

8

Syndrome d'ischémie/reperfusion et préservation en transplantation hépatique

Les lésions hépatiques d'ischémie/reperfusion (I/R) représentent un processus complexe et multifactoriel dans lequel de multiples médiateurs et diverses cellules interagissent entraînant des lésions qui peuvent aboutir à la mort cellulaire. Cette cascade d'événements implique à la fois la microvasculature (cellules endothéliales sinusoidales ou CES), le parenchyme (hépatocytes) et les canalicules biliaires (cholangiocytes).

Le foie peut être exposé à 3 types d'ischémie au cours du processus de transplantation :

- l'ischémie froide (IF) est intentionnellement appliquée pour réduire l'activité métabolique du greffon avant son implantation et sa reperfusion chez le receveur. Les cellules non parenchymateuses (CES, cellules de Kupffer, cellules de Ito et épithélium biliaire) sont plus spécifiquement touchées par l'IF qui conduit à une réduction de la phosphorylation oxydative, une baisse des concentrations cellulaires en ATP et une augmentation de la glycolyse (Churchill et coll., 1994). En dépit des modifications structurelles majeures, les cellules non parenchymateuses restent en vie au cours de l'IF (Ikeda et coll., 1992) ;
- l'ischémie chaude peut être rencontrée au cours du prélèvement en cas de donneur hémodynamiquement instable. Les cellules parenchymateuses sont plus sensibles à ce type d'ischémie au cours de laquelle le stress oxydant et la dysfonction mitochondriale prédominent (Mochida et coll., 1994 ; Schön et coll., 1998) ;
- l'ischémie chaude relative (ou « *rewarming* ») est typiquement rencontrée durant la période d'implantation du greffon (exposition à la température corporelle au cours de la confection des anastomoses vasculaires et manipulation du greffon). L'impact de cette phase de réchauffement sur l'intégrité structurelle du foie et les mécanismes sous-tendant les lésions induites sont mal appréhendés. Il s'agit probablement d'une combinaison de lésions d'ischémie froide et chaude. Quel que soit le type d'agression ischémique, les lésions hépatiques sont initiées au cours de la phase ischémique mais ne

s'expriment qu'après la reperfusion, avec l'apport en oxygène et la réintroduction des éléments sanguins.

Quel que soit le type d'agression ischémique, les lésions hépatiques sont initiées au cours de la phase ischémique mais ne s'expriment qu'après la reperfusion, avec l'apport en oxygène et la réintroduction des éléments sanguins.

Ischémie froide et conséquences délétères

L'hypothermie constitue le principe de base de la conservation des organes (Belzer et Southard, 1988). La baisse de la température aux alentours de 4°C réduit de 95 % les besoins en oxygène des cellules, et adapte leur métabolisme à la situation d'anoxie dans laquelle les plonge le prélèvement. Le ralentissement des dépenses énergétiques ne rend pas complètement compte de l'effet bénéfique de l'hypothermie. En effet, la plupart des organes conservés en IF perdent plus de 90 % de leur stock d'ATP en moins de 4 heures, sans pour autant que leur viabilité ne soit compromise après un jour ou plus de conservation dans de bonnes conditions. En fait, l'hypothermie semble être surtout effective en bloquant partiellement l'activité des nombreuses enzymes hydrolytiques (phospholipases, protéases ou endonucléases...). Cette inhibition va ainsi limiter la destruction d'éléments structurels très importants (microtubules, membrane du cytosquelette, protéines, acides nucléiques...) et permettre à l'organe de rétablir un contrôle métabolique lorsqu'il sera transplanté, c'est-à-dire réchauffé et reperfusé. D'après la règle de Van't Hoff's, on estime que le refroidissement de l'organe de 37°C à environ 4°C réduit les activités enzymatiques plus de 10 fois (Fuller, 1991).

Bien que fondamental, le refroidissement des organes a également des conséquences délétères pour les tissus, au niveau desquels plusieurs voies métaboliques vont être affectées : inhibition de la pompe Na^+/K^+ ATPase, réduction rapide des réserves en ATP, troubles de l'homéostasie du calcium, altérations structurelles du cytosquelette et acidose intracellulaire.

Pompe Na^+/K^+ ATPase

L'inhibition de l'enzyme membranaire Na^+/K^+ ATPase (à partir de 18°C) entraîne une redistribution ionique source d'œdème cellulaire (Martin et coll., 1972).

Réserves d'ATP

L'absence de perfusion et surtout l'anoxie conduisent à un épuisement rapide des réserves énergétiques (Clavien et coll., 1992). La synthèse d'ATP

n'est plus assurée par la phosphorylation oxydative mais par la glycolyse anaérobie dont le rendement est très inférieur. Ce déficit énergétique accélère le processus inévitable de dégradation structurelle et fonctionnelle des organes privés d'oxygène (Lang et coll., 1995). En situation clinique, Lanir et coll. (1988) ont montré une corrélation directe entre un taux élevé d'ATP tissulaire avant implantation et la fonction hépatique chez le receveur. Pour Kamiike et coll. (1988), le pool tissulaire de nucléotides adényliques totaux en fin de conservation refléterait encore plus étroitement la viabilité du greffon hépatique, cette dernière étant fortement dépendante de la capacité du greffon à re-synthétiser l'ATP après reperfusion. Quoiqu'il en soit, la restauration des taux d'ATP après IF impose : la préservation de l'intégrité mitochondriale, c'est-à-dire de la « machinerie énergétique » ; des taux suffisants en précurseurs nécessaires à la régénération d'ATP ; une réoxygénation appropriée au cours de la reperfusion (Vajdova et coll., 2002). Les lésions mitochondriales engendrées par l'hypothermie expliquent en partie l'incapacité des cellules hépatiques à recouvrer une bonne fonction après transplantation (Ohkohchi et coll., 1999). L'intégrité de la membrane mitochondriale est en effet essentielle pour permettre la phosphorylation oxydative. Au cours de l'I/R hépatique, la transition de la perméabilité membranaire mitochondriale (MPT), qui est due à une augmentation rapide de la perméabilité de la membrane interne de la mitochondrie, est à l'origine d'une augmentation du contenu intracellulaire en calcium et radicaux libres (Lemasters et coll., 1998). L'équipe de Belzer a montré que la respiration mitochondriale était surtout affectée en cas d'IF prolongée (Kim et coll., 1992).

Homéostasie du calcium

La dysfonction de la pompe Ca^{2+} -ATPase et de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ainsi que la dépolarisation membranaire (secondaire à la défaillance de la pompe Na^+/K^+) contribuent à l'accumulation intracytoplasmique d'ions Ca^{2+} . De plus, la perturbation de l'homéostasie sodique et la diminution du pH intracellulaire augmentent le calcium libre cytosolique (Clavien et coll., 1992 ; Gasbarrini et coll., 1992). Ces troubles de l'homéostasie du calcium provoquent l'activation d'enzymes catabolisantes Ca^{2+} -dépendantes (phospholipases, protéases) pouvant léser les structures membranaires. Ces lésions accentuent la dysfonction mitochondriale, dysfonction qui entrave la reprise de fonction du greffon lors de la reperfusion (Pruzanski et Vadas, 1991 ; Kim et Southard, 1998). L'augmentation de calcium libre potentialise également la production de radicaux libres qui s'attaquent directement aux protéines transporteuses des membranes cellulaires et du réticulum, et aux membranes elles-mêmes. La perméabilité aux ions est accrue, accentuant encore le déséquilibre homéostasique (Clavien et coll., 1992).

Cytosquelette

D'importantes modifications structurelles du cytosquelette aboutissent à la dislocation des CES (Otto et coll., 1984). Ces dernières s'arrondissent, se détachent et font saillie dans la lumière sinusoidale (figure 8.1).

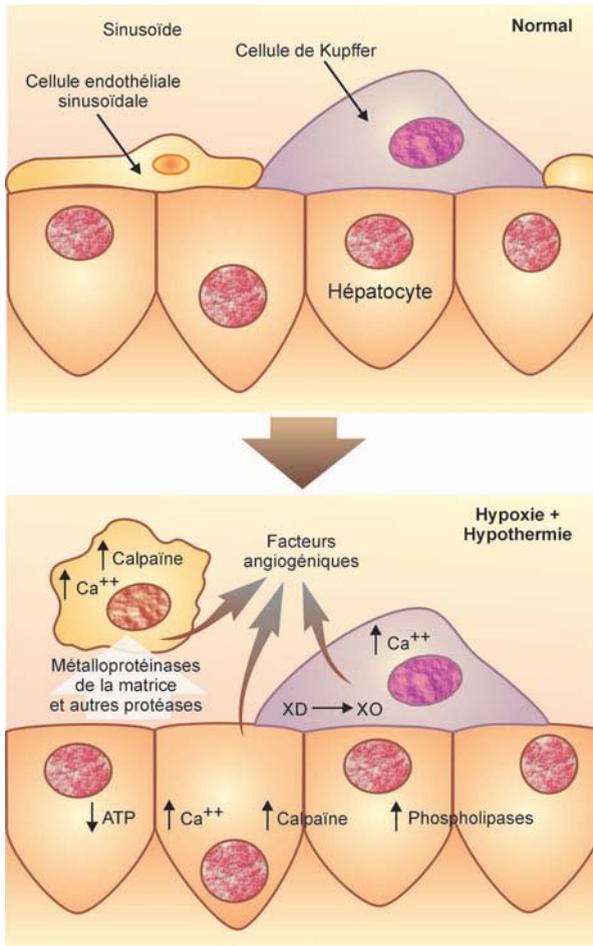


Figure 8.1 : Mécanismes lésionnels au cours de l'ischémie froide (d'après Clavien, 1998)

