低于依前列醇组（表1）。

在脂肪变性和DCD供肝中观察到的复杂病理生理学可能需要一种结合了上述几种“治疗”策略的方法，如血管调节剂、血管扩张剂或溶栓疗法。一氧化氮（NO）也被证明可以调节大鼠脂肪变性肝脏模型中的微循环[94]。Nagai等[95]在SCS期间通过肝上腔静脉充气和氧合证明了NO的疗效。该策略改善了肝移植后的微循环和门静脉血流。本文研究团队前期研究发现，抗CD31抗体的表面偶联增强了纳米颗粒对接受NMP的人肾内皮细胞的靶向性，并成功预防了内皮细胞的IRI [96]。同样，在供肝的“机械灌注+”期间输送上述药物也可能发挥保护作用，目前已有许多研究团队正在开展相关实验[97]。

4.2. 机械灌注+脱脂疗法

降低肝细胞内甘油三酯（TG）的策略侧重于增加细

胞内储存TG的动员和上调脂肪酸（FA）的氧化或转运出胞。细胞质脂肪酶是启动细胞内TG动员及其转化为FA和甘油的核心。脂肪甘油三酯脂肪酶（ATGL）被认为是肝细胞内脂肪分解的限速步骤；然而，尚存在其他上调FA分解代谢的潜在途径。FA具有多种细胞内功能，其中之一是作为核受体的配体，上调与FA分解代谢相关酶的转录。利用FA的这种功能来增加其分解代谢可能是一种有效的方法。据报道，有几种药物可通过提高肝细胞内脂质分解代谢水平来减轻肝脂肪变性[98]。图3总结了肝细胞内脂质代谢的机制和用于脱脂的药物，以及可供未来研究的潜在靶点。

Nagrath等[60]使用分离的大鼠肝细胞证明，过氧化物酶体增殖物激活受体 α （PPAR α ）配体GW7647、PPAR δ 配体GW501516、孕烷X受体（PXR）配体金丝桃素、组成型雄甾烷受体（CAR）配体东莨菪碱、胰高血糖素模拟物和环磷酸腺苷（cAMP）激活剂毛喉素的组合可在作用24 h后显著降低肝细胞内脂肪含量约达24%（表1）。随后，研究人员通过将物质输送到离体NMP的脂肪变性肝脏以验证此种组合的疗效，并证明在灌注3 h后肝细胞内TG含量降低了65%。近期，美国华盛顿大学研究团队[61]开发了一种新型的多药组合，用两种多酚代替

GW化合物，并通过激活腺苷5'-单磷酸活化蛋白激酶（AMPK）途径成功实现脂肪大鼠肝脏的脱脂，优化了NMP期间的安全性并显著降低肝毒性（表1）。此外，其他药物在调控肝细胞内脂肪代谢方面的作用也仍在探索之中。雷帕霉素是哺乳动物雷帕霉素激酶靶标（kinase mammalian target of rapamycin, mTOR）的特异性抑制剂，已被证明可增强FA氧化，抑制脂质生成，并诱导TG分泌和细胞自噬[99–100]。坏死磺酰胺是混合谱系激酶结构域的抑制剂，可调节肝细胞的胰岛素敏感性和TG分泌[101]。Aoudjehane等[102]将雷帕霉素和坏死磺酰胺与Nagrath等[60]先前报道的药物相结合，形成一种新型脱脂混合物，并且在体外实验中能够有效降低人原代肝细胞中TG的含量。

FA线粒体 β 氧化的增强促使研究人员进一步探索左旋肉碱在脱脂策略中的作用。这种氨基酸已被证明在体外细胞实验和离体NMP的废弃供肝中都能有效降低肝脏脂肪含量[62–63]（表1）。然而，将动物模型中令人鼓舞的发现转化应用于人类肝细胞或肝脏，尚需要进一步研究，包括更彻底地表征动物模型中使用药物的精确作用机制。此外，在NMP中使用过滤器去除溶解脂肪可能具有一定效果，但也有待证明。已有报道称，移植后供肝脂肪变性

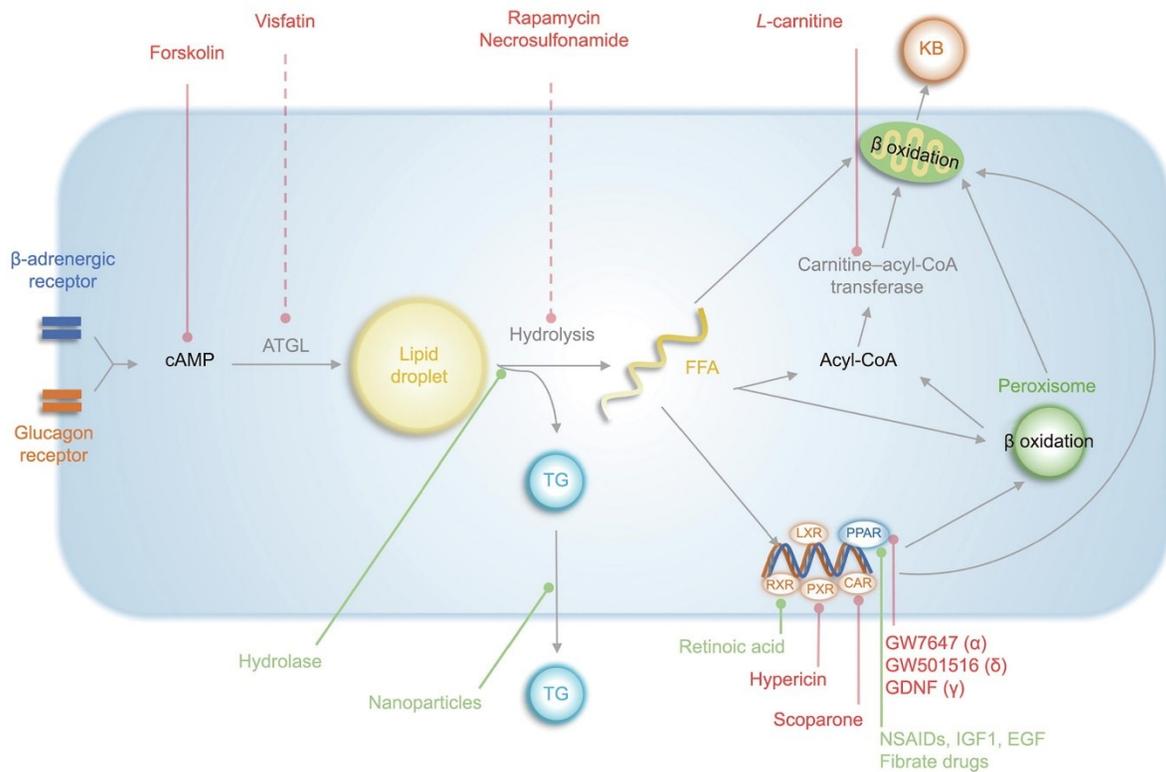


图3. 肝细胞内脂质代谢和脱脂剂的机制。cAMP: 环磷酸腺苷; FFA: 游离脂肪酸; KB: 酮体; LXR: 肝脏X受体; RXR: 类视黄醇X受体; PXR: 孕烷X受体; PPAR: 过氧化物酶体增殖物激活受体; CAR: 组成型雄甾烷受体; NSAID: 非甾体类抗炎药; IGF1: 胰岛素样生长因子1; EGF: 表皮生长因子。红色实线: 直接作用; 红色虚线: 间接作用; 绿色实线: 尚未有研究报道的药物。

