

## 常温机械灌注技术在离断肢体保存中的作用研究进展

贾志博 管延军 宋翔宇 董阳辉 杨博尧 崔梦一 许文静 彭江

**【摘要】** 肢体离断伤在临床工作中较为常见，对离断肢体实施安全有效的保护是肢体再植成功的关键。常温机械灌注技术已经在器官移植领域取得很大突破，可长时间维持器官和组织的活性功能，延长其保存时间，在大动物模型以及临床应用中得到了很好的验证。同时这项技术有望为离断肢体的保存和功能恢复提供新的参考。因此，本文就静态冷保存在离断肢体保存中存在的问题、机械灌注的发展历程、离断肢体常温机械灌注的临床应用现状以及有待解决问题进行综述，并展望其发展方向和临床应用前景，以期推动该技术在临床广泛应用。

**【关键词】** 离断肢体；肢体保存；静态冷保存；常温机械灌注；肢体再植；缺血-再灌注损伤；灌注液；含氧载体

**【中图分类号】** R617, R658 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2024) 05-0019-06

**Research progress on the role of normothermic machine perfusion in the preservation of severed limbs** Jia Zhibo\*, Guan Yanjun, Song Xiangyu, Dong Yanghui, Yang Boyao, Cui Mengyi, Xu Wenjing, Peng Jiang. \*Research Institute of Orthopaedic Medicine Department, the Fourth Medical Center of the Chinese People's Liberation Army, All-Army Orthopaedic Battle Trauma Key Laboratory, Beijing Key Laboratory of Orthopaedic Regenerative Medicine, Beijing 100853, China  
Corresponding author: Peng Jiang, Email: pengjiang301@126.com

**【Abstract】** Limb dismemberment injuries are common in clinical practice, and safe and effective protection of the dismembered limb is the key to successful limb replantation. Normothermic machine perfusion has made significant breakthrough in the field of organ transplantation, which may maintain the active function of organs and tissues for a long period of time and prolong the preservation time. These findings have been validated in large animal models and clinical trials. Meantime, this technology is expected to provide novel reference for the preservation and functional recovery of severed limbs. Therefore, this paper reviews the problems of static cold preservation in the preservation of disarticulated limbs, the development history of mechanical perfusion, the current status of clinical application of ambient mechanical perfusion of disarticulated limbs as well as the problems to be solved, and looks forward to the direction of its development and the prospect of its clinical application, with a view to promoting the wide application of this technology in the clinic.

**【Key words】** Severed limb; Limb preservation; Static cold storage; Normothermic machine perfusion; Limb replantation; Ischemia-reperfusion injury; Perfusion fluid; Oxygen containing carrier

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2024062

基金项目：国家重点研发计划（2019YFA0110704）；解放军总医院青年自主创新科学基金项目（22QNFC014）

作者单位：100853 北京，中国人民解放军总医院第四医学中心骨科医学部研究所 全军骨科战创伤重点实验室 骨科再生医学北京市重点实验室（贾志博、管延军、宋翔宇、董阳辉、杨博尧、崔梦一、许文静、彭江）；河北北方学院研究生院（贾志博、宋翔宇、董阳辉）；解放军医学院（管延军、杨博尧）

作者简介：贾志博（ORCID 0009-0000-0547-8327），硕士，研究方向为离断肢体保存、周围神经损伤修复、神经类器官培养，Email: jiazhibo1995@163.com

通信作者：彭江（ORCID 0000-0003-4662-9288），主任医师，教授，博士研究生导师，研究方向为股骨头坏死保髋治疗、关节软骨损伤修复、周围神经损伤修复、离断肢体保存及骨科康复治疗，Email: pengjiang301@126.com