XD : xanthine déshydrogénase ; XO : xanthine oxydase

Le degré de détachement de ces CES serait corrélé avec la durée de l'IF, les lésions observées déterminant en partie la viabilité du greffon (Caldwell-Kenkel et coll., 1988 ; McKeown et coll., 1988 ; Holloway et coll., 1990 ; Clavien et coll., 1992 ; Gao et coll., 1998). Les modifications morphologiques résulteraient d'un processus protéolytique actif, pouvant être déclenché par des médiateurs

angiogéniques (VEGF, bFGF ou HGF), et qui aboutit à la digestion de la matrice extracellulaire périsinusoïdale (Folkman, 1995 ; Hioki et coll., 1996 ; Gao et coll., 1997). Les médiateurs angiogéniques seraient générés essentiellement par les cellules de Kupffer (CK), les CES et les cellules étoilées (Winwood et coll., 1995 ; Upadhy et coll., 1997 ; Benyon et Arthur, 2001). Le rôle central de certaines protéases (métallo- et aspartate-protéinases) a été confirmé par d'autres équipes soutenant cette « théorie de l'angiogénèse » (Takei et coll., 1990 ; Ferguson et coll., 1993). En situation clinique, Calmus et coll. (1995) puis Upadhy et coll. (1997) ont montré le rôle majeur de cette protéolyse dans les mécanismes lésionnels de conservation en hypothermie, et la corrélation entre le degré d'activité protéolytique et la fonction post-opératoire du greffon.

Acidose

L'hypothermie entraîne également une acidose métabolique, essentiellement due à la glycolyse anaérobie (accumulation de lactates et augmentation de la concentration en ion hydrogène) (Belzer et Southard, 1988). L'hydrolyse de l'ATP participe largement à cette accumulation de protons dans le cytoplasme (Gores et coll., 1989). Le processus de dégradation autolytique est alors activé (Wattiaux et Wattiaux-De Coninck, 1984).

Lésions de reperfusion hépatique : mécanismes cellulaires et moléculaires

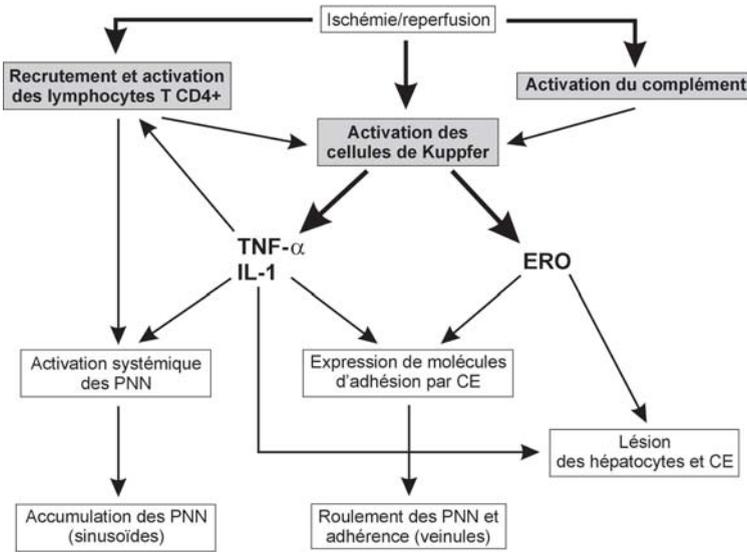
Les lésions de reperfusion constituent à la fois une conséquence et une amplification des phénomènes d'activation et de dommages cellulaires occasionnés au cours de l'ischémie.

Ce processus lésionnel s'exprime en deux phases distinctes :

- la phase précoce (3 à 6 heures après la reperfusion, figure 8.2) se caractérise par l'activation des cellules de Kupffer (Jaeschke et Farhood, 1991). L'activation du complément tout comme le recrutement et l'activation des lymphocytes T CD4⁺ interviennent dans l'activation de ces cellules de Kupffer (Jaeschke et coll., 1993a ; Jaeschke, 2003). Les cellules de Kupffer activées vont induire d'une part un stress oxydant avec formation intravasculaire d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'autre part la production de cytokines pro-inflammatoires, en particulier le TNF- α , et IL-1 (Lentsch et coll., 2000). Les ERO et les cytokines sont à l'origine de lésions hépatocellulaires et endothéliales. La libération des cytokines entraîne dans le même temps une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion par les cellules endothéliales et stimule également la production de chimiokines, réactions qui vont déclencher le recrutement massif de polynucléaires neutrophiles (PNN) ;

- la phase tardive ou subaiguë (> 6 heures après la reperfusion, figure 8.2) est essentiellement dominée par l'activation des PNN qui s'accablent dans les veinules sinusoidales et post-sinusoidales (Jaeschke, 2000). Il s'ensuit une extravasation des PNN qui vont libérer leurs propres radicaux libres et protéases à l'origine de lésions parenchymateuses.

Phase précoce



Phase tardive

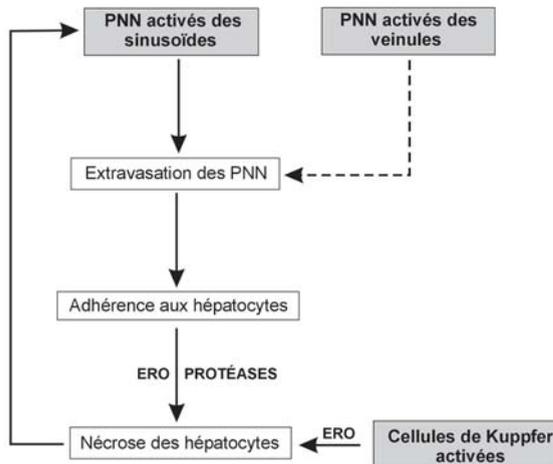


Figure 8.2 : Mécanismes lésionnels et initiation de la réponse inflammatoire au cours des phases précoce et tardive de la reperfusion (d'après Jaeschke, 2003)

CE : cellules endothéliales ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; IL-1 : interleukine-1 ; PNN : polynucléaires neutrophiles ; TNF- α : *Tumor Necrosis Factor α* .

Stress oxydant

Entre autres manifestations, l'activation des cellules de Kupffer va s'accompagner de la production massive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Jaeschke, 2000).

Les ERO sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques, incluant la production d'ATP dans la mitochondrie, la dégradation des protéines et des lipides, ainsi que les réactions inflammatoires. Dans des conditions physiologiques, les cellules ont développé des mécanismes leur permettant de contrôler cette production intracellulaire de ERO et ce, grâce à une famille d'enzymes capables de dégrader et/ou métaboliser ces molécules actives en composants non toxiques. Cependant, une agression ischémique prolongée peut établir les conditions propices à la formation en quantité abondante de ces radicaux libres lors de la réoxygénation de l'organe. C'est le « paradoxe de l'oxygène ». L'apport massif d'O₂ aboutit à la surproduction de ERO dépassant totalement les capacités de neutralisation par les systèmes enzymatiques antioxydants. Ces molécules réactives peuvent alors exercer leur rôle délétère sur les phospholipides et protéines membranaires.

Production des espèces réactives de l'oxygène

Il existe plusieurs systèmes de production des ERO : altération de la chaîne de transport des électrons de la mitochondrie ; activation du système de la xanthine-oxydase (Jaeschke, 2002a) ; système enzymatique NADPH oxydase-dépendant ; activation de la voie de la cyclo-oxygénase (métabolisme de l'acide arachidonique) mais aussi d'autres sources de ERO.

Les mitochondries représentent le compartiment cellulaire majeur de production et de consommation d'énergie. Dans la chaîne respiratoire mitochondriale, des radicaux sont libérés lors de la réduction monovalente de l'oxygène en eau (Menasche et Piwnica, 1989). En situation physiologique, 1 à 3 % de l'oxygène métabolisé dans la mitochondrie est converti en radical anion superoxyde O₂^{-°} (Nohl et coll., 2003). Cette chaîne de transport des électrons au niveau des mitochondries est perturbée par l'anoxie. Lors de la reperfusion, le découplage de la chaîne respiratoire va conduire à une production intra-cytoplasmique excessive de ERO (en particulier d'anion superoxyde O₂^{-°}).

Pendant l'ischémie, l'ATP est dégradé dans la cellule en ADP, puis AMP. Ce dernier franchit la membrane cellulaire pour être métabolisé dans le milieu extracellulaire en adénosine puis en hypoxanthine. Parallèlement, l'hypoxie active des enzymes protéolytiques qui vont convertir la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase (XO). Lors de la reperfusion, la concentration élevée de XO (en particulier dans les CES) va catalyser la réaction entre l'hypoxanthine accumulée et l'oxygène moléculaire, aboutissant à la production d'acide urique et de l'anion superoxyde. Ce dernier peut alors

interagir avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour former le radical hydroxyle $^{\circ}OH$ (Le Moine et coll., 1998).

Le système enzymatique NADPH oxydase-dépendant présent à la surface de la membrane des PNN représente une autre source importante dans la formation des ERO (Anderson et coll., 1991). Il réduit l'oxygène moléculaire en anion superoxyde ($O_2^{-\circ}$) et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'ion chlorure et de l'enzyme myéloperoxydase, l' H_2O_2 est transformée en acide hypochlorique, toxique pour la cellule, puis en monochloramine. La membrane cellulaire est perméable à ce dernier composant qui pourra s'attaquer à la membrane de certains organites intracellulaires et aux protéines.