在一定程度上能够实现自发逆转（12日内从30%~60%降至10%以下），表明体内肝脏脂肪含量具有相对快速改变的潜力[103-104]。因此，体外延长保存时间也很重要，这可以为任何“机械灌注+”策略提供足够的时间来离体修复器官。

操纵生长因子表达或参与脂肪生成和脂肪分解的基因可能为修复脂肪变性供肝提供另一种方法。生长因子胶质细胞系衍生的神经生长因子（GDNF）在小鼠中过表达，导致高脂饮食（HFD）诱导的体重增加和肝脏脂肪变性[105]。GDNF的过表达与PPAR γ 的表达被抑制以及PPAR α 和 β 肾上腺素能受体的表达增加有关，同时脂肪生成减少，脂肪分解和脂质 β 氧化增加[105-107]。此外，外源性施用负载GDNF的纳米颗粒可防止HFD饲养的野生型小鼠的脂肪变性。与对照组相比，HFD小鼠肝脏的脂肪含量显著降低[64]（表1），体外灌注模型也证明了其疗效。

4.3. 机械灌注+抗衰老疗法

已有证据表明，NMP对老年供肝具有保护作用，但目前尚不清楚NMP是否仅与减少冷缺血有关，而非其他机制[108]。因此，老年捐献者也可以取得良好的结果，而且几乎没有年龄上限。而挑战在于如何优化选择、采购和匹配，以保证老年供肝获得更好的移植预后。

老年供肝的显著标志之一是自噬的发生。Wang等[109]通过对体内和体外自噬相关蛋白（Agt4B）的分析研究了自噬在IRI中的作用，并证实老年小鼠肝脏中Agt4B的丢失会增加其对IRI的敏感性，而增加自噬可能会改善肝损伤并恢复线粒体功能。此外，Ohman等[110]通过应用转录组学和蛋白质组学分析来评估NMP期间基因表达的时间变化，发现废弃肝脏中自噬的激活与肝细胞功能的改善有关。因此，调节自噬可能是恢复“不可移植”的老年供肝功能的另一个治疗靶点。已经在老年肝细胞中对鸢尾素进行了实验，并证实可通过增加肝IRI中端粒酶的活性来改善自噬，这有可能实现MP联合用于修复老年供肝[65]（表1）。

细胞衰老在年龄相关性肝病和慢性肝病中起着重要作用，这可能对肝细胞和胆管细胞造成伤害[111-112]。老年供肝的细胞衰老可能会影响移植预后，针对衰老的疗法则越来越受到关注。senolytics是选择性靶向衰老细胞并诱导细胞凋亡的药物，可以消除老年供肝移植时的损伤加重作用[113]。目前正在研究的几种抗衰老药物，如达沙替尼、槲皮素、纳那托克和热休克蛋白90抑制剂，其中一些已在临床试验中进行了测试[66]（表1）。在NMP期

间，可以对老年供肝离体施用senolytics，从而实现减轻衰老、损伤的效果，同时降低移植后副作用的风险。然而，目前尚无实验或临床研究探索“机械灌注+”与senolytics的组合，需要进一步的研究以阐明其在老年供肝修复与功能提升中的作用。

4.4. 机械灌注+抗感染治疗

供体细菌感染是供体源性疾病传播的最常见风险，据报道，近30%的受者死于供体源性细菌感染[114]。供体细菌感染会影响器官质量，尤其是多重耐药菌感染，可能导致重度脓毒症，并增加移植后的住院时间、并发症发生率和死亡率[115]。然而，最近的报道表明，即使是多重耐药鲍曼不动杆菌细菌感染的供体用于肝移植仍能达到相当的结局[116-117]。因此，不应排除细菌感染阳性的潜在供肝进行器官移植。NMP或HMP与抗生素的联合使用已被证明在大鼠肾移植和人肺移植中均可显著降低细菌计数和内毒素水平，从而改善器官功能[67-68]（表1）。在一项猪移植研究中，采用抗炎策略[前列地尔、*n*-乙酰半胱氨酸、一氧化碳、七氟醚和亚低温（33 °C）]的NMP供肝显著降低了移植后炎症细胞因子白细胞介素（IL）-6和肿瘤坏死因子（TNF）- α ，并增加了抗炎细胞因子IL-10的水平[69]（表1）。最近，Clavien等[70]报道了他们在NMP期间使用抗菌药物三天成功治疗来自脓毒症供者肝脏（表1）的经验。同样，奥地利研究团队使用NMP和抗菌方案（头孢呋辛）联合进行的另一例脓毒性供体肝脏移植也获得成功[71]（表1）。这些病例报道表明，目前尚需精心设计的“机械灌注+”在减轻器官炎症和受体感染方面的临床研究，以进一步证实MP在改善移植后结果中的作用。

病毒感染是全球性的主要公共卫生问题和经济负担[118]。尽管对高危型CMV的联合用药（血清阳性供者与血清阴性受体）均采用相应的抗病毒治疗进行预防，但仍发生迟发性CMV感染或疾病[119]。根据年龄、地理和社会经济因素，成人人群中CMV的血清阳性率为30%~100% [120]。CMV感染供体器官（D+/R-移植）的低龄受者风险最大，血清阳性受者（D \pm /R+）的风险中等[121]。D-/R-对的感染风险最低。迄今为止，仅在人肺移植中，免疫毒素体外灌注（F49A-FTP）可显著降低受者的CMV再激活[72]（表1）。这再次证明，“机械灌注+”可能为靶向和杀死供体器官中潜伏的CMV提供一个平台，并取得了令人鼓舞的结果。

随着DAA的发展，HCV阳性供肝在肝移植中的应用越来越多[122]。“机械灌注+”在修复、提升这些移植物

方面也起着关键作用。来自加拿大多伦多总医院的Goldaracena等[73]研究了miravirsin（一种锁定的核酸寡核苷酸，可隔离micro-RNA-122并抑制HCV复制）在NMP下猪肝移植模型中的作用，药物摄取改善并优化了移植预后（表1）。Helfritz等[74]证明，亚甲蓝与HMP的组合减少了HCV颗粒的载量及其在肾移植过程中的传播（表1）。在肺移植中，NMP期间的杀菌光或紫外线照射也被证明可以在短时间内有效灭活灌注液中的HCV [75,123]（表1）。所有这些新方法都可能应用于治疗MP下供肝中的HCV感染。HBV比HCV更复杂，由于其被整合在宿主DNA中，很难通过目前的疗法实现感染后的完全清除。迄今为止，尚无研究关注“机械灌注+”下减轻供器官的HBV感染[124]。

4.5. 机械灌注+供肝劈裂

HOPE已有报道用于保存和修复劈裂式供肝，并取得了令人鼓舞的结果[125–126]。2022年，使用一种新型保存溶液聚乙二醇35（PEG35）和高浓度谷胱甘肽与HOPE相结合应用于劈裂式供肝，减轻了IRI的有害影响，并有效改善了供肝功能[76]（表1）。Thorne等[127]报道，左外侧节段的D-HOPE和扩展的右叶肝分裂手术减少了冷缺血时间（CIT）并改善了移植预后。Spada等[77]报道了D-HOPE在SLT中的首例临床病例，证实了MP保护劈裂式供肝可行性的临床前研究结果（表1）。除了移植物修复外，D-HOPE还允许延长器官离体保存时间，这是该技术的一个重要方面，因为它促进了分配和移植到两个受体的时间、空间可行性。目前已有前瞻性、伪随机化、双臂阶段的II期临床试验，旨在确定延长D-HOPE对劈裂式供肝修复与功能提升的重要作用（DHOPE-PRO）[128]。这些研究表明，MP可能是未来扩大供体池和提高SLT利用率的宝贵辅助手段。