肢体离断伤具有较高的致残率,严重影响患者生活质量。肢体离断后因缺血缺氧生理代谢功能受限,线粒体功能障碍和细胞稳态下降致使细胞变性和组织坏死<sup>[1]</sup>。对离断肢体实施安全有效的保护是肢体再植成功的关键。目前静态冷保存(static cold storage, SCS)技术是临床断肢保存的金标准<sup>[2]</sup>,但仍存在一些缺点,如低温损伤、保存时间短、弃用率高等。为此,国内外诸多团队尝试通过机械灌注技术来实现肢体血管化复合组织移植物的保存和修复。在大动物离断肢体模型研究中,常温机械灌注(normothermic machine perfusion, NMP)可使组织细胞在离断肢体保存期间维持正常的生理代谢,避免缺血缺氧和低温的不利影响,保存效果较 SCS 更好<sup>[3]</sup>。NMP 是在无血液供应的情况下,通过模拟体内生理环境,为实体器官、离断肢体提供氧气和营养物质,维持其新陈代谢功能,防止组织坏死和功能损失。尽管目前大部分研究是针对器官移植领域<sup>[4-5]</sup>,但也有一些研究开始探索将该技术应用于保存离断肢体<sup>[6-10]</sup>。目前关于 NMP 保存离断肢体的研究进展还比较有限,本文总结离断肢体 NMP 相关研究进展,并展望其发展方向以及临床应用前景,旨在为 NMP 在断肢保存中的应用提供参考。

## 1 静态冷保存存在的问题

SCS 适用于心脏、肺、肝脏、肾脏等实体器官以及包括肢体在内的肢体血管化复合组织移植物的保存,广泛应用于移植领域<sup>[11-14]</sup>。在器官或肢体无血液供应的情况下,通常将器官置于 4℃ 左右的无菌器官保存液中,离断肢体则用无菌纱布和密封塑料袋包裹后,置于 4℃ 冰水溶液中。通过低温环境抑制器官、组织的新陈代谢以及相关酶类物质分解,从而减轻器官、肢体的不可逆损伤。20 世纪 30 年代,Allen 首次提出了干燥 SCS 方法。由于此方法操作简单且便捷,成本低,便于各种场景应用,一直沿用至今。但存在以下问题:(1)低温可以减缓组织代谢,但细胞无氧代谢活动并没有停止,细胞三磷酸腺苷储备会耗尽;(2)无氧环境下加剧自身代谢产物及有毒物质堆积<sup>[3]</sup>;(3)保存时间有限,肢体是由来源于不同胚层的多种组织所构成的,而不同组织对于缺血的耐受性存在较大差异,如骨骼、肌腱、脂肪和皮肤可以耐受较长时间的缺血,但肌肉、血管和神经则对缺血的耐受性较差,而骨骼肌作为对缺血损伤

最敏感的组织类型,其耐受缺血的时间仅 4 h,一旦保存时间超过这一时限,则会对肌肉组织造成不可逆的损伤,从而影响移植后肢体功能的恢复<sup>[15-16]</sup>;(4)无法评估器官、肢体组织活力;(5)在器官、肢体保存和运输过程中会因缺血缺氧导致组织损伤和功能下降,保存质量不稳定,弃用率较高等。

在实体器官 SCS 中有研究者向器官保存液中加入含氧载体,可一定程度减轻细胞的缺氧损伤,但仍不能完全解决 SCS 存在的问题<sup>[17-20]</sup>。对于肢体 SCS 而言,应谨防直接接触包括生理盐水在内的任何液体,用冰水、酒精等浸泡的断肢组织遭受严重损坏一般不宜再植。