L'activation de la phospholipase A2 (suite à l'augmentation du calcium intracellulaire) libère l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires. Il s'en suit la formation de prostaglandines (PG G2) avec libération concomitante de radicaux libres. En favorisant le chimiotactisme des PNN, la libération des enzymes microsomiales et l'agrégation plaquettaire, les PG G2 peuvent aggraver les lésions de reperfusion.

Enfin, il existe d'autres sources de ERO :

- les peroxysomes représentent 10 à 30 % de la consommation totale d'oxygène dans le foie. Des systèmes de production de ERO (XO et cytochrome p450) tout comme des enzymes antioxydantes telles que Cu/ZnSOD sont localisés dans les peroxysomes. Ces organites sont abondants dans le foie et pourraient jouer un rôle significatif dans la modulation de l'état d'oxydo-réduction de la cellule (Pahan et coll., 1997) ;
- l'auto-oxydation des catécholamines (adrénaline, noradrénaline et isoprénaline) (Bors et coll., 1978) serait également impliquée. Cette réaction libère des électrons qui, captés par l'oxygène moléculaire lors de la reperfusion, engendrent la formation de ERO ;
- le monoxyde d'azote participe à la formation des ERO en se combinant à l'anion superoxyde.

Stress oxydant et lésions hépatiques

Les mécanismes lésionnels moléculaires sous-tendant les dommages hépatocellulaires ont fait l'objet de discussions très controversées au cours des 20 dernières années (figure 8.2). Initialement, il était établi que le stress oxydant post-ischémique conduit à la mort cellulaire par peroxydation lipidique. Cependant, la peroxydation des stéroïdes membranaires apparaît insuffisante pour expliquer la sévérité des lésions cellulaires occasionnées par la reperfusion (Jaeschke, 2003). Pour certains auteurs, des enzymes protéolytiques libérées par les cellules inflammatoires telles que les PNN pourraient également représenter des médiateurs cytotoxiques essentiels. L'effet bénéfique d'inhibiteurs de protéases, observé à la fois dans des modèles expérimentaux (Li et coll., 1993) et en clinique (Kim et coll., 2002), plaide en faveur de cette hypothèse. Weiss (1989) ont suggéré que les ERO ne

seraient pas directement responsables de lésions cellulaires mais inactive-raient des anti-protéases plasmatiques par oxydation. Cependant, des études plus récentes semblent indiquer clairement que les cellules de Kupffer (Bilzer et coll., 1999) et les PNN (Jaeschke et coll., 1999) peuvent conduire à la mort des hépatocytes par l'intermédiaire des ERO. Cette destruction cellulaire impliquerait l'oxydation des acides nucléiques, l'accumulation de calcium dans la mitochondrie et la production de l'anion superoxyde par la mitochondrie. Ces réactions conduiraient finalement à l'ouverture des pores de transition de la perméabilité membranaire des mitochondries (MPT) et à l'effondrement du potentiel membranaire (Nieminen et coll., 1997).

Jaeschke propose deux mécanismes lésionnels au cours de la phase tardive de la reperfusion post-ischémique (Jaeschke, 2003) (figure 8.2). En cas d'agression aiguë et massive par les cellules de Kupffer et les PNN, les ERO seraient responsables de l'ensemble des dommages observés. En revanche, en cas de réaction inflammatoire prolongée (plusieurs jours), les lésions tissulaires pourraient faire intervenir à la fois les ERO et les enzymes protéolytiques.

En plus de l'inactivation d'anti-protéases et d'effets cytotoxiques directs, les ERO peuvent promouvoir des lésions de reperfusion par la stimulation de facteurs de transcription tels que le NF- κ B (*Nuclear Factor- κ B*) (Fan et coll., 1999). Il s'en suivrait une augmentation de l'expression des gènes codant pour le TNF- α , la NO synthase inductible (iNOS), l'hème oxygénase-1, les chimiokines CXCL et diverses molécules d'adhésion. Plusieurs travaux ont d'ailleurs montré que les antioxydants pouvaient atténuer l'expression de ces gènes pro-inflammatoires via l'inhibition de NF- κ B et AP-1 (Essani et coll., 1997a ; Zwacka et coll., 1998).

Mécanismes d'adaptation cellulaire

La nature a développé divers mécanismes qui détectent l'oxygénation tissulaire et qui déclenchent des voies de signalisation protectrices, permettant aux cellules de survivre dans des conditions extrêmes d'oxydo-réduction.

Le complexe factoriel-1 inductible par l'hypoxie (HIF-1) représente l'un des facteurs de transcription impliqué dans cette adaptation cellulaire à une agression hypoxique. Ce complexe est formé de deux sous-unités HIF-1a (constitutive) et HIF-1b (inductible). Dans des conditions hypoxiques, la protéine HIF-1a est stabilisée et HIF-1b est induite, réaction autorisant la formation du complexe fonctionnel HIF-1 qui régule la transcription d'une variété de gènes incluant l'érythropoïétine, le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), la tyrosine hydroxylase, iNOS, ainsi que des enzymes glycolytiques (Bunn et Poyton, 1996). La plupart de ces gènes sont impliqués dans de multiples mécanismes physiologiques qui contribuent au maintien de l'homéostasie de l'oxygène, tels que l'érythropoïèse, l'angiogenèse et le métabolisme du glucose (Bunn et Poyton, 1996).

Les protéines du choc thermique (*Heat Shock Proteins*, HSPs) représentent une autre catégorie de protéines activées au cours de l'ischémie. Outre les températures élevées, d'autres stress cellulaires (les ERO, le TNF- α , l'I/R, le sepsis, ou l'inflammation aiguë) peuvent également induire l'expression de HSP (Fan et coll., 1999). Il a été montré que cette protéine augmentait la quantité et l'activité de piègeurs de ERO, comme par exemple la superoxyde dismutase (SOD) au niveau des monocytes (Polla et coll., 1995). Les HSPs agiraient également sur la transcription de la protéine anti-apoptotique bcl-2 (Polla et coll., 1996).

Ces processus d'adaptation à une situation d'hypoxie permettent de réduire les effets néfastes de l'ischémie.

Polynucléaires neutrophiles

Au cours de la reperfusion, les PNN sont d'abord recrutés dans le foie où ils contribuent ensuite au développement du processus lésionnel.

Recrutement et adhésion : rôle des chimiokines

Parmi les molécules d'adhésion dont l'expression augmente à la surface des CES, la P-sélectine, provoque l'adhésion des plaquettes et des PNN aux CES (Sawaya et coll., 1999). La liaison des plaquettes aux CES conduit à l'apoptose de ces dernières et contribue ainsi à la dysfonction hépatique (Sindram et coll., 2000). L'interaction initiale entre les PNN et les CES augmente l'adhésion entre ces cellules, par l'intermédiaire de la sous-unité β_2 des intégrines au niveau des PNN et des molécules ICAM-1 pour les CES (Jaeschke et coll., 1993b ; Farhood et coll., 1995). L'enchaînement de ces processus conduit successivement les PNN au roulement (attachement transitoire), à l'arrêt (adhésion ferme), et enfin à la migration depuis la lumière vasculaire vers l'espace interstitiel hépatique.

Les chimiokines CXC (en particulier IL-8 et homologues) sont également impliquées dans le processus de recrutement des PNN au cours de la phase précoce de reperfusion post-ischémique (Lentsch et coll., 1998a ; Luster, 1998). Les chimiokines produites par les CES interviennent dans l'activation initiale des PNN et leur adhésion qui suit, alors que les chimiokines produites par les cellules parenchymateuses induisent un gradient chimotactique qui sert à orienter le recrutement des PNN vers le tissu hépatique lésé. Les chimiokines CXC sont par ailleurs induites dans des organes distants, en particulier les poumons, et jouent un rôle majeur dans le développement de lésions organiques extrahépatiques après I/R (Yoshidome et coll., 1999a).

Alors que le recrutement des PNN dans les veinules post-sinusoïdales hépatiques dépend entièrement des interactions entre les molécules d'adhésion exprimées à la fois sur les PNN et les CES (Vollmar et coll., 1995), il semblerait que ce recrutement de PNN dans les sinusoides (lumières plus

petites) soit « récepteur-indépendant » (Jaeschke et coll., 1996). L'accumulation sinusoidale serait secondaire à la vasoconstriction, l'œdème cellulaire et la diminution de la flexibilité membranaire (Banga et coll., 2005).

Activation des PNN et lésions hépatocytaires

L'accumulation intra-parenchymateuse de PNN activés est à l'origine de lésions hépatocytaires par libération d'oxydants et d'enzymes protéolytiques. La mort des hépatocytes induite par les PNN nécessiterait un contact cellulaire direct entre les molécules d'adhésion CD11/CD18 et ICAM-1 (Nagendra et coll., 1997). Le mécanisme d'oxydation implique essentiellement le complexe enzymatique NADPH oxydase. L'activation des PNN entraîne une translocation des sous-unités cytosoliques de l'enzyme vers la membrane cellulaire où elles s'associent pour former un complexe multimérique actif à l'origine de la production d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). Une nouvelle réaction de réduction de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) génère le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui peut être à son tour réduit en radical hydroxyle ($^{\cdot}OH$), forme la plus active de toutes les ERO.