Zhang等[129]首先比较了NMP与SCS在保存和移植劈裂式猪肝中的应用。Nazzari等[78]基于铁死亡（铁调节性肝细胞死亡）作为IRI驱动因素的新证据，评估了劈裂式供肝NMP结合铁死亡调节剂去铁胺是否可以调节离体保存后的肝内损伤（表1）。肝内铁、血红素加氧酶-1（HO-1）、缺氧诱导因子 α （HIF α ）、AST和ALT在干预后均显著降低，这为NMP结合铁死亡调节剂在修复劈裂式供肝中的潜在作用提供了初步的概念证明。

最近，在研究证明了NMP对劈裂式猪肝具有保护作用后，研究人员继续探索了NMP用于长期保存21个临床劈裂式人肝脏[79]（表1）。从接受解剖性肝切除术的患者中恢复的14例右半肝和7例左半肝灌注了含有白蛋白、碳

酸氢盐、甲泼尼龙、肝素、抗生素、熊去氧胆酸、肠外营养、脂质和肉碱的血液灌注液。21例半肝中有10例采用标准化灌注方案进行离体灌注，为期一周。灌注7天后活检的组织学检查显示未见明显细胞坏死或凋亡。此外，还证明了细胞的显著增殖，表明部分人肝脏在长时间的离体灌注期间具有再生能力。此外，较长的保存期，还可通过添加生长因子或基因干预治疗来加速这一过程，为劈裂式供肝的体外再生提供了机会[97]。

未来，劈裂式供肝可能在肝移植供体池中占据更大的比例，使用“机械灌注+”策略改善其修复和再生可能有助于研究人员和临床医生充分利用此类供肝以进一步提升移植预后。

4.6. 机械灌注+细胞治疗

间充质干细胞（MSC）和多能成体祖细胞（MAPC）是免疫调节细胞，也被证明对IRI有治疗作用[130–131]。在大鼠原位肝移植模型中，来源于脂肪组织的MSC被证明可以抑制炎症反应，并显著减轻原位肝移植后的急性排斥反应[80]。Verstegen等[81]首次报道了MP期间MSC向供肝的离体递送，能够有效抑制炎症反应并减轻排斥反应（表1）。

MSC和MAPC是两种主要类型的细胞疗法，它们提供了一种潜在的治疗策略，可以在移植前修复或提升ECD供肝。Yang等[132]在大鼠DCD模型中比较了NMP加MSC与单纯NMP或SCS，发现MSC的加入可显著改善肝功能和肝组织学损伤，减少肝细胞凋亡，修复肝细胞线粒体损伤已提出的潜在机制，包括减少肝细胞中的铁死亡[133]和抑制c-Jun-N末端激酶-核因子 κ -B（JNK-NF- κ B）通路，减少氧化应激并促进AMPK活化，从而减少线粒体损伤并提升线粒体功能[134]。Laing等[82]在NMP下直接将MAPC递送至6个废弃的人ECD肝脏（表1）。NMP加MAPC递送后，一半的移植物达到了既定的器官活力标准。对灌注液中的细胞因子和趋化因子的分析确定了与MAPC存在相关的9个靶标[IL-1 β 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1）、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）和基质细胞衍生因子-1a（SDF-1a）]。蛋白质组学分析则揭示了259种与MAPC有密切联系的独特蛋白质，功能富集分析证明了它们的免疫调节潜力。

减轻移植相关胆道损伤的方法包括类器官的使用。研究表明，在离体NMP期间，原代胆管细胞类器官可以移植到废弃的人肝脏中，并表达关键的胆道标志物[角蛋白7（KRT7）、角蛋白19（KRT19）、囊性纤维化跨膜传导调节

因子 (CFTR)、 γ -谷氨酰转肽酶 (GGT)] [83] (表 1)。此外, Roos 等[135]最近报道了人类分支胆管细胞类器官的构建, 这些类器官可以自组织成类似于肝内胆管结构的复杂管状结构。虽然在肝移植过程中尚未得到应用, 但它可以与 MP 结合使用, 通过在体外修复 ECD 供肝并最终改善移植预后来进一步扩大其利用。

借助 MP 使 MSC、MAPC 或类器官的递送能够恢复原本边缘或不可移植的器官具有极大的临床应用前景。需要进一步研究探索其他类型的原代或干细胞、造血干细胞和诱导多能干细胞等在 ECD 供肝再生中的治疗潜力。免疫细胞疗法 (如嵌合抗原受体 T 细胞疗法和调节性 T 细胞疗法) 也正在成为一种新的治疗策略, 未来将有可能与 MP 联合用于 ECD 供肝的修复和功能提升[136]。

4.7. 机械灌注+基因治疗

由于能够实现靶向递送至特定器官, 基因调节剂在 MP 中的应用也很有前景。据报道, 外源性施用小干扰 RNA (siRNA) 可有效减轻 IRI 和细胞凋亡等下游效应。Gilloly 等[137]在大鼠肝脏离体 NMP 和 HMP 模型中首次成功施用 siRNA。通过靶向 Fas 受体和 *p53* 基因, 其激活通过促凋亡途径加重 IRI, 大鼠肝脏在稳定状态下成功实现灌注[84] (表 1)。其他靶标, 包括 V-rel 网状内皮组织增殖病毒癌基因同源物 B (RelB)、TNF- α 和促凋亡半胱天冬酶, 已被证明对肝移植期间诱导 IRI 有显著影响, 在植入前沉默这些基因可能会改善血液再灌注后的 IRI [138]。最近, Bonaccorsi-Riani 等[85]报道了一项概念验证性研究, 该研究显示在 HOPE 期间递送 siRNA 化合物可以调节大鼠肝移植模型中的器官功能, 但需要更好的设计和明确 siRNA 化合物的准确使用剂量 (表 1)。由于大多数 ECD 供肝更容易受到 IRI 的影响, MP 作为基因调节的理想递送平台具有巨大的潜力。许多在体外和体内研究的基因或分子已被证明对修复 ECD 供肝具有显著的效果, 未来的研究则需要利用“机械灌注+”在体外介导基因调控以提高其临床适用性。

4.8. 机械灌注+免疫调节治疗

在感染过程中, 肝内炎症反应和免疫原性发生改变。移植前的 MP 可以调节移植物的免疫原性, 导致 IRI 和先天炎症反应的降低, 尤其是在 ECD 供肝中。在一项肝移植临床试验中, 与 SCS 对照组相比, HMP 显著降低了促炎细胞因子的表达, 缓解了黏附分子的下流活化和白细胞 (包括中性粒细胞和巨噬细胞) 的迁移[139]。Lauschke 等[140]发现, 在大鼠 DCD 肝脏中, 与 SCS 相比, 24 h HMP

显著降低了人白细胞抗原 (HLA) II 类抗原在窦后静脉内皮上的表达, 并改善了具有更高免疫原性的预损伤供肝的保存。

移植物的免疫调节可能会在 MP 期间将肝内免疫反应从炎症性转变为耐受性, 这种情况可能会降低感染供肝移植后的免疫激活。NMP 和生物工程相关过滤器的组合成功地消除了移植中过继迁移的白细胞, 从而显著减少了受体 T 细胞浸润, 降低了急性排斥反应的发生率[86] (表 1)。此外, 通过在 NMP 中添加 MSC 衍生的细胞外囊泡, 供肝表现出较轻的移植后 IRI, 有助于术后康复[87] (表 1)。这些益处是通过减弱免疫细胞活化和保持内皮屏障完整性来实现的, 从而有助于改善移植预后。另一种在 MP 期间减轻炎症和降低免疫应答的有效方法是利用抑制性 RNA, 其靶向供体器官炎症相关基因并能够降低肝移植后受者的免疫应答[84]。所有这些信息已经表明, 在离体灌注期间可以治疗器官, 以减少免疫激活并修复免疫感染的供肝。