## 2 机械灌注的发展历程

机械灌注装置主要由蠕动泵或离心泵、膜式氧合器、储液过滤装置、压力流量传感装置、循环管路、水热交换器、氧气瓶和主机组成。用于器官保存的历史可以追溯到 20 世纪初,1934 年 Charles 等研制出第一台动物器官保存的设备,从而引入了体外 NMP。直到 20 世纪 60 年代开始应用于人体器官移植领域,Belzer 发明了第一台临床机械灌注设备,首次采用 HMP 技术对肾脏灌注 17 h 后进行移植<sup>[21]</sup>。Bloom<sup>[22]</sup>和 Brettschneider 等<sup>[23]</sup>分别将机械灌注用于离体心脏、肝脏的离体保存。1964 年 Delorme 等<sup>[24]</sup>率先进行了离断肢体人体标本灌注,主要针对离断肢体灌注后肢体的肌肉骨骼功能进行研究。1976 年 O'Donovan 等<sup>[25]</sup>灌注人离断肢体后并对肢体活力进行评估。肢体机械灌注的发展相对较晚。在 20 世纪末和 21 世纪初随着生物材料和工程技术的进步,研究人员开始探索适合离断肢体的机械灌注技术。包括灌注液的选择、灌注压力和流量控制,温度和时间的优化等,目前已有学者对低温机械灌注(hypothermic machine perfusion, HMP)(0~12℃)、中温机械灌注(midthermic machine perfusion, MMP)(13~24℃)、亚常温机械灌注(subnormothermic machine perfusion, SNMP)(25~34℃)和 NMP(35~38℃)在不同的器官保存进行了相关研究<sup>[26-27]</sup>,各自具备一定的优势。2021 年英国曼彻斯特大学 Amin 等<sup>[28]</sup>采用 HMP、SNMP、NMP 技术进行猪离断肢体灌注,结果表明 NMP 组肢体保存效果最优。NMP 为离体肢体提供更为接近的在体代谢环境,可能为肢体保存和恢复的最佳手段<sup>[29]</sup>。

### 3 离断肢体 NMP 的优势

NMP 可模拟肢体在体生理环境。相较于 SCS, 离断肢体进行 NMP 具有以下优点<sup>[11]</sup>: (1) 提供氧气和营养物质, 避免能量耗竭, 常温氧合可恢复线粒体活性和氧化磷酸化, 减少缺血和缺氧引起的组织损伤; (2) 及时清除代谢废物, 保持肢体正常代谢和功能; (3) 改善肢体保存质量, 减少缺血-再灌注损伤, 提高肢体移植的成功率; (4) 模拟肢体的生理状态, 维持肢体的功能和活性; (5) 延长肢体保存时间, 为移植手术争取更多的准备时间; (6) 持续灌注和药物输送, 减少排斥反应。

在器官移植领域, NMP 可逆转冷热缺血相关损伤并以时间依赖性方式促进修复<sup>[30-31]</sup>, 是否同时适用于肢体保存, 目前尚无定论。对离断肢体生理状态的实时监测、组织活性的无创评估, 及时发现和处理潜在的问题, 为后续的移植手术提供可靠的依据才是 NMP 的最大优势。且多项研究已证实使用机械灌注技术可延长离断肢体的保存时间。研究人员探索了 NMP 对动物离断肢体的影响, 将离断的猪前肢连接到机械灌注系统, 成功地维持了肢体的血液供应和新陈代谢功能, 肌肉功能得以恢复, 肢体保存时间得以延长<sup>[32-34]</sup>。但需要注意的是, 尽管这些初步研究结果都是积极的, 但将离断肢体 NMP 广泛应用于临床, 还需要大量实验研究数据提供参考。

### 4 离断肢体 NMP 的研究现状以及临床应用

NMP 已经在肝移植、肾移植和心脏移植等领域得到了广泛临床应用<sup>[35-37]</sup>。但在肢体保存方面尚处于起步阶段, 诸多学者探讨了 NMP 在大动物模型中应用的可行性和保肢优势。2011 年, 瑞士泊尔尼大学医院 Constantinescu 等<sup>[38]</sup> 通过用自体血常温灌注猪肢体长达 12 h, 证明了猪断肢模型可行性。2018 年美国克利夫兰医学中心的 Duraes 等<sup>[3]</sup> 使用含红细胞携氧胶体溶液在 39 °C 下灌注猪肢体 12 h, 猪肢体活力和功能维持良好。2020 年该研究团队的 Fahradyan 等<sup>[39]</sup> 在 NMP 下将猪肢体的保存时间延长到 24~44 h, 且灌注后肢体重量仅增加 (7.28±15.05)%, 证明该技术可延长离断肢体保存。同年该团队 Said 等<sup>[40]</sup> 分别使用基于血红蛋白的氧载体 (HBOC-201) 灌注液、红细胞灌注液构建猪断肢 NMP 模型, 发现