En présence d'ion chlorure, la myéloperoxydase (provenant de la dégranulation des PNN) convertit enzymatiquement l' H_2O_2 en acide hypochlorique (HOCL), un autre toxique majeur. La production d' $O_2^{\cdot-}$, d' H_2O_2 , de $^{\cdot}OH$, et de HOCL peut endommager directement les hépatocytes (Jaeschke, 1991) et/ou désactiver des antiprotéases endogènes facilitant ainsi les lésions hépatocytaires induites par les enzymes protéolytiques (Lentsch et coll., 2000).

Les PNN activés peuvent également libérer un certain nombre de médiateurs par dégranulation exocyttaire. Le contenu des granules des PNN inclut de grandes quantités de protéinases et des enzymes hydrolytiques qui peuvent avoir une action cytotoxique directe sur les hépatocytes (Li et coll., 1993). Les sérines protéinases (elastase, cathepsine G...) pourraient directement endommager les composants de la membrane hépatocytaire, alors que les métalloprotéinases dégraderaient principalement la membrane basale et les composants de la matrice extracellulaire.

Monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (NO) est un radical synthétisé via l'oxydation de la L-arginine par la NO synthétase (NOS). Dans le foie, il existe deux isoformes majeures de NOS, la NOS endothéliale (eNOS) et la NOS inductible (iNOS). eNOS est exprimée de façon constitutive, et son activité est dépendante du complexe Ca^{2+} /calmoduline (Vasquez-Vivar et coll., 1998). iNOS est synthétisée par les CES, les hépatocytes et les cellules de Kupffer, et son activité est indépendante du Ca^{2+} .

Dans des conditions physiologiques, seule eNOS est présente dans le foie. La faible quantité de NO produite régule la perfusion hépatique, prévient l'adhésion plaquettaire, la thrombose, l'accumulation de PNN et la sécrétion de médiateurs de l'inflammation (Gauthier et coll., 1994). Le NO induit également une vasodilatation au niveau sinusoidal et présinusoidal (McCuskey, 2000), et permet ainsi de garder un équilibre en contrecarrant l'effet de vasoconstricteurs comme l'endothéline (Pannen, 2002).

Au cours de l'I/R, l'expression de l'ARNm de iNOS débute 1 heure après la reperfusion avec une augmentation de l'activité iNOS à la 5^e heure post-reperfusion (Hur et coll., 1999). L'induction de iNOS peut avoir des effets toxiques (Kimura et coll., 2003) ou protecteurs (Hsu et coll., 2002). Le type d'agression, les ratios en NO/anion superoxyde, les réserves hépatiques de glutathion réduit et la durée de l'ischémie sont autant de facteurs pouvant influencer le mode et l'intensité de production du NO et ainsi conditionner le caractère cytoprotecteur ou cytotoxique de cette molécule endogène (Rubbo et coll., 1996).

Le NO produit en grande quantité interagit avec l'anion superoxyde pour former l'anion peroxynitrite (ONOO⁻) qui peut provoquer des lésions cellulaires par peroxydation lipidique, inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale, inhibition de la Na⁺/K⁺ ATPase membranaire ou encore par formation de nitrotyrosine (Szabo, 2003).

Régulation de la réaction inflammatoire

L'évolution de la réponse inflammatoire hépatique est déterminée par l'équilibre entre des médiateurs pro- et anti-inflammatoires (figure 8.2). D'autres facteurs contribuent également à la régulation de la réaction inflammatoire.

Complément

L'activation du complément semble représenter un événement crucial au cours de la reperfusion (Jaeschke et coll., 1993a ; Straatsburg et coll., 2000). Lors de la séquence I/R, la production de ERO par les cellules de Kupffer activées apparaît modérée et d'une durée limitée (Nunes et coll., 1995). Cette activation initiale est fortement potentialisée par fragment C5a du complément qui permet ainsi de prolonger le stress oxydant (Jaeschke et coll., 1993a). Outre son effet pro-inflammatoire, le complexe d'attaque membranaire (polymère formé des éléments C6-C9 du complément) peut également provoquer des lésions cellulaires directes (Scoazec et coll., 1997).

Cytokines pro-inflammatoires

L'activation des cellules de Kupffer entraîne la production et la libération de cytokines (CK) pro-inflammatoires, en particulier le TNF- α et l'IL-1 β (Shito et coll., 1997). Ces CK sont fortement impliquées dans la réponse

inflammatoire associée à l'I/R (Colletti et coll., 1998). Elles sont produites essentiellement par les cellules de Kupffer (Suzuki et Toledo-Pereyra, 1994) mais aussi par les macrophages extra-hépatiques (Okuaki et coll., 1996). Le TNF- α et l'IL-1 β induisent l'expression de molécules d'adhésion à la surface des CES (Colletti et coll., 1998) et stimulent la production et la libération des chimiokines CXC (ayant une activité chimiotactique puissante pour les PNN dans le foie post-ischémique (Colletti et coll., 1996 ; Lentsch et coll., 1998b) et dans certaines circonstances peuvent directement déclencher la mort cellulaire par apoptose (Leist et coll., 1994). De plus, ces CK recrutent et activent très précocement les lymphocytes T CD4⁺ (Zwacka et coll., 1997). Les lymphocytes T CD4⁺ résidents (Le Moine et coll., 2000) ou nouvellement accumulés (Zwacka et coll., 1997) peuvent produire des médiateurs tels que le TNF- β , l'IFN- γ et le facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF), qui vont amplifier l'activation des cellules de Kupffer et favoriser le recrutement des PNN.

À l'instar d'autres réactions inflammatoires, le TNF- α constitue un médiateur central dans la réponse hépatique à l'I/R. De nombreux travaux ont pu montrer que la suppression de la production du TNF- α (ou sa neutralisation) permettait d'atténuer fortement les lésions de reperfusion (Essani et coll., 1997b ; Colletti et coll., 1998). Cette cytokine, produite très précocement après reperfusion, exerce ses propriétés pro-inflammatoires non seulement au niveau local hépatique mais aussi sur d'autres organes plus distants, plus particulièrement au niveau des poumons (Colletti et coll., 1990). Le TNF- α propage la réponse inflammatoire en induisant l'expression de molécules d'adhésion sur les cellules vasculaires endothéliales, et en stimulant la production et la libération des chimiokines CXC d'attraction des PNN (Colletti et coll., 1996).

L'IL-12 jouerait un rôle essentiel dans l'initiation de la réponse inflammatoire (Lentsch et coll., 1999a). L'IL-12 serait exprimée par les hépatocytes non seulement en phase précoce de la reperfusion mais aussi au cours de la phase ischémique. L'élimination de cette CK (anticorps neutralisant ou souris *knock-out*) montre clairement que la production endogène d'IL-12 est nécessaire à l'expression complète de TNF- α et à la réponse inflammatoire hépatique qui s'en suit (Lentsch et coll., 1999a).

Médiateurs lipidiques

Le facteur d'activation des plaquettes (PAF) est formé principalement dans les CES au cours de l'I/R (Zhou et coll., 1992). Le PAF peut d'une part activer la production de l'anion superoxyde par les PNN (Bautista et Spitzer, 1992), et représente d'autre part un puissant activateur de la β 2-intégrines MAC-1 et de la formation de ERO dépendante de l'adhésion cellulaire (Shappell et coll., 1990).

La leukotriène B4 est également un puissant facteur chimiotactique pour les PNN humains (Schultz et coll., 1991). Il est généré en très grande quantité par les PNN au cours de la phase tardive de la reperfusion ; le LTB4 doit ainsi contribuer à l'amplification de la réponse des PNN (Hughes et coll., 1992). Les produits de la peroxydation lipidique ont également un effet chimiotactique sur les PNN et sont probablement responsables de la propagation des lésions inflammatoires à une phase de la reperfusion où de nombreux médiateurs peptidiques ne sont plus générés (Curzio et coll., 1986).

Cytokines anti-inflammatoires

L'IL-6, l'IL-10 et l'inhibiteur de plusieurs enzymes protéolytiques synthétisées par les leucocytes (SLPI) représentent les médiateurs les plus importants de régulation de la réponse inflammatoire. Ces médiateurs agiraient essentiellement en inhibant le facteur transcriptionnel NF- κ B ; cette inhibition serait responsable d'une diminution de la production de chimiokines, d'une réduction de l'accumulation des PNN et d'une moindre expression d'ICAM-1 (Lentsch et coll., 1999b ; Yoshidome et coll., 1999b).

L'IL-13 exprime également des propriétés anti-inflammatoires mais à travers un mécanisme différent, par activation du facteur de transcription STATE-6 (Yoshidome et coll., 1999c).

Bien que NF- κ B fasse partie intégrante de la réponse inflammatoire hépatique, l'activation de ce facteur de transcription semble être requise dans le processus de régénération hépatique après transplantation (Bradham et coll., 1999). NF- κ B est en effet activé après transplantation hépatique et cette expression est associée à la réduction de l'apoptose hépatocytaire et des lésions de reperfusion. NF- κ B jouerait donc un double rôle, agissant à la fois comme inducteur de la réponse inflammatoire et comme promoteur de la régénération hépatique.

Système immunitaire

Récemment, de nombreux travaux ont montré que l'organe allogénique transplanté est reconnu et exposé au système immunitaire de l'hôte receveur dans les minutes ou les heures qui suivent la reperfusion. L'I/R s'inscrirait en fait dans un processus hautement coordonné et spécifique, médié par des composants cellulaires appartenant à la fois à l'immunité innée et à l'immunité adaptative (Land, 2005 ; Boros et Bromberg, 2006).