5. 结论

随着全球对肝移植的需求不断增加, 提高 ECD 供肝的利用率是缓解器官短缺的一种重要方法。MP 在器官质量评估、器官转运、保存和修复方面具有潜在作用, 尤其是针对部分处于危险中的 ECD 器官。在过去的 10 年中, 人们对供肝的 MP 越来越感兴趣, 并且在该领域的实验和临床研究方面都取得了相当大的进展。其中一些工作正在超越器官质量评估和转运保存, 进一步转向器官的离体修复与功能提升。如果这些策略能显示出有效性, 它们将对可用于移植的供肝数量产生深远影响, 并且还将允许拓展新的潜在供体池。MP 将重新定义此前被认为是“不可移植”的供肝。

MP 及其所有不同的模式, 如 HMP、NMP、HOPE、D-HOPE 和序贯 D-HOPE 联合 NMP 等, 已经得到充分的研究, 以实现更好的器官保存和评估。“机械灌注+”是本文新提出的一个概念, 表示结合了不同 MP 模式和各种供肝干预的新策略, 所有这些都旨在提升器官功能并实现不同种类 ECD 供肝的体外再生。据报道, 包括循环调节治疗、脱脂治疗、抗衰老疗法、抗感染疗法、细胞或基因疗法以及免疫调节治疗在内的各种方法都凸显了这一快速发展领域的机遇和挑战。

然而, 未来仍有必要继续进行研究, 从小型和大型动物模型到废弃的人类肝脏等逐步向临床推进, 以确保这些新概念和策略最终从实验室研究转化到临床应用。更重要

的是, 必须进行精心设计的临床研究, 包括具有明确制定的结局终点的随机对照试验 (RCT), 以获得更高层次的临床证据。

致谢

感谢高逢强、王晓东、徐涵治在插图制作方面的帮助, 以及邱洵和谭雅文在稿件编辑方面的帮助。感谢审稿人为审稿所付出的时间和精力, 特别是为本文做出重要贡献的审稿人。本文研究团队珍惜所有意见和建议, 这些意见和建议使稿件的整体质量得到提升。

本工作也得到了国家重点研发计划(2021YFA1100500)、浙江大学-剑桥全球合作基金、国家自然科学基金(81930016 82003248)、浙江省重点研发计划(2022C03108)、浙江省医疗卫生科技计划项目(WKJZJ-2120)等基金、项目的大力支持。

Compliance with ethics guidelines

Zhoucheng Wang, Jack Martin, Jiongjie Yu, Kai Wang, Kourosh Saeb-Parsy, and Xiao Xu declare that they have no conflicts of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Bodzin AS, Baker TB. Liver transplantation today: where we are now and where we are going. *Liver Transpl* 2018;24(10):1470–2145.
- [2] Kwong AJ, Ebel NH, Kim WR, Lake JR, Smith JM, Schladt DP, et al. OPTN/SRTR 2020 annual data report: liver. *Am J Transplant* 2022; 22(Suppl 2): 204–309.
- [3] Dutkowsky P, de Rougemont O, Clavien PA. Machine perfusion for ‘marginal’ liver grafts. *Am J Transplant* 2008;8(5):917–24.
- [4] Mullhaupt B, Dimitroulis D, Gerlach JT, Clavien PA. Hot topics in liver transplantation: organ allocation—extended criteria donor—living donor liver transplantation. *J Hepatol* 2008;48(Suppl 1):S58–67.
- [5] Goldaracena N, Cullen JM, Kim DS, Ekser B, Halazun KJ. Expanding the donor pool for liver transplantation with marginal donors. *Int J Surg* 2020;82s: 30–5.
- [6] Sousa Da Silva RX, Weber A, Dutkowsky P, Clavien PA. Machine perfusion in liver transplantation. *Hepatology* 2022;76(5):1531–49.
- [7] Ceresa CDL, Nasralla D, Pollok JM, Friend PJ. Machine perfusion of the liver: applications in transplantation and beyond. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2022;19(3):199–209.
- [8] Durand F, Renz JF, Alkofer B, Burra P, Clavien PA, Porte RJ, et al. Report of the Paris consensus meeting on expanded criteria donors in liver transplantation. *Liver Transpl* 2008;14(12):1694–707.
- [9] Durand F, Levitsky J, Cauchy F, Gilgenkrantz H, Soubrane O, Francoz C. Age and liver transplantation. *J Hepatol* 2019;70(4):745–58.
- [10] Jiménez-Romero C, Clemares-Lama M, Manrique-Municio A, García-Sesma A, Calvo-Pulido J, Moreno-González E. Long-term results using old liver grafts for transplantation: sexagenarian versus liver donors older than 70 years. *World J Surg* 2013;37(9):2211–21.
- [11] Yersiz H, Lee C, Kaldas FM, Hong JC, Rana A, Schnickel GT, et al. Assessment of hepatic steatosis by transplant surgeon and expert pathologist: a prospective, double-blind evaluation of 201 donor livers. *Liver Transpl* 2013; 19(4):437–49.
- [12] Spitzer AL, Lao OB, Dick AA, Bakthavatsalam R, Halldorson JB, Yeh MM, et al. The biopsied donor liver: incorporating macrosteatosis into high-risk donor assessment. *Liver Transpl* 2010;16(7):874–84.
- [13] Fan J, Chen CJ, Wang YC, Quan W, Wang JW, Zhang WG. Hemodynamic changes in hepatic sinusoids of hepatic steatosis mice. *World J Gastroenterol* 2019;25(11):1355–65.
- [14] Lomero M, Gardiner D, Coll E, Haase-Kromwijk B, Procaccio F, Immer F, et al. Donation after circulatory death today: an updated overview of the European landscape. *Transpl Int* 2020;33(1):76–88.
- [15] Adam R, Karam V, Cailliez V, Grady JGO, Mirza D, Cherqui D, et al. 2018 Annual Report of the European Liver Transplant Registry (ELTR)—50-year evolution of liver transplantation. *Transpl Int* 2018;31(12):1293–317.
- [16] De Carlis R, Schlegel A, Frassoni S, Olivieri T, Ravaioli M, Camagni S, et al. How to preserve liver grafts from circulatory death with long warm ischemia? A retrospective Italian cohort study with normothermic regional perfusion and hypothermic oxygenated perfusion. *Transplantation* 2021;105(11):2385–96.
- [17] De Vera ME, Lopez-Solis R, Dvorchik I, Campos S, Morris W, Demetris AJ, et al. Liver transplantation using donation after cardiac death donors: long-term follow-up from a single center. *Am J Transplant* 2009;9(4):773–81.
- [18] Jeng WJ, Papatheodoridis GV, Lok ASF, Hepatitis B. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2023;401(10381):1039–52.
- [19] Cholongitas E, Papatheodoridis GV, Burroughs AK. Liver grafts from anti-hepatitis B core positive donors: a systematic review. *J Hepatol* 2010; 52(2): 272–9.
- [20] Yu S, Yu J, Zhang W, Cheng L, Ye Y, Geng L, et al. Safe use of liver grafts from hepatitis B surface antigen positive donors in liver transplantation. *J Hepatol* 2014;61(4):809–15.
- [21] Donatiggio D, Roggen F, De Reyck C, Verbaandert C, Bodeus M, Lerut J. Use of anti-HBc positive allografts in adult liver transplantation: toward a safer way to expand the donor pool. *Transpl Int* 2006;19(1):38–43.
- [22] Maness DL, Riley E, Studebaker G, Hepatitis C. Diagnosis and management. *Am Fam Physician* 2021;104:626–35.
- [23] Ting PS, Hamilton JP, Gurakar A, Urrunaga NH, Ma M, Glorioso J, et al. Hepatitis C-positive donor liver transplantation for hepatitis C seronegative recipients. *Transpl Infect Dis* 2019;21(6):e13194.
- [24] Wilms C, Walter J, Kaptein M, Mueller L, Lenk C, Sterneck M, et al. Long-term outcome of split liver transplantation using right extended grafts in adulthood: a matched pair analysis. *Ann Surg* 2006;244(6):865–72, discussion 872–3.
- [25] Hackl C, Schmidt KM, Susal C, Dohler B, Zidek M, Schlitt HJ. Split liver transplantation: current developments. *World J Gastroenterol* 2018; 24(47): 5312–21.
- [26] Nemes B, Gámán G, Polak WG, Gelley F, Hara T, Ono S, et al. Extended-criteria donors in liver transplantation Part II: reviewing the impact of extended-criteria donors on the complications and outcomes of liver transplantation. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;10(7):841–59.
- [27] Pinezich M, Vunjak-Novakovic G. Bioengineering approaches to organ preservation *ex vivo*. *Exp Biol Med* 2019;244(8):630–45.
- [28] Šušak S, Redžek A, Rosić M, Velicki L, Okiljević B. Development of cardiopulmonary bypass—a historical review. *Srp Arh Celok Lek* 2016;144(11–12):670–5.
- [29] Jacoby C. A contribution to the art of artificial blood circulation survivor organs. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie* 1895; 36:330–48.
- [30] Carrel A. Landmark article Nov 11, 1911: rejuvenation of cultures of tissues. By Alexis Carrel. *JAMA* 1983;250(8):1085.
- [31] Belzer FO, Ashby BS, Gulyassy PF, Powell M. Successful seventeen-hour preservation and transplantation of human-cadaver kidney. *N Engl J Med* 1968; 278(11):608–10.
- [32] Brettschneider L, Bell PR, Martin AJ Jr, Tarr JS, Taylor PD, Starzl TE. Conservation of the liver. *Transplant Proc* 1969;1:132–7.
- [33] Starzl TE, Groth CG, Brettschneider L, Penn I, Fulginiti VA, Moon JB, et al. Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Ann Surg* 1968; 168(3): 392–415.
- [34] Guarrera JV, Henry SD, Samstein B, Odeh-Ramadan R, Kinkhabwala M, Goldstein MJ, et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: the first clinical series. *Am J Transplant* 2010;10(2):372–81.
- [35] Guarrera JV, Henry SD, Samstein B, Reznik E, Musat C, Lukose TI, et al. Hypothermic machine preservation facilitates successful transplantation of