HBOC-201 灌注液可获得与含红细胞灌注液类似的保存效果, 与 SCS 相比, 在肌肉收缩性和线粒体超微结构方面均取得更好的效果, 该实验在灌注液选择方面为 NMP 的研究提供了新的思路。2021 年英国曼彻斯特大学 Amin 等<sup>[28]</sup> 利用猪离断肢体于不同温度、压力下进行机械灌注, 以评估其最佳灌注温度和相应的动脉压, 发现 70 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa) 压力下 NMP 组的肢体组织活力最优。次年该团队 Stone 等<sup>[41]</sup> 应用 NMP 将离断肢体与肾脏联合灌注, 在循环回路添加肾脏可快速稳定灌注液乳酸、碳酸氢盐、pH 值。笔者团队前期通过比格犬离断前肢 NMP 研究发现使用自体血灌注液对离断肢体进行灌注, 可以维持比格犬肢体的生理活动至少 24 h<sup>[42]</sup>。

同时诸多学者也相继开展了 NMP 在大动物实验断肢保存中的临床前研究。2021 年美国克利夫兰医学中心 Rohde 等<sup>[43]</sup> 对捐献的 14 例人上肢进行离体常温灌注 (41.6±9.4) h, 最终重量变化为初始体质量的 (0.4±12.2)%, 发现离体肢体常温灌注期间代谢紊乱与线粒体的结构改变相关。次年该研究团队 Rezaei 等<sup>[2]</sup> 使用含氧红细胞灌注液应用 NMP 技术灌注 20 例人上肢, 发现其可延长断肢保存时间, 克服 SCS 的局限性。2012 年中国人民解放军第四五四医院李颖等<sup>[44]</sup> 率先在国内报道应用 NMP 对上肢离断肢体进行处理和保护, 并成功完成断肢再植术, 患者术后 3 个月及半年复查功能恢复良好。后续该团队方凯凯等<sup>[45]</sup> 再次采用 NMP 对离断肢体灌注 126 min, 成功救治 1 例上臂离断伤患者, 经康复治疗肢体功能恢复良好。2017 年该团队回顾性分析 2012 年 1 月至 2017 年 1 月在术中应用机械灌注救治上肢离断肢体再植的 36 例患者, 其中术中应用血供完全中断的离断肢体 8 例, 肢体成活率 87.5%, 发现在大肢体再植术中, 可有效降低肢体缺血-再灌注损伤, 提高肢体再植成活率<sup>[46]</sup>。2023 年中山大学附属第一医院何晓顺等利用 NMP 完成世界首例离体下肢体外灌注+骨软组织再植+骨盆环重建术, 救治 1 例臀部软组织骨肉瘤骨转移患者。在 NMP 的支持下, 成功解决了肢体无法离体保存过久这一关键性问题, 使原本需要追赶时间的手术变得从容, 让患者在术后拥有稳定的骨盆环、理想的坐姿以及良好的预后, 提高患者对手术接受程度和术后生存质量。无论是在大动物实验还是临床前研究中, 随着 NMP 研究的深入, 其优势在不断显现。