Immunité innée

Les mécanismes physiopathologiques sous-tendant l'activation de la réponse immunitaire innée constitue un nouveau champ d'exploration. Les récepteurs « *Toll like* » (TLRs, en particulier TLR4) semblent jouer un rôle central dans

cette activation, mais les interactions précises qui se développent entre les différents composants cellulaires et moléculaires (cellules parenchymateuses, facteurs du complément, cellules NK, lymphocytes T) demeurent encore spéculatives. En outre, des investigations futures dans ce domaine pourraient permettre de préciser l'implication des lésions d'I/R et de l'immunité innée dans le développement de la tolérance.

Immunité adaptative

Les lymphocytes T impliqués dans la réponse immune adaptative participeraient activement aux mécanismes sous-tendant les lésions d'I/R hépatique (Caldwell et coll., 2007). Il a été montré que l'administration par voie systémique d'agents immunosuppresseurs permettait d'atténuer les dommages hépatocellulaires qui se manifestent au cours de la reperfusion (Suzuki et coll., 1993 ; Matsuda et coll., 1998 ; Shen et coll., 2002). L'adhésion des lymphocytes T CD4+ dans les sinusoides hépatiques surviendrait au cours de la phase précoce de la reperfusion et serait induite par le TNF- α et l'IL-1 (Clavien et coll., 1993). Ces lymphocytes T peuvent d'une part augmenter l'activation des cellules de Kupffer et d'autre part agir comme des médiateurs cellulaires dans le recrutement des PNN en libérant des substances telles que le GCSF (*Granulocyte Colony Stimulating Factor*) et l'IFN- γ (Zwacka et coll., 1997).

Cellules sinusoidales endothéliales

La cellule endothéliale sinusoidale (CES) représente la principale cellule cible des lésions de reperfusion, au moins au cours de la phase précoce (Zhu et coll., 2007). La corrélation positive entre le nombre de cellules apoptotiques et la viabilité du greffon (Gao et coll., 1998) ainsi que l'effet protecteur d'agents anti-apoptotiques (Wu et coll., 1997) ont fait suggérer que l'apoptose des CES pourrait constituer un mécanisme axial des lésions de reperfusion (figure 8.3). Les CES détachées dans la lumière vasculaire au cours de la phase d'ischémie ne meurent pas toutes au cours de la reperfusion. En effet, les CES lésées peuvent se rattacher à la matrice périnusoidale, un mécanisme de réparation qui serait dépendant du contenu intracellulaire en ATP, du degré de glycosylation hépatocytaire et probablement du degré de détachement de la CES (Morgan et coll., 1991). Les molécules de jonction entre les CES ou de la matrice périnusoidale pourraient également jouer un rôle essentiel dans le maintien de la viabilité cellulaire. En fait, les CES s'engageraient dans l'apoptose en cas d'absence de rattachement à la paroi vasculaire (Ruoslahti, 1996). Les facteurs conduisant à l'apoptose des CES demeurent spéculatifs. Les ERO (Motoyama et coll., 1998), le TNF- α (Zheng et coll., 1995), l'augmentation de la concentration intracytoplasmique en calcium (Martikainen et coll., 1991) ainsi que les protéases calpaïnes (Squier et coll., 1994) pourraient être impliqués.

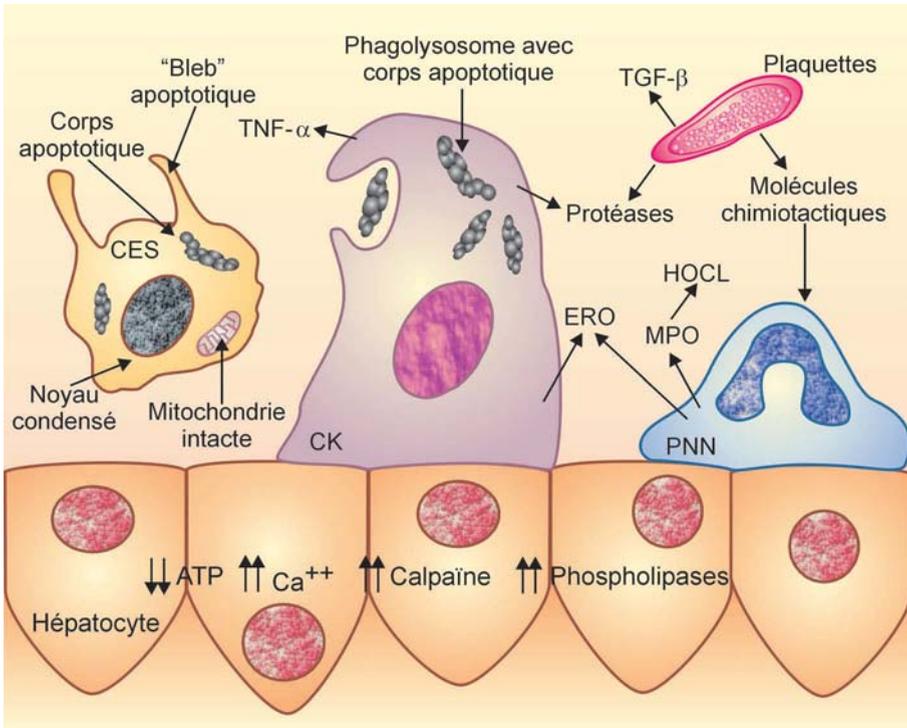


Figure 8.3 : Apoptose des cellules endothéliales sinusoidales au cours de la reperfusion (d'après Clavien, 1998)

CES : cellule endothéliale sinusoidale ; CK : cellule de Kupfer ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; HOCL : acide hypochlorique ; MPO : myéloperoxydase ; PNN : polynucléaire neutrophile ; TGF- β : *Transforming Growth Factor* β ; TNF- α : *Tumor Necrosis Factor* α ; XD : xanthine déshydrogénase ; XO : xanthine oxydase

Plaquettes

La contribution des plaquettes aux lésions de reperfusion demeure évasive. Cependant, une corrélation entre adhésion des plaquettes aux CES et fonction du greffon a été clairement établie (Cywes et coll., 1993). Les plaquettes, qui représentent une source importante de protéases et de CK proapoptotiques telles que le TGF- β (Tsukada et coll., 1995), agiraient de concert avec les leucocytes en favorisant leur séquestration par l'intermédiaire de différentes molécules chimiotactiques (Todoroki et coll., 1991) (figure 8.3).

Perspectives : analyse protéomique et génomique

L'identification des gènes et protéines dont l'expression (ou la fonction) est directement modifiée au cours du processus de transplantation doit permettre de mieux comprendre les bases moléculaires des lésions hépatiques induites par l'I/R et ainsi développer de nouvelles stratégies protectrices ou thérapeutiques ciblées. La génomique et la protéomique représentent des nouveaux systèmes d'analyse essentiels, permettant à la fois d'identifier et de caractériser/hierarchiser les différents profils d'expression (Emadali et coll., 2006 et 2007 ; Conti et coll., 2007).

Mort cellulaire et lésions

Les conséquences de l'I/R en termes de nécrose et d'apoptose sont présentées.

Nécrose oncotique

La déperdition en ATP conduit à l'œdème cellulaire, la ballonnisation et l'œdème des mitochondries, la dilatation du réticulum endoplasmique et la formation de protusions de la membrane plasmique appelées « *blebs* » (Lemasters et coll., 1987). Immédiatement avant la mort cellulaire, les hépatocytes et les CES développent un état instable, caractérisé par la perméabilité mitochondriale, la dislocation lysosomiale, la coalescence et l'accroissement de la taille des *blebs*, l'œdème cellulaire et la fuite en électrolytes. La mort cellulaire survient par altération de la barrière de perméabilité de la membrane plasmique, souvent causée par la rupture des *blebs* (Nieminen et coll., 1988). La perméabilisation de la membrane plasmique déclenche une libération d'enzymes et d'autres composés qui entraînent des modifications histologiques dénommées nécrose. La libération du contenu cellulaire initie également la réponse inflammatoire au cours de la reperfusion. Avec le temps, des macrophages résorbent progressivement le tissu nécrotique résiduel qui est alors remplacé par du tissu cicatriciel.

Apoptose

Les caractéristiques morphologiques habituelles de l'apoptose associent une diminution du volume cellulaire, une condensation nucléaire, une « margination » de la chromatine ainsi que la fragmentation du noyau et du cytoplasme en corps apoptotiques qui sont phagocytés et dégradés (Kerr et coll., 1972). En général, il n'existe pas de réaction inflammatoire significative au cours du processus classique d'apoptose. En revanche, dans les situations

où la mort cellulaire par apoptose ne peut aller à son terme, une nécrose secondaire se développe et déclenche la libération de matériel cellulaire pro-inflammatoire (Ogasawara et coll., 1993).

Il existe différents mécanismes de transmission de l'apoptose des hépatocytes. Une variété de médiateurs parmi lesquels le TNF- α , le Fas-Ligand, et le TRAIL (*Tumor necrosis factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand*) active la voie « extrinsèque » de l'apoptose (Jaeschke et Lemasters, 2003). Ces médiateurs se lient d'abord à leurs récepteurs respectifs, couplage qui entraîne la fixation d'adaptateurs permettant le recrutement de la procaspase 8 et son activation protéolytique en caspase 8. Si une quantité suffisante de caspase 8 est générée, cette dernière peut directement activer la procaspase 3 (voie de type 1) (Scaffidi et coll., 1998). Cependant, pour l'hépatocyte, le signal intracellulaire impose une amplification au niveau de la mitochondrie (voie de type 2) qui entraîne, via la translocation de Bid (membre de la famille de Bcl-2) et la libération de cytochrome C, l'activation de la caspase 9 puis de la caspase 3 et conduit à l'étape ultime de l'apoptose (Yin, 2000 ; Wang, 2001 ; Jaeschke et Lemasters, 2003). La voie de type 2 est plus rapide que celle de type 1, et peut être mieux régulée. Si cette voie de type 2 est bloquée (par des inhibiteurs de la MPT comme la cyclosporine A), l'activation de la caspase 3 et l'apoptose se produisent quand même, mais plus lentement, par la voie de type 1.