- “orphan” extended criteria donor livers. *Am J Transplant* 2015;15(1):161–9.
- [36] Van Rijn R, Schurink IJ, de Vries Y, van den Berg AP, Cortes Cerisuelo M, Darwish Murad S, et al. Hypothermic machine perfusion in liver transplantation—a randomized trial. *N Engl J Med* 2021;384(15):1391–401.
- [37] Liang A, Cheng W, Cao P, Cai S, Zhang L, Zhong K, et al. Effects of machine perfusion strategies on different donor types in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Surg* 2023. Online.
- [38] Schlegel A, Porte R, Dutkowski P. Protective mechanisms and current clinical evidence of hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE) in preventing post-transplant cholangiopathy. *J Hepatol* 2022;76(6):1330–47.
- [39] Schlegel A, de Rougemont O, Graf R, Clavien PA, Dutkowski P. Protective mechanisms of end-ischemic cold machine perfusion in DCD liver grafts. *J Hepatol* 2013;58(2):278–86.
- [40] Schlegel A, Mueller M, Muller X, Eden J, Panconesi R, von Felten S, et al. A multicenter randomized-controlled trial of hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) for human liver grafts before transplantation. *J Hepatol* 2023;78(4):783–93.
- [41] Parente A, Tirotta F, Pini A, Eden J, Dondossola D, Manzia TM, et al. Machine perfusion techniques for liver transplantation—a meta-analysis of the first seven randomized-controlled trials. *J Hepatol* 2023;79(5):1201–13.
- [42] Van Rijn R, van Leeuwen OB, Matton APM, Burlage LC, Wiersma-Buist J, van den Heuvel MC, et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion reduces bile duct reperfusion injury after transplantation of donation after circulatory death livers. *Liver Transpl* 2018;24(5):655–64.
- [43] Van Rijn R, van den Berg AP, Erdmann JI, Heaton N, van Hoek B, de Jonge J, et al. Study protocol for a multicenter randomized controlled trial to compare the efficacy of end-ischemic dual hypothermic oxygenated machine perfusion with static cold storage in preventing non-anastomotic biliary strictures after transplantation of liver grafts donated after circulatory death: DHOPE-DCD trial. *BMC Gastroenterol* 2019;19(1):40.
- [44] Dondossola D, Ravaioli M, Lonati C, Maroni L, Pini A, Accardo C, et al. The role of *ex situ* hypothermic oxygenated machine perfusion and cold preservation time in extended criteria donation after circulatory death and donation after brain death. *Liver Transpl* 2021;27(8):1130–43.
- [45] Nasralla D, Coussios CC, Mergental H, Akhtar MZ, Butler AJ, Ceresa CDL, et al. A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation. *Nature* 2018;557(7703):50–6.
- [46] Mergental H, Laing RW, Kirkham AJ, Perera M, Boteon YL, Attard J, et al. Transplantation of discarded livers following viability testing with normothermic machine perfusion. *Nat Commun* 2020;11(1):2939.
- [47] Meszaros AT, Hofmann J, Buch ML, Cardini B, Duzendorfer-Matt T, Nardin F, et al. Mitochondrial respiration during normothermic liver machine perfusion predicts clinical outcome. *EBioMedicine* 2022;85:104311.
- [48] Van Leeuwen OB, de Vries Y, Fujiyoshi M, Nijsten MWN, Ubbink R, Pelgrim GJ, et al. Transplantation of high-risk donor livers after *ex situ* resuscitation and assessment using combined hypo- and normothermic machine perfusion: a prospective clinical trial. *Ann Surg* 2019;270(5):906–14.
- [49] Van Leeuwen OB, Bodewes SB, Porte RJ, de Meijer VE. Excellent long-term outcome after sequential hypothermic and normothermic machine perfusion challenges the importance of functional donor warm ischemia time in DCD liver transplantation. *J Hepatol* 2023;S0168-8278(23)05004-3.
- [50] Collins GM, Bravo-Shugartman M, Terasaki PI. Kidney preservation for transportation. Initial perfusion and 30 hours’ ice storage. *Lancet* 1969;2(7632):1219–22.
- [51] Serifis N, Matheson R, Cloonan D, Rickert CG, Markmann JF, Coe TM. Machine perfusion of the liver: a review of clinical trials. *Front Surg* 2021;8:625394.
- [52] Eshmunov D, Becker D, Bautista Borrego L, Hefti M, Schuler MJ, Hagedorn C, et al. An integrated perfusion machine preserves injured human livers for 1 week. *Nat Biotechnol* 2020;38(2):189–98.
- [53] Kalisvaart M, Chadha R, De Martin E, Alconchel F, Goldaracena N, Keskin O, et al. Proceedings of the 26th annual virtual congress of the international liver transplantation society. *Transplantation* 2022;106(9):1738–44.
- [54] Thorne AM, Ubbink R, Bruggenwirth IMA, Nijsten MW, Porte RJ, de Meijer VE. Hyperthermia-induced changes in liver physiology and metabolism: a rationale for hyperthermic machine perfusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2020;319(1):G43–50.
- [55] Arnault I, Bao YM, Sebahg M, Anjo A, Dimicoli JL, Lemoine A, et al. Beneficial effect of pentoxifylline on microvesicular steatotic livers submitted to a prolonged cold ischemia. *Transplantation* 2003;76(1):77–83.