## 5 NMP 应用于肢体保存亟待解决的问题与难点

基于 NMP 保存离断肢体的研究, 虽已经取得了较好的初步结果, 但仍面临一些挑战和限制。目前离断肢体 NMP 系统尚不完善<sup>[1]</sup>。对灌注液配制(包括血液成分、pH 值、渗透压、营养物质、电解质微量元素等)、灌流流速、压力、氧分压等参数还没有达成共识, 差异性较大。NMP 灌注液需要充分氧合, 通常为含氧红细胞灌注液, 容易引起免疫反应、溶血、血栓形成和感染等风险。如何有效降低上述风险以确保 NMP 系统可长时间平稳运行。代谢性酸中毒、异常灌注液生化和灌注诱发的明显水肿普遍被报道。因此, 完善 NMP 系统以及优化灌注方案对于维持组织健康和延长断肢保存时间至关重要<sup>[28]</sup>。多项研究仅使用了啮齿类动物模型, 但它们与人类四肢的大小不匹配, 因此扩散梯度和代谢的比较会受到限制。虽然诸多学者选择与人生理和解剖相似的猪断肢模型进行模拟实验, 但其实验结论也不能完全在临床中验证。灌注液的配制对灌注组织的必要性被广泛忽视, 并且尚未根据灌注时长、无细胞灌注液、含血细胞灌注液等特点进行合理设计。鉴于 NMP 系统运行成本较高, 通常不是使用最先进的泵和氧合器进行灌注实验, 这也进一步降低了其对临床环境的意义。针对上述问题, 亟须研发出适用于肢体保存, 具有透析功能且可自我监测调节和具有负反馈功能的高性价比 NMP 设备。

## 6 小结与展望

目前, NMP 在临床断肢保存中仍处于早期阶段, 需要更多的临床研究和验证。NMP 设备成本昂贵且技术要求较高, 一定程度上限制了其在临床中的广泛应用。前期基础研究和初步的临床实践取得了一定的成果, 但在肢体灌注过程中, 不当操作和装置故障均可导致肢体发生不可逆损伤。优化 NMP 系统的设计和性能至关重要, 完善评估保存时间、保存效果和可移植的标准等。此外, 伦理、法律和可行性等问题也需要被全面考虑。随着人工智能、大数据等技术的不断发展, NMP 设备应更智能化, 根据不同患者的需求和特点, 实现个性化定制, 满足患者的特殊需求, 并根据患者的具体情况, 选择个性化治疗方案, 提高治疗效果。另还需注重环保设计和材料选择, 降

低对环境的影响。国际上已有诸多机构致力于 NMP 设备研发, 我国在这一领域投入明显不足, 相关应用模块核心仍依赖进口, NMP 设备研发“破冰行动”亟须国内医疗机构和企业加强合作与交流, 共同推动 NMP 技术的创新和发展, 实现国内完全自主知识产权的 NMP 系统。NMP 作为保存肢体的新兴技术, 有望在未来为保存和恢复离断肢体的功能, 提供新的可能性。