En dépit de l'importance des données de la littérature sur la mort cellulaire par apoptose au cours de l'ischémie froide (Kohli et coll., 1999 ; Natori et coll., 1999 ; Sindram et coll., 2001), des interrogations subsistent en ce qui concerne l'interprétation des résultats, en particulier sur la pertinence de ce mode de mort cellulaire dans la pathophysiologie des lésions de reperfusion.

Relation entre nécrose oncotique et apoptose

Après ischémie chaude, la nécrose induite par la reperfusion (« nécrose oncotique ») survient essentiellement au niveau des hépatocytes et s'accompagne d'une cytolysse significative (Mochida et coll., 1994). Après IF, cette mort par nécrose intéresse presque exclusivement les CES et est accompagnée d'une très discrète libération enzymatique (Caldwell-Kenkel et coll., 1989). L'étendue de cette nécrose cellulaire induite par la reperfusion est bien corrélée avec la défaillance du greffon après transplantation.

En fait, la « nécrose oncotique » représenterait le mode principal (plus de 90 %) de mort cellulaire au cours de la reperfusion, la mort cellulaire par apoptose n'excédant jamais 2 % des cellules à risque (Gujral et coll., 2001). Ce caractère limité de la mort cellulaire par apoptose est en outre corrélé avec la faible ou l'absence d'activation des caspases (Gujral et coll., 2001). Même si l'apoptose est induite sur un grand nombre d'hépatocytes par activation des récepteurs TNF et Fas, les cellules touchées par l'apoptose le sont

de façon individuelle et dispersée. En revanche, la « nécrose oncotique » survient typiquement sur une région de cellules adjacentes, préférentiellement dans les régions péri-centrales et moyennes du lobule hépatique, ces zones étant les plus éloignées de la suppléance en oxygène (Gujral et coll., 2002).

La « nécrose oncotique » semble partager des voies de signalisation intracellulaires communes avec l'apoptose comme en témoigne l'effet protecteur de la surexpression de Bcl-2 (Bilbao et coll., 1999). En dépit de la prédominance de la nécrose oncotique sur l'apoptose après I/R, d'autres travaux ont montré que l'inhibition des caspases avait un effet protecteur (Cursio et coll., 1999 ; Sindram et coll., 2001). Or, cet effet bénéfique semble plutôt limité aux premiers jours de reperfusion, la survie des greffons à long terme n'étant pas modifiée (Sindram et coll., 2001). Cette amélioration modeste des résultats en termes de survie doit probablement être liée à un effet anti-inflammatoire des inhibiteurs de caspases. Dans des conditions pathophysiologiques, les hépatocytes apoptotiques généreraient les chimiokines CXCL, favorisant ainsi la transmigration et l'infiltration parenchymateuse par les neutrophiles (Faouzi et coll., 2001). Même si elle se limite à un petit nombre de cellules, l'apoptose aurait donc le potentiel d'accentuer les lésions de reperfusion en contribuant à l'amplification de la réponse inflammatoire (Jaeschke, 2002b).

Concept de « nécroapoptose »

La confusion concernant le rôle respectif de la nécrose oncotique et de l'apoptose au cours de l'I/R est sans doute liée aux mécanismes communs que partagent ces deux processus distincts de mort cellulaire. En particulier, la MPT semble jouer un rôle important dans l'initiation à la fois de la nécrose oncotique et de l'apoptose. Au cours de l'ischémie, la glycolyse anaérobie et la dégradation de l'ATP entraînent une diminution rapide du pH tissulaire, acidification qui protège contre la nécrose cellulaire malgré la profonde déplétion en ATP (Gores et coll., 1988). En revanche, la normalisation du pH intracellulaire au cours de la phase initiale de la reperfusion va précipiter les lésions conduisant à la mort cellulaire, via le déclenchement de la MPT (Qian et coll., 1997). Après le déclenchement de la MPT, le découplage de la mitochondrie provoque une profonde déplétion en ATP qui induit la mort cellulaire par nécrose (Qian et coll., 1997). La prévention de la « nécrose oncotique » par le fructose (substrat à la génération d'ATP par glycolyse) confirme l'importance de la déplétion en ATP dans le déclenchement de ce type de mort cellulaire. Seulement 15 à 20 % du stock normal d'ATP est suffisant pour prévenir la mort cellulaire par nécrose et la remplacer par l'apoptose via l'activation de la caspase 3 (Anundi et coll., 1987 ; Kim et coll., 2003).

Au cours de la reperfusion, la transition de la perméabilité mitochondriale représente un événement obligatoire dans le mécanisme conduisant à la mort cellulaire qu'elle soit de type nécrotique ou apoptotique. La concentration en ATP jouerait le rôle de « commutateur » entre ces deux types de mort cellulaire (Richter et coll., 1996) (figure 8.4) :

- lorsque le MPT s'accompagne d'une déplétion en ATP, le signal de l'apoptose est bloqué au niveau de l'apoptosome, et la nécrose survient comme une conséquence directe de l'absence de régénération suffisante en ATP ;
- *a contrario*, si des substrats glycolytiques sont disponibles, la déplétion profonde en ATP est prévenue et le processus s'engage vers la voie de l'apoptose.

La capacité d'un processus nécrotique d'être converti en processus apoptotique, et vice et versa, illustre bien le fait que l'apoptose et la nécrose oncotique ne sont pas nécessairement des événements distincts et indépendants. Au contraire, les voies métaboliques conduisant à l'apoptose et à la nécrose peuvent être partagées, un phénomène appelé « nécroapoptose » (Jaeschke et Lemasters, 2003).

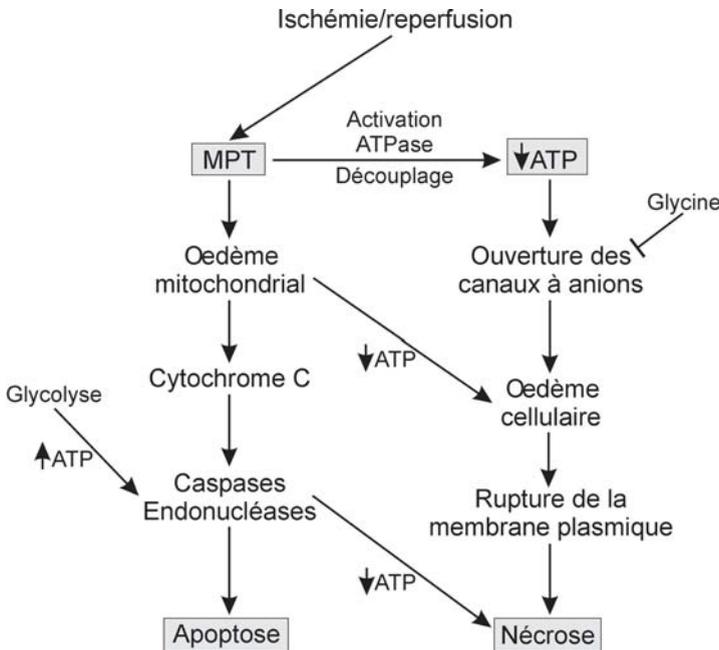


Figure 8.4 : Transition de perméabilité membranaire mitochondriale (MPT) et « nécroapoptose » au cours de l'ischémie/reperfusion (d'après Jaeschke et Lemasters, 2003)

Influence de la mort encéphalique sur le syndrome d'ischémie/reperfusion

Les donneurs en état de mort encéphalique (ME) représentent la plus grande source d'organes disponibles pour la transplantation d'organes solides. Cette destruction irréversible du système nerveux central est à l'origine de multiples modifications pathophysiologiques (Mertes, 1996 ; Wilhelm et coll., 2000 ; Pratschke et coll., 2005) qui pourraient exacerber les lésions d'I/R auxquelles les organes périphériques sont exposés au cours du processus de transplantation. Les conséquences potentielles de l'ensemble des événements entourant la ME semblent manifestes pour des organes comme le cœur et le rein (Bittner et coll., 1999 ; Pratschke et coll., 2000 ; Wilhelm et coll., 2000). L'impact de la ME sur le greffon hépatique est plus difficile à cerner. D'une façon générale, la fonction du greffon semble peu altérée, et il est admis que le foie exprime une certaine tolérance à la baisse de la pression artérielle (Lin et coll., 1989a ; Okamoto et coll., 1998). Cependant, si l'instabilité hémodynamique se prolonge, des effets délétères peuvent être observés au niveau morphologique (congestion veineuse centrale de type extensive voire lésions nécrotiques) (Okamoto et coll., 1998). Il s'avère toutefois impossible de dire si ces lésions morphologiques sont dues à l'état de ME en lui-même, ou aux mesures réanimatoires intensives, avec entre autres l'utilisation fréquente d'agents vasopresseurs.