- [56] Ben Mosbah I, Rosello-Catafau J, Alfany-Fernandez I, Rimola A, Parellada PP, Mitjavila MT, et al. Addition of carvedilol to University Wisconsin solution improves rat steatotic and nonsteatotic liver preservation. *Liver Transpl* 2010;16(2):163–71.
- [57] Maida K, Akamatsu Y, Hara Y, Tokodai K, Miyagi S, Kashiwada T, et al. Short oxygenated warm perfusion with prostaglandin E1 administration before cold preservation as a novel resuscitation method for liver grafts from donors after cardiac death in a rat *in vivo* model. *Transplantation* 2016;100(5):1052–8.
- [58] Nassar A, Liu Q, Farias K, D’Amico G, Buccini L, Urcuyo D, et al. Role of vasodilation during normothermic machine perfusion of DCD porcine livers. *Int J Artif Organs* 2014;37(2):165–72.
- [59] Echeverri J, Goldaracena N, Kathis JM, Linares I, Roizales R, Kollmann D, et al. Comparison of BQ123, epoprostenol, and verapamil as vasodilators during normothermic *ex vivo* liver machine perfusion. *Transplantation* 2018;102(4):601–8.
- [60] Nagrath D, Xu H, Tanimura Y, Zuo R, Berthiaume F, Avila M, et al. Metabolic preconditioning of donor organs: defatting fatty livers by normothermic perfusion *ex vivo*. *Metab Eng* 2009;11(4–5):274–83.
- [61] Xu M, Zhou F, Ahmed O, Upadhyaya GA, Jia J, Lee C, et al. A novel multidrug combination mitigates rat liver steatosis through activating AMPK pathway during normothermic machine perfusion. *Transplantation* 2021;105(11):e215–25.
- [62] Boteon YL, Attard J, Boteon A, Wallace L, Reynolds G, Hubscher S, et al. Manipulation of lipid metabolism during normothermic machine perfusion: effect of defatting therapies on donor liver functional recovery. *Liver Transpl* 2019;25(7):1007–22.
- [63] Nativ NI, Yarmush G, So A, Barminko J, Maguire TJ, Schloss R, et al. Elevated sensitivity of macrosteatotic hepatocytes to hypoxia/reoxygenation stress is reversed by a novel defatting protocol. *Liver Transpl* 2014;20(8):1000–11.
- [64] Taba Taba Vakili S, Kailar R, Rahman K, Nezami BG, Mwangi SM, Anania FA, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor-induced mice liver defatting: a novel strategy to enable transplantation of steatotic livers. *Liver Transpl* 2016;22(4):459–67.
- [65] Bi J, Yang L, Wang T, Zhang J, Li T, Ren Y, et al. Irisin improves autophagy of aged hepatocytes via increasing telomerase activity in liver injury. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020:6946037.
- [66] van Willigenburg H, de Keizer PLJ, de Bruin RWF. Cellular senescence as a therapeutic target to improve renal transplantation outcome. *Pharmacol Res* 2018;130:322–30.
- [67] Liang H, Zhang P, Yu B, Liu Z, Pan L, He X, et al. Machine perfusion combined with antibiotics prevents donor-derived infections caused by multidrug-resistant bacteria. *Am J Transplant* 2022;22(7):1791–803.
- [68] Nakajima D, Cypel M, Bonato R, Machuca TN, Iskender I, Hashimoto K, et al. *Ex vivo* perfusion treatment of infection in human donor lungs. *Am J Transplant* 2016;16(4):1229–37.
- [69] Goldaracena N, Echeverri J, Spetzler VN, Kathis JM, Barbas AS, Louis KS, et al. Anti-inflammatory signaling during *ex vivo* liver perfusion improves the preservation of pig liver grafts before transplantation. *Liver Transpl* 2016;22(11):1573–83.
- [70] Clavien PA, Dutkowski P, Mueller M, Eshmunov D, Bautista Borrego L, Weber A, et al. Transplantation of a human liver following 3 days of *ex situ* normothermic preservation. *Nat Biotechnol* 2022;40(11):1610–6.
- [71] Krendl FJ, Oberhuber R, Breikopf R, Weiss G, Schneeberger S. Normothermic liver machine perfusion as a dynamic platform for assessment and treatment of organs from septic donors. *J Hepatol* 2023;78(2):e56–7.
- [72] Ribeiro RVP, Ku T, Wang A, Pires L, Ferreira VH, Michaelsen V, et al. *Ex vivo* treatment of cytomegalovirus in human donor lungs using a novel chemokine-based immunotoxin. *J Heart Lung Transplant* 2022;41(3):287–97.
- [73] Goldaracena N, Spetzler VN, Echeverri J, Kathis JM, Cherepanov V, Persson R, et al. Inducing hepatitis C virus resistance after pig liver transplantation—a proof of concept of liver graft modification using warm *ex vivo* perfusion. *Am J Transplant* 2017;17(4):970–8.
- [74] Helfritz FA, Bojkova D, Wanders V, Kuklinski N, Westhaus S, von Horn C, et al. Methylene blue treatment of grafts during cold ischemia time reduces the risk of hepatitis C virus transmission. *J Infect Dis* 2018;218(11):1711–21.
- [75] Galasso M, Feld JJ, Watanabe Y, Pipkin M, Summers C, Ali A, et al. Inactivating hepatitis C virus in donor lungs using light therapies during normothermic *ex vivo* lung perfusion. *Nat Commun* 2019;10(1):481.
- [76] Panisello-Roselló A, da Silva RT, Folch-Puy E, Carbonell T, Palmeira CM, Fondevila C, et al. The use of a single, novel preservation solution in split liver transplantation and hypothermic oxygenated machine perfusion. *Transplantation* 2022;106(3):e187–8.
- [77] Spada M, Angelico R, Grimaldi C, Francalanci P, Saffioti MC, Rigamonti A, et al. The new horizon of split-liver transplantation: *ex situ* liver splitting during