### 参考文献:

- [1] 邵能琪, 冯凡哲, 崔轶. 离断肢(指)体保存方法的研究进展[J]. 中华显微外科杂志, 2023, 46(6): 709-714. DOI: 10.3760/cma.j.cn441206-20230421-00074. SHAO NQ, FENG FZ, CUI Y. Progress in research on methods for severed limb (digit) preservation[J]. Chin J Microsurg, 2023, 46(6): 709-714. DOI: 10.3760/cma.j.cn441206-20230421-00074.
- [2] REZAEI M, ORDENANA C, FIGUEROA BA, et al. Ex vivo normothermic perfusion of human upper limbs[J]. Transplantation, 2022, 106(8): 1638-1646. DOI: 10.1097/TP.0000000000004045.
- [3] DURAES EFR, MADAJKA M, FRAUTSCHI R, et al. Developing a protocol for normothermic ex-situ limb perfusion[J]. Microsurgery, 2018, 38(2): 185-194. DOI: 10.1002/micr.30252.
- [4] PAVAN-GUIMARAES J, ZARRINPAR A, BEDUSCHI T, et al. Machine perfusion organ preservation: highlights from the American Transplant Congress 2021[J]. Artif Organs, 2022, 46(2): 315-320. DOI: 10.1111/aor.14100.
- [5] BOTEON YL, ANGELICO R, BUCHHOLZ BM, et al. Machine perfusion organ preservation: highlights from the American Transplant Congress 2022[J]. Artif Organs, 2023, 47(1): 222-227. DOI: 10.1111/aor.14448.
- [6] HAUG V, DIEHM YF, KNESER U, et al. Some like it hot—a commentary to ex vivo normothermic perfusion of human upper limbs[J]. Transplantation, 2022, 106(8): 1522-1523. DOI: 10.1097/TP.0000000000004046.
- [7] LÓPEZ-MARTÍNEZ S, SIMÓN C, SANTAMARIA X. Normothermic machine perfusion systems: where do we go from here?[J]. Transplantation, 2024, 108(1): 22-44. DOI: 10.1097/TP.0000000000004573.
- [8] MEYERS A, PANDEY S, KOPPARTHY V, et al. Weight gain is an early indicator of injury in ex vivo normothermic limb perfusion (EVNLP)[J]. Artif Organs, 2023, 47(2): 290-301. DOI: 10.1111/aor.14442.
- [9] FIGUEROA BA, SAID SA, ORDENANA C, et al. Ex vivo normothermic preservation of amputated limbs with a hemoglobin-based oxygen carrier perfusate[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2022, 92(2): 388-397. DOI: 10.1097/TA.0000000000003395.
- [10] AMIN KR, STONE JP, KERR JC, et al. Normothermic ex vivo perfusion of the limb allograft depletes donor