Expérimentalement, plusieurs études ont montré que l'augmentation brutale de la pression intracrânienne s'accompagnait d'une libération massive de CK pro-inflammatoires (TNF- α , IFN- γ) dans les organes périphériques tels que le cœur, les reins et le foie (Takada et coll., 1998 ; Koo et coll., 1999 ; van der Hoeven et coll., 1999 ; Wilhelm et coll., 2000). L'expression de diverses molécules d'adhésion (sélectines, ICAM, VCAM, LFA-1) qui s'en suit a été clairement observée à la surface des leucocytes recrutés et au niveau des cellules endothéliales et parenchymateuses (van der Hoeven et coll., 1999 et 2000a). En clinique, une infiltration leucocytaire hépatique significativement plus marquée a pu être observée chez le donneur en état de ME par comparaison au foie de donneur vivant (Jassem et coll., 2003). Au cours de cette cascade inflammatoire, l'IFN- γ activerait également l'expression des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC de classe I et II), augmentant ainsi l'immunogénicité du greffon via les cellules T. Des travaux expérimentaux réalisés chez le rongeur semblent apporter des arguments pertinents quant à l'effet délétère de cet événement sur la qualité et la viabilité du greffon hépatique après transplantation (Okamoto et coll., 1999 ; van der Hoeven et coll., 2000a et b). Ces données n'ont cependant pas été confirmées chez le gros animal ou chez l'homme (Lin et coll., 1989b ; Yamaoka et coll., 1990 ; Compagnon et coll., 2002a). En utilisant pour la première fois un modèle de transplantation hépatique orthotopique chez le gros animal, Compagnon et coll. (2002a) ont pu montrer d'une part que la ME

n'occasionnait pas de souffrance hépatocellulaire avant le prélèvement de l'organe chez le donneur. D'autre part, l'interaction entre la destruction du système nerveux central et la conservation prolongée du greffon hépatique n'exacerbait pas les lésions d'I/R, et ne compromettait ni la reprise de fonction immédiate du greffon hépatique, ni la survie après transplantation.

Bien que les foies prélevés sur donneurs vivants apparentés semblent exprimer une incidence de dysfonction primaire plus faible (Yamaoka et coll., 1993), les rôles respectifs de la ME et du management du donneur ne sont pas faciles à discerner. Chez le donneur cadavérique, les importants échanges liquidiens et hydroélectrolytiques imposent souvent des remplissages massifs afin de maintenir une homéostasie satisfaisante. Qui plus est, les organes sont souvent prélevés dans des conditions sub-optimales ; les donneurs décédés doivent en effet souvent faire face à de multiples événements défavorables tels que l'état de choc hémodynamique et/ou infectieux, l'hypoxie, des infections diverses, des interventions chirurgicales, un état de dénutrition (en rapport avec un séjour prolongé en unité de réanimation) et des transfusions sanguines plus ou moins importantes. *A contrario*, le donneur vivant ne souffre d'aucune pathologie préexistante, un bilan d'évaluation rigoureux ayant préalablement été réalisé. L'organe est prélevé dans un environnement chirurgical étroitement contrôlé, refroidi puis transplanté chez le receveur dans un délai très court.

Facteurs d'aggravation du syndrome d'ischémie/reperfusion

De multiples mécanismes, sous-tendant les lésions d'I/R, contribuent à des degrés variables à la dysfonction du greffon hépatique. Si le pronostic immédiat de la greffe est largement dépendant des conditions de conservation du greffon, il peut également être modulé de manière substantielle par certains facteurs de risque inhérents au statut du donneur et du receveur. Ainsi, la capacité d'un greffon à reprendre rapidement une fonction normale après sa revascularisation, dépend d'abord de la qualité intrinsèque du foie chez le donneur au moment du prélèvement. Le degré de stéatose du greffon, le statut nutritionnel tout comme l'âge du donneur, la survenue d'une ischémie chaude à l'occasion des épisodes de collapsus qui émaillent la réanimation avant ou pendant le prélèvement, une anémie ou encore le sepsis (exposition à des endotoxines) (Yokoyama et coll., 1989 ; Essani et coll., 1996) représentent autant de facteurs plus ou moins associés qui peuvent exacerber les lésions de reperfusion post-ischémique et conditionner en partie le pronostic de la greffe. L'état de mort encéphalique chez le donneur cadavérique et les modifications physiopathologiques qui l'accompagnent sont également à prendre en compte dans le processus complexe que constitue l'I/R. Le statut du receveur (âge, fonction rénale, gravité de l'insuffisance hépatocellulaire...) ou

encore les conditions d'implantation du greffon (instabilité hémodynamique et/ou endotoxinémie) (Yokoyama et coll., 1989) peuvent aussi influencer de manière significative sur la reprise de fonction du greffon (figure 8.5).

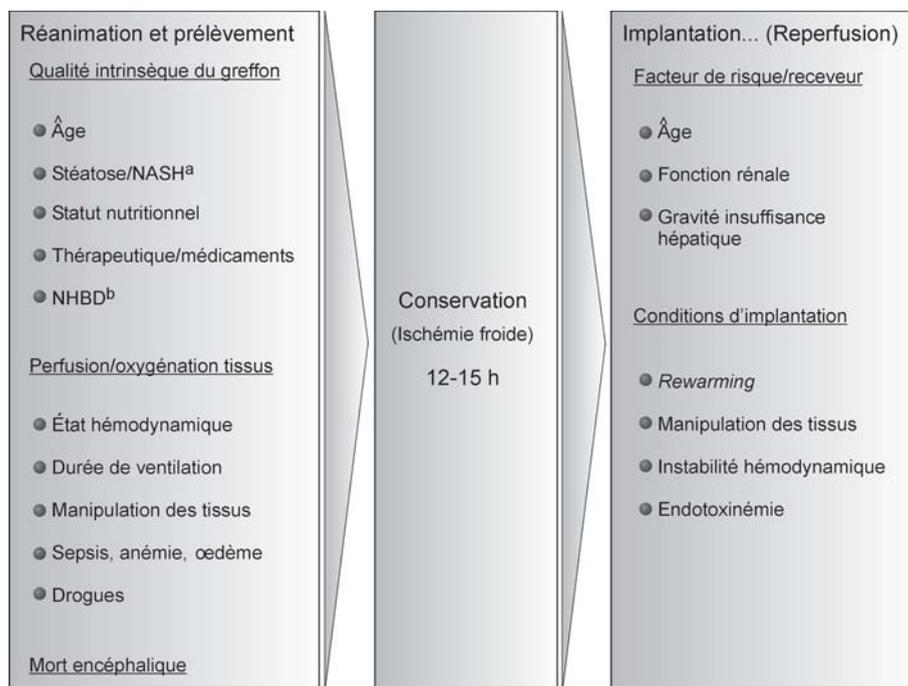


Figure 8.5 : Facteurs de risque pouvant exacerber le syndrome d'I/R

^a NASH : Stéatohépatite non alcoolique ; ^b NHBD : *Non Heart Beating Donor*, donneur à cœur arrêté

Conservation du greffon hépatique

La qualité de la conservation est un déterminant majeur de la fonction initiale du greffon et de la survie. La viabilité du greffon au cours de son transfert ischémique du donneur vers le receveur est basée principalement sur l'hypothermie, qui est initialement obtenue en rinçant les organes *in situ* avec une solution de conservation froide (4°C). La distribution homogène de l'hypothermie est au mieux réalisée en perfusant chaque organe, au travers de ses vaisseaux afférents, à l'aide d'une solution réfrigérante. Par leur action mécanique, ces solutions lavent les vaisseaux des éléments figurés qu'ils contiennent et refroidissent instantanément, de manière homogène, les tissus qu'elles irriguent. L'organe est ensuite immergé dans la solution de conservation réfrigérée (entre 0° et 4°C).

Principes de base de la conservation en ischémie froide

Se basant sur ces éléments, Belzer et Southard ont décrit ce qu'ils considéraient comme les principes de base des éléments nécessaires à la composition d'une solution de conservation, principes nécessaires pour contrebalancer les effets délétères de l'hypothermie. L'équipe de Madison introduisait 3 nouveaux concepts (Southard et coll., 1990) :

- la pression osmotique n'est plus obtenue par un agent métaboliquement actif comme le glucose, elle est mieux maintenue élevée grâce à l'adjonction de substrats métaboliquement inertes tels que le lactobionate et le raffinose (action prolongée contre la tendance à l'œdème cellulaire induit par l'hypothermie) ;
- la présence d'un colloïde, en l'occurrence l'hydroxyéthylamidon. Cet agent stable et non toxique prévient l'expansion de l'espace extracellulaire, son adjonction apparaît fondamentale en cas de conservation prolongée ;
- l'addition d'antioxydants (glutathion, allopurinol) pour lutter contre le stress oxydant afin de diminuer les lésions de reperfusion (Ferguson et coll., 1991 ; Sumimoto et coll., 1991 ; Ferguson et coll., 1993 ; Lemasters et Thurman, 1997) et également de précurseurs de la synthèse d'ATP au moment de la reperfusion (adénosine, phosphate) (Southard et Belzer, 1993).

Solutions de conservation des greffons hépatiques

À l'heure actuelle, trois solutions sont couramment utilisées en pratique clinique (tableau 8.I).