- hypothermic oxygenated machine perfusion. *Liver Transpl* 2020;26(10):1363–7.
- [78] Nazzari M, Madsen EC, Armstrong A, van Nispen J, Murali V, Song E, et al. Novel NMP split liver model recapitulates human IRI and demonstrates ferroptosis modulators as a new therapeutic strategy. *Pediatr Transplant* 2021; 26(2):e14164.
- [79] Mueller M, Hefli M, Eshmunov D, Schuler MJ, Sousa Da Silva RX, Petrowsky H, et al. Long-term normothermic machine preservation of partial livers: first experience with 21 human hemi-livers. *Ann Surg* 2021; 274(5): 836–42.
- [80] Wan CD, Cheng R, Wang HB, Liu T. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells derived from adipose tissues in a rat orthotopic liver transplantation model. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008;7:29–33.
- [81] Verstege MMA, Mezzanotte L, Ridwan RY, Wang K, de Haan J, Schurink IJ, et al. First report on *ex vivo* delivery of paracrine active human mesenchymal stromal cells to liver grafts during machine perfusion. *Transplantation* 2020; 104(1):e5–7.
- [82] Laing RW, Stubblefield S, Wallace L, Roobrouck VD, Bhogal RH, Schlegel A, et al. The delivery of multipotent adult progenitor cells to extended criteria human donor livers using normothermic machine perfusion. *Front Immunol* 2020;11:1226.
- [83] Sampaziotis F, Muraro D, Tysoe OC, Sawiak S, Beach TE, Godfrey EM, et al. Cholangiocyte organoids can repair bile ducts after transplantation in the human liver. *Science* 2021;371(6531):839–46.
- [84] Thijsen MF, Bruggenwirth IMA, Gillooly A, Khvorova A, Kowalik TF, Martins PN. Gene silencing with siRNA (RNA interference): a new therapeutic option during *ex vivo* machine liver perfusion preservation. *Liver Transpl* 2019; 25(1):140–51.
- [85] Bonaccorsi-Riani E, Gillooly AR, Iesari S, Bruggenwirth IMA, Ferguson CM, Komuta M, et al. Delivering siRNA compounds during HOPE to modulate organ function: a proof-of-concept study in a rat liver transplant model. *Transplantation* 2022;106(8):1565–76.
- [86] Stone JP, Critchley WR, Major T, Rajan G, Risnes I, Scott H, et al. Altered immunogenicity of donor lungs via removal of passenger leukocytes using *ex vivo* lung perfusion. *Am J Transplant* 2016;16(1):33–43.
- [87] Stone ML, Zhao Y, Robert Smith J, Weiss ML, Kron IL, Laubach VE, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles attenuate lung ischemia-reperfusion injury and enhance reconditioning of donor lungs after circulatory death. *Respir Res* 2017;18(1):212.
- [88] Du Z, Dong S, Lin P, Chen S, Wu S, Zhang S, et al. Warm ischemia may damage peribiliary vascular plexus during DCD liver transplantation. *Int J Clin Exp Med* 2015;8:758–63.
- [89] Op den Dries S, Westerkamp AC, Karimian N, Gouw AS, Bruinsma BG, Markmann JF, et al. Injury to peribiliary glands and vascular plexus before liver transplantation predicts formation of non-anastomotic biliary strictures. *J Hepatol* 2014;60:1172–9.
- [90] Marteau P, Ballet F, Chretien Y, Rey C, Jaillon P, Poupon R. Effect of vasodilators on hepatic microcirculation: a study of the inhibition of norepinephrine-induced vasoconstriction in the isolated perfused rat liver. *Hepatology* 1988;8(2):228–31.
- [91] Cohn LJ. *Carvedilol*. *N Engl J Med* 1999;340(18):1443–4.
- [92] Verhoeven CJ, Simon TC, de Jonge J, Doukas M, Biermann K, Metselaar HJ, et al. Liver grafts procured from donors after circulatory death have no increased risk of microthrombi formation. *Liver Transpl* 2016;22(12):1676–87.
- [93] Hara Y, Akamatsu Y, Maida K, Kashiwada T, Kobayashi Y, Ohuchi N, et al. A new liver graft preparation method for uncontrolled non-heart-beating donors, combining short oxygenated warm perfusion and prostaglandin E1. *J Surg Res* 2013;184(2):1134–42.
- [94] Ijaz S, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. The role of nitric oxide in the modulation of hepatic microcirculation and tissue oxygenation in an experimental model of hepatic steatosis. *Microvasc Res* 2005;70(3):129–36.
- [95] Nagai K, Yagi S, Afify M, Bleilevens C, Uemoto S, Tolba RH. Impact of venous-systemic oxygen persufflation with nitric oxide gas on steatotic grafts after partial orthotopic liver transplantation in rats. *Transplantation* 2013;95(1): 78–84.
- [96] Tietjen GT, Hosgood SA, DiRito J, Cui J, Deep D, Song E, et al. Nanoparticle targeting to the endothelium during normothermic machine perfusion of human kidneys. *Sci Transl Med* 2017;9(418):e26764.
- [97] Lascaris B, de Meijer VE, Porte RJ. Normothermic liver machine perfusion as a dynamic platform for regenerative purposes: what does the future have in store for us? *J Hepatol* 2022;77(3):825–36.
- [98] Boteon YL, Boteon A, Attard J, Mergental H, Mirza DF, Bhogal RH, et al. *Ex situ* machine perfusion as a tool to recondition steatotic donor livers: troublesome features of fatty livers and the role of defatting therapies. A systematic review. *Am J Transplant* 2018;18(10):2384–99.
- [99] Chen H, Shen F, Sherban A, Nocon A, Li Y, Wang H, et al. DEP domain-containing mTOR-interacting protein suppresses lipogenesis and ameliorates hepatic steatosis and acute-on-chronic liver injury in alcoholic liver disease. *Hepatology* 2018;68(2):496–514.
- [100] Zhou W, Ye S. Rapamycin improves insulin resistance and hepatic steatosis in type 2 diabetes rats through activation of autophagy. *Cell Biol Int* 2018;42(10): 1282–91.
- [101] Xu H, Du X, Liu G, Huang S, Du W, Zou S, et al. The pseudokinase MLKL regulates hepatic insulin sensitivity independently of inflammation. *Mol Metab* 2019;23:14–23.
- [102] Aoudjehane L, Gautheron J, Le Goff W, Goumard C, Gilaizeau J, Nget CS, et al. Novel defatting strategies reduce lipid accumulation in primary human culture models of liver steatosis. *Dis Model Mech* 2020;13:dmm.042663.
- [103] Doyle MB, Vachharajani N, Wellen JR, Anderson CD, Lowell JA, Shenoy S, et al. Short- and long-term outcomes after steatotic liver transplantation. *Arch Surg* 2010;145(7):653–60.
- [104] Westerkamp AC, de Boer MT, van den Berg AP, Gouw AS, Porte RJ. Similar outcome after transplantation of moderate macrovesicular steatotic and nonsteatotic livers when the cold ischemia time is kept very short. *Transpl Int* 2015;28(3):319–29.
- [105] Mwangi SM, Peng S, Nezami BG, Thorn N, Farris AB 3rd, Jain S, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor protects against high-fat diet-induced hepatic steatosis by suppressing hepatic PPAR- γ expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2016;310(2):G103–16.
- [106] Mwangi S, Anitha M, Mallikarjun C, Ding X, Hara M, Parsadian A, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor increases β -cell mass and improves glucose tolerance. *Gastroenterology* 2008;134(3):727–37.
- [107] Mwangi SM, Nezami BG, Obukwelu B, Anitha M, Marri S, Fu P, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor protects against high-fat diet-induced obesity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014;306(6):G515–25.
- [108] Ghinolfi D, Rreka E, De Tata V, Franzini M, Pezzati D, Fierabracci V, et al. Pilot, open, randomized, prospective trial for normothermic machine perfusion evaluation in liver transplantation from older donors. *Liver Transpl* 2019;25(3): 436–49.
- [109] Wang JH, Ahn IS, Fischer TD, Byeon JI, Dunn WA Jr, Behrns KE, et al. Autophagy suppresses age-dependent ischemia and reperfusion injury in livers of mice. *Gastroenterology* 2011;141(6):2188–99e6.
- [110] Ohman A, Raigani S, Santiago JC, Heaney MG, Boylan JM, Parry N, et al. Activation of autophagy during normothermic machine perfusion of discarded livers is associated with improved hepatocellular function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2022;322(1):G21–33.
- [111] Ogrodnik M, Miwa S, Tchkonja T, Tiniakos D, Wilson CL, Lahat A, et al. Cellular senescence drives age-dependent hepatic steatosis. *Nat Commun* 2017; 8(1):15691.
- [112] Sasaki M, Sato Y, Nakanuma Y. Increased p16(INK4a)-expressing senescent bile ductular cells are associated with inadequate response to ursodeoxycholic acid in primary biliary cholangitis. *J Autoimmun* 2020;107:102377.
- [113] Prata L, Ovsyannikova IG, Tchkonja T, Kirkland JL. Senescent cell clearance by the immune system: emerging therapeutic opportunities. *Semin Immunol* 2018;40:101275.
- [114] Echenique IA, Ison MG. Update on donor-derived infections in liver transplantation. *Liver Transpl* 2013;19(6):575–85.
- [115] Gurusamy KS, Nagendran M, Davidson BR. Methods of preventing bacterial sepsis and wound complications after liver transplantation. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;Cd006660.
- [116] Chan KM, Cheng CH, Wu TH, Lee CF, Wu TJ, Chou HS, et al. Impact of donor with evidence of bacterial infections on deceased donor liver transplantation: a retrospective observational cohort study in Taiwan. *BMJ Open* 2019; 9(3): e023908.
- [117] García-Carrera CJ, Rivera-Lopez FE, Papacristofilou-Riebeling B, Fernández-García OA, García-Juárez I. Liver transplantation from a donor with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. Is it a risk? *Rev Gastroenterol Mex* 2023;S2255-534X(23)00089-0.
- [118] Zeng DY, Li JM, Lin S, Dong X, You J, Xing QQ, et al. Global burden of acute viral hepatitis and its association with socioeconomic development status, 1990–2019. *J Hepatol* 2021;75(3):547–56.
- [119] Singh N, Winston DJ, Razonable RR, Lyon GM, Silveira FP, Wagener MM, et al. Effect of preemptive therapy vs antiviral prophylaxis on cytomegalovirus disease in seronegative liver transplant recipients with seropositive donors: a randomized clinical trial. *JAMA* 2020;323(14):1378–87.