- leukocytes prior to transplantation[J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2021, 74(11): 2969-2976. DOI: 10.1016/j.bjps.2021.03.071.
- [11] FOGUENNE M, MACMILLAN S, KRON P, et al. Current evidence and future perspectives to implement continuous and end-ischemic use of normothermic and oxygenated hypothermic machine perfusion in clinical practice[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(9): 3207. DOI: 10.3390/jcm12093207.
- [12] JOCHMANS I, HESSHEIMER AJ, NEYRINCK AP, et al. Consensus statement on normothermic regional perfusion in donation after circulatory death: report from the European Society for Organ Transplantation's Transplant Learning Journey[J]. *Transpl Int*, 2021, 34(11): 2019-2030. DOI: 10.1111/tri.13951.
- [13] WANG L, MACGOWAN GA, ALI S, et al. Ex situ heart perfusion: the past, the present, and the future[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2021, 40(1): 69-86. DOI: 10.1016/j.healun.2020.10.004.
- [14] HAUG V, KOLLAR B, TASIGIORGOS S, et al. Hypothermic ex situ perfusion of human limbs with acellular solution for 24 hours[J]. *Transplantation*, 2020, 104(9): e260-e270. DOI: 10.1097/TP.0000000000003221.
- [15] MESSNER F, HAUTZ T, BLUMER M JF, et al. Critical ischemia times and the effect of novel preservation solutions HTK-N and TiProtec on tissues of a vascularized tissue isograft[J]. *Transplantation*, 2017, 101(9): e301-e310. DOI: 10.1097/TP.0000000000001845.
- [16] HE J, KHAN UZ, QING L, et al. Improving the ischemia-reperfusion injury in vascularized composite allotransplantation: clinical experience and experimental implications[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 998952. DOI: 10.3389/fimmu.2022.998952.
- [17] ALIX P, VAL-LAILLET D, TURLIN B, et al. Adding the oxygen carrier M101 to a cold-storage solution could be an alternative to HOPE for liver graft preservation[J]. *JHEP Rep*, 2020, 2(4): 100119. DOI: 10.1016/j.jhepr.2020.100119.
- [18] CAO M, WANG G, HE H, et al. Hemoglobin-based oxygen carriers: potential applications in solid organ preservation[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 760215. DOI: 10.3389/fphar.2021.760215.
- [19] OSTRÓŻKA-CIEŚLIK A. The effect of antioxidant added to preservation solution on the protection of kidneys before transplantation[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(6): 3141. DOI: 10.3390/ijms23063141.
- [20] SCHLEGEL A, PORTE R, DUTKOWSKI P. Protective mechanisms and current clinical evidence of hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE) in preventing post-transplant cholangiopathy[J]. *J Hepatol*, 2022, 76(6): 1330-1347. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.01.024.
- [21] BELZER FO, ASHBY BS, GULYASSY PF, et al. Successful seventeen-hour preservation and transplantation of human-cadaver kidney[J]. *N Engl J Med*, 1968, 278(11): 608-610. DOI: 10.1056/NEJM196803142781108.
- [22] BLOOM AL. Activation of coagulation and fibrinogen loss after using an extracorporeal circulation[J]. *J Clin Pathol*, 1963, 16(6): 558-568. DOI: 10.1136/jcp.16.6.558.
- [23] BRETTSCHEIDER L, DALOZE PM, HUGUET C, et al. Successful orthotopic transplantation of liver homografts after eight to twenty-five hours preservation[J]. *Surg Forum*, 1967, 18: 376-378.
- [24] DELORME TL, SHAW RS, AUSTEN WG. A method of studying "normal" function in the amputated human limb using perfusion[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1964, 46: 161-164. DOI: 10.2106/00004623-196446010-00018.
- [25] O'DONOVAN MJ, ROWLERSON A, TAYLOR A. The perfused isolated human limb: an assessment of its viability[J]. *J Physiol*, 1976, 256(1): 27P-28P.
- [26] GAO J, HE K, XIA Q, et al. Research progress on hepatic machine perfusion[J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(9): 1953-1959. DOI: 10.7150/ijms.56139.
- [27] 中国肝移植注册中心, 国家肝脏移植质控中心, 国家人体捐献器官获取质控中心, 等. 中国移植器官保护专家共识(2022版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2022, 21(2): 169-184. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20220214-00078. China Liver Transplant Registry, National Center for Healthcare Quality Management in Liver Transplant, National Quality Control Center for Human Donated Organ Procurement, et al. Chinese expert consensus on organ protection of transplantation (2022 edition) [J]. *Chin J Dig Surg*, 2022, 21(2): 169-184. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20220214-00078.
- [28] AMIN KR, STONE JP, KERR J, et al. Randomized preclinical study of machine perfusion in vascularized composite allografts[J]. *Br J Surg*, 2021, 108(5): 574-582. DOI: 10.1002/bjs.11921.
- [29] OZER K. Advances in limb preservation: from replantation to transplantation[J]. *J Hand Surg Am*, 2020, 45(7): 626-637. e5. DOI: 10.1016/j.jhsa.2020.04.006.
- [30] 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. 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.
- [31] RIVEROS S, MARINO C, OCHOA G, et al. Customized normothermic machine perfusion decreases ischemia-reperfusion injury compared with static cold storage in a porcine model of liver transplantation[J]. *Artif Organs*, 2023, 47(1): 148-159. DOI: 10.1111/aor.14390.
- [32] KALTENBORN A, KREZDORN N, HOFFMANN S, et al. Ex vivo limb perfusion for traumatic amputation in military medicine[J]. *Mil Med Res*, 2020, 7(1): 21. DOI: 10.1186/s40779-020-00250-y.