- [120] Lautenschlager I. CMV infection, diagnosis and antiviral strategies after liver transplantation. *Transpl Int* 2009;22(11):1031–40.
- [121] Nam H, Nilles KM, Levitsky J, Ison MG. Donor-derived viral infections in liver transplantation. *Transplantation* 2018;102(11):1824–36.
- [122] Kapila N, Menon KVN, Al-Khalloufi K, Vanatta JM, Murgas C, Reino D, et al. Hepatitis C virus NAT-positive solid organ allografts transplanted into hepatitis C virus-negative recipients: a real-world experience. *Hepatology* 2020;72(1):32–41.
- [123] Cypel M, Feld JJ, Galasso M, Pinto Ribeiro RV, Marks N, Kuczynski M, et al. Prevention of viral transmission during lung transplantation with hepatitis C-viraemic donors: an open-label, single-centre, pilot trial. *Lancet Respir Med* 2020;8(2):192–201.
- [124] Crismale JF, Ahmad J. Expanding the donor pool: hepatitis C, hepatitis B and human immunodeficiency virus-positive donors in liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2019;25(47):6799–812.
- [125] Ishii D, Matsuno N, Gochi M, Iwata H, Shonaka T, Nishikawa Y, et al. Beneficial effects of end-ischemic oxygenated machine perfusion preservation for split-liver transplantation in recovering graft function and reducing ischemia-reperfusion injury. *Sci Rep* 2021;11(1):22608.
- [126] Mabrut JY, Lesurtel M, Muller X, Dubois R, Ducerf C, Rossignol G, et al. *Ex vivo* liver splitting and hypothermic oxygenated machine perfusion: technical refinements of a promising preservation strategy in split liver transplantation. *Transplantation* 2021;105(8):e89–90.
- [127] Thorne AM, Lantinga V, Bodewes S, de Kleine RHJ, Nijkamp MW, Sprakel J, et al. *Ex situ* dual hypothermic oxygenated machine perfusion for human split liver transplantation. *Transplant Direct* 2021;7(3):e666.
- [128] Brüggewirth IMA, Lantinga VA, Rayar M, van den Berg AP, Blokzijl H, Reyntjens K, et al. Prolonged dual hypothermic oxygenated machine preservation (DHOPE-PRO) in liver transplantation: study protocol for a stage 2, prospective, dual-arm, safety and feasibility clinical trial. *BMJ Open Gastroenterol* 2022;9(1):e000842.
- [129] Zhang ZB, Gao W, Liu L, Shi Y, Ma N, Huai MS, et al. Normothermic machine perfusion protects against liver ischemia-reperfusion injury during reduced-size liver transplantation in pigs. *Ann Transplant* 2019;24:9–17.
- [130] Jacobs SA, Pinxteren J, Roobrouck VD, Luyckx A, van 't Hof W, Deans R, et al. Human multipotent adult progenitor cells are nonimmunogenic and exert potent immunomodulatory effects on alloreactive T-cell responses. *Cell Transplant* 2013;22(10):1915–28.
- [131] Zheng J, Lu T, Zhou C, Cai J, Zhang X, Liang J, et al. Extracellular vesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells protect liver ischemia/reperfusion injury by reducing CD154 expression on CD4+ T cells via CCT2. *Adv Sci* 2020;7(18):1903746.
- [132] Yang L, Cao H, Sun D, Hou B, Lin L, Shen ZY, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells combine with normothermic machine perfusion to improve rat donor liver quality—the important role of hepatic microcirculation in donation after circulatory death. *Cell Tissue Res* 2020;381(2):239–54.
- [133] Sun D, Yang L, Zheng W, Cao H, Wu L, Song H. Protective effects of bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSCS) combined with normothermic machine perfusion on liver grafts donated after circulatory death via reducing the ferroptosis of hepatocytes. *Med Sci Monit* 2021;27:e930258.
- [134] Yang L, Cao H, Sun D, Lin L, Zheng WP, Shen ZY, et al. Normothermic machine perfusion combined with bone marrow mesenchymal stem cells improves the oxidative stress response and mitochondrial function in rat donation after circulatory death livers. *Stem Cells Dev* 2020;29(13):835–52.
- [135] Roos FJM, van Tienderen GS, Wu H, Bordeu I, Vinke D, Albarinos LM, et al. Human branching cholangiocyte organoids recapitulate functional bile duct formation. *Cell Stem Cell* 2022;29(5):776–94.e13.
- [136] Yu J, Liu Z, Li C, Wei Q, Zheng S, Saeb-Parsy K, et al. Regulatory T cell therapy following liver transplantation. *Liver Transpl* 2021;27(2):264–80.
- [137] Gillooly AR, Perry J, Martins PN. First report of siRNA uptake (for RNA interference) during *ex vivo* hypothermic and normothermic liver machine perfusion. *Transplantation* 2019;103(3):e56–7.
- [138] Brüggewirth IMA, Martins PN. RNA interference therapeutics in organ transplantation: the dawn of a new era. *Am J Transplant* 2020;20(4):931–41.
- [139] Henry SD, Nachber E, Tulipan J, Stone J, Bae C, Reznik L, et al. Hypothermic machine preservation reduces molecular markers of ischemia/reperfusion injury in human liver transplantation. *Am J Transplant* 2012;12(9):2477–86.
- [140] Lauschke H, Olschewski P, Tolba R, Schulz S, Minor T. Oxygenated machine perfusion mitigates surface antigen expression and improves preservation of predamaged donor livers. *Cryobiology* 2003;46(1):53–60.