- [33] VERAZA RJ, LOPEZ R, PARRY O, et al. Proof of concept study for a closed ex vivo limb perfusion system for 24-hour subnormothermic preservation using acellular perfusate[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2022, 93(2Suppl1):S102-S109. DOI: 10.1097/TA.0000000000003688.
- [34] FIGUEROA BA, ORDENANA CX, REZAEI M, et al. Orthotopic forelimb transplantation in a Yucatan minipig model: anatomic and in vivo study[J]. *Microsurgery*, 2024, 44(2): e31136. DOI: 10.1002/micr.31136.
- [35] YAMAMOTO T, ATTHOTA S, AGARWAL D, et al. Impact of portable normothermic machine perfusion for liver transplantation from adult deceased donors[J]. *Ann Surg*, 2023, 278(5): e922-e929. DOI: 10.1097/SLA.0000000000006032.
- [36] UNES M, KURASHIMA K, CALISKAN Y, et al. Normothermic ex vivo perfusion of deceased donor kidneys and its clinical potential in kidney transplantation outcomes[J]. *Int J Artif Organs*, 2023, 46(12): 618-628. DOI: 10.1177/03913988231207719.
- [37] MESSER S, ARDEHALI A, TSUI S. Normothermic donor heart perfusion: current clinical experience and the future[J]. *Transpl Int*, 2015, 28(6): 634-642. DOI: 10.1111/tri.12361.
- [38] CONSTANTINESCU MA, KNALL E, XU X, et al. Preservation of amputated extremities by extracorporeal blood perfusion; a feasibility study in a porcine model[J]. *J Surg Res*, 2011, 171(1): 291-299. DOI: 10.1016/j.jss.2010.01.040.
- [39] FAHRADYAN V, SAID SA, ORDENANA C, et al. Extended ex vivo normothermic perfusion for preservation of vascularized composite allografts[J]. *Artif Organs*, 2020, 44(8): 846-855. DOI: 10.1111/aor.13678.
- [40] SAID SA, ORDENANA CX, REZAEI M, et al. Ex-vivo normothermic limb perfusion with a hemoglobin-based oxygen carrier perfusate[J]. *Mil Med*, 2020, 185(Suppl 1): 110-120. DOI: 10.1093/milmed/usz314.
- [41] STONE JP, AMIN KR, GERAGHTY A, et al. Renal hemofiltration prevents metabolic acidosis and reduces inflammation during normothermic machine perfusion of the vascularized composite allograft: a preclinical study[J]. *Artif Organs*, 2022, 46(2): 259-272. DOI: 10.1111/aor.14089.
- [42] CHEN SF, YANG BY, ZHANG TY, et al. Study on the preservation effects of the amputated forelimb by machine perfusion at physiological temperature[J]. *Chin J Traumatol*, 2024, 27(2): 114-120. DOI: 10.1016/j.cjtee.2023.05.005.
- [43] ROHDE E, GOUDARZI M, MADAJKA M, et al. Metabolic profiling of skeletal muscle during ex-vivo normothermic limb perfusion[J]. *Mil Med*, 2021, 186(Suppl 1): 358-363. DOI: 10.1093/milmed/usaa268.
- [44] 李颖, 王国军, 蒋继亮, 等. 体外循环辅助下的大肢体再植技术(附1例报道)[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2014, 29(9): 954-955. DOI: 10.7531/j.issn.1672-9935.2014.09.043.
- LI Y, WANG GJ, JIANG JL, et al. Replantation of large limbs assisted by cardiopulmonary bypass (report of one case)[J]. *Chin J Bone Jt Inj*, 2014, 29(9): 954-955. DOI: 10.7531/j.issn.1672-9935.2014.09.043.
- [45] 方凯凯, 李颖, 王春书, 等. 体外循环支持下离断大肢体再植手术[J]. *中国体外循环杂志*, 2015, 13(1): 55-56. DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2015.01.16.
- FANG KK, LI Y, WANG CS, et al. Reservation of amputated extremities asisted by extracorporeal circulation[J]. *Chin J Extracorpor Circ*, 2015, 13(1): 55-56. DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2015.01.16.
- [46] 李颖, 闫浩, 蒋继亮, 等. 灌注技术在上肢离断再植术中的应用[C]//第23届中国康协肢残康复学术年会暨换届会议论文集汇编. 南京, 2017: 57.

(收稿日期: 2024-04-20)

(本文编辑: 方引超 邬加佳)