Solution UW (Viaspan®)

L'UW (Viaspan®) a transformé la conservation d'organe (Belzer et Southard, 1988). Cette solution autorise des durées de conservation d'environ 12 à 15 heures (Kalayoglu et coll., 1988 ; Ploeg et coll., 1992). Il a été reproché à la solution UW de ne contenir aucun composant spécifiquement désigné pour limiter l'effet délétère de l'afflux intracellulaire en calcium. De plus, sa faible concentration en sodium, inhérente à sa formulation de type intracellulaire, serait même supposée promouvoir l'accumulation d'ions Ca^{2+} . Or, en plus de ses propriétés imperméantes, le lactobionate aiderait à chélater le calcium, limitant l'activité des enzymes calcium-dépendantes. Le lactobionate pourrait également chélater le fer et limiterait ainsi les lésions oxydatives durant la reperfusion. Quoiqu'il en soit, les mécanismes précis de protection offerts par l'UW ne sont pas connus, et la substitution d'un ingrédient majeur comme le lactobionate par des substances supposées avoir les mêmes propriétés modifient l'efficacité de la solution. Il est possible que les ingrédients composant l'UW présentent un synergisme ou soient effectifs seulement en combinaison : un phénomène appelé « *summation of protection* » (Southard et coll., 1990).

Tableau 8.1 : Solutions de conservation des viscères intra-abdominaux

	Solutions de conservation (mmol/l)		
	UW (Viaspan®) ¹	HTK (Custodiol®) ²	Celsior®
Glucose	–	–	–
Lactobionate	100	–	80
Raffinose	30	–	–
Mannitol	–	30	60
Glutamate	–	–	20
Ketoglutarate	–	1	–
Tryptophane	–	2	–
Tampon Phosphate	25	–	–
Tampon Bicarbonate	–	–	–
Tampon Histidine	–	180	30
GSH ³	2	–	3
Adénosine	5	–	–
Allopurinol	1	–	–
HEA ⁴	50 g	–	–
Na ⁺ /K ⁺	30/120	15/10	100/15
Mg ⁺	5	4	13
Ca ²⁺	–	0,015	0,25
pH	7,4	7,2	7,3
Osmolarité	320	310	360

¹ UW : solution de l'Université du Wisconsin (Viaspan®) ; ² HTK : solution de Bretschneider (Custodiol®) ;

³ GSH : glutathion réduit ; ⁴ HEA : hydroxyéthyl amidon

Solution Custodiol® (ou HTK)

La formulation de cette solution reposait sur l'introduction d'un système tampon très efficace grâce à l'histidine et ses deux substrats (Bretschneider, 1980). La solution HTK a une viscosité très basse et nécessite des volumes importants de perfusion à basse pression. Pour des durées de conservation limitées, ses performances sont équivalentes à l'UW (Erhard et coll., 1994). Sa faible concentration en K⁺ minimise les risques cardiaques lors de la revascularisation.

Solution Celsior®

La solution Celsior® s'inspire de la solution UW en apportant des agents imperméants inertes osmotiques (lactobionate et mannitol) et de la solution HTK en incorporant l'histidine (Menasche et coll., 1994). À l'instar de l'UW, elle inclut également dans sa formulation un antioxydant, le glutathion, maintenu sous sa forme réduite. La solution Celsior® est cependant une solution de type extracellulaire (concentrations élevées en Na⁺ et basse en K⁺). La prévention de l'œdème cellulaire est assurée par le lactobionate et le mannitol. Dépourvue de colloïdes, la viscosité de la solution Celsior® est basse (1,15 mm²/sec *versus* 3,159 mm²/sec pour l'UW), propriété qui améliorerait la perfusabilité de la solution et offrirait une protection contre les lésions endothéliales (Menasche et coll., 1994). La solution Celsior® a été formulée pour contrôler l'homéostasie du calcium de par sa formulation ionique de type extracellulaire, supplémentée en Mg²⁺ et en Ca²⁺ dans un milieu faiblement acide. Cette formulation éviterait la dépolarisation des cellules musculaires lisses membranaires, dépolarisation qui se traduit par une vasoconstriction et une mauvaise distribution de la solution dans les capillaires (Studer et Borle, 1992). La solution Celsior® exprime des performances superposables (fréquence de dysfonction primaire du greffon et survie des patients à un an) à l'UW et représente une alternative à la solution de référence pour des durées de conservation standards (Cavallari et coll., 2003 ; Karam et coll., 2005).

Nouvelles solutions de conservation

De nouvelles solutions de conservation sont en cours d'évaluation.

La solution Polysol a été développée récemment à Amsterdam. Sa composition est basée sur le principe de la persistance d'un métabolisme à 4°C (Bessems et coll., 2005a). Il s'agit d'une solution de conservation classique, enrichie avec des acides aminés, des vitamines et des antioxydants (Bessems et coll., 2005a).

La solution IGL-1 (Institut Gustave Lopez) a quant à elle été développée à Lyon en s'inspirant à la fois des principes des solutions UW et Celsior® (Ben Abdennebi et coll., 2002). Elle combine le caractère extracellulaire du Celsior® et la présence d'un colloïde comme dans l'UW, le PEG se substituant à l'hydroxyéthylamidon.

Température optimale de conservation

Les premiers travaux expérimentaux ont montré que la température optimale de conservation statique en IF était de 4°C (égale à celle des réfrigérateurs), la fourchette optimale se situant entre 2 et 4°C. Un monitoring était recommandé, en particulier au cours de la « *back table* » et du conditionnement (Belzer et Southard, 1988 ; Kennedy et coll., 1990). Des travaux

ultérieurs ont montré que la température optimale se situait plutôt entre 0 et 1°C, et surtout que de petites variations (de l'ordre de 4 à 5°C) pouvaient influencer significativement la reprise de fonction après reperfusion du greffon (Hertl et coll., 1994). Par ailleurs, une activité métabolique substantielle persiste au cours de la période d'implantation, la durée de cette période d'ischémie chaude relative ayant une influence significative sur la fonction du greffon (Cywes et coll., 1992 ; Holzmuller et coll., 1993).

Défaillance primaire du greffon hépatique

Les dysfonctions hépatiques incluent la non-fonction primaire des greffons, événement grave à l'origine de la plupart des retransplantations précoces (Uemura et coll., 2007), et la fonction retardée du greffon hépatique qui s'accompagne d'une morbidité importante et d'une diminution de la survie à moyen terme (Porte et coll., 1998).

Non-fonction primaire

La non-fonction primaire se définit comme la défaillance aiguë de la fonction hépatique dans les suites immédiates de la revascularisation, sans cause identifiable, et conduit soit à la retransplantation en urgence ou à la mort du patient. Alors que son incidence oscillait entre 2 % et 8 % au début des années 1990, elle est rencontrée moins fréquemment à l'heure actuelle, les données les plus récentes de la littérature la situant entre 1 et 4 % selon les séries (Ploeg et coll., 1993 ; Busuttill et coll., 1994 ; Bennett-Guerrero et coll., 2001 ; Oh et coll., 2004 ; Varotti et coll., 2005 ; Uemura et coll., 2007).

Le mécanisme précis à l'origine de cette complication demeure indéterminé, il est probablement multifactoriel. La durée du séjour en réanimation ou l'âge du donneur, la durée d'ischémie froide, le type de solution de conservation, le *mismatch* entre le sexe du donneur et du receveur, et la durée opératoire représentent les facteurs le plus souvent associés à la défaillance du greffon, tout au moins en analyse univariée (Varotti et coll., 2005 ; Uemura et coll., 2007). Le degré de souffrance hépatocellulaire est étroitement corrélé à la non reprise de fonction du greffon hépatique (Rosen et coll., 1998).

Dysfonction précoce (ou fonction retardée)

Le diagnostic de dysfonction précoce ou fonction retardée est établi en cas de présence, entre J2 et J7, d'au moins un des paramètres suivants : bilirubine > 170 µmol/l ; taux de prothrombine (TP) < 50 % ; encéphalopathie hépatique. L'incidence est estimée entre 15 à 20 % (Ploeg et coll., 1993 ; Deschenes et coll., 1998 ; Chen et coll., 2007).

Deschenes et coll. (1998) ont fait ressortir des facteurs indépendants liés au receveur (sexe masculin, status UNOS, bilirubine totale, TP < 50 %) ou au donneur (ethnie – autre que caucasien –, âge > 50 ans, IF >15 h, mauvaise qualité subjective du greffon – jugement du chirurgien –, séjour en réanimation > 3 jours, acidose préopératoire, *mismatch* ABO). Une période d'implantation du greffon de plus de 45 minutes ou une ischémie froide de plus de 9 heures ont également été incriminées comme facteurs de risque de dysfonction (Chen et coll., 2007).

Marqueurs et traitement de la défaillance aiguë du greffon

Il n'existe actuellement aucun marqueur fiable permettant de prédire la fonctionnalité du greffon. Par conséquent, l'efficacité de toute stratégie pour améliorer la conservation du greffon hépatique (en situation expérimentale ou clinique) ne peut être évaluée avec certitude qu'après son implantation et sa revascularisation chez le receveur.

En post-reperfusion immédiate, les profils d'expression de certains gènes sur des biopsies du greffon (Berberat et coll., 2006) ou la mesure de profils métaboliques sanguins en spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (Serkova et coll., 2007) pourraient permettre d'identifier précocement la dysfonction aiguë du greffon. Prédire la fonction du greffon avant son implantation est encore plus séduisant. Ainsi, l'analyse de profils d'expression de gènes sur le greffon avant son prélèvement (Geuken et coll., 2005 ; Borozan et coll., 2006) ou l'évaluation du stress oxydant sur le plasma du receveur avant la greffe (Corradini et coll., 2005) représentent des pistes intéressantes pour prédire la fonction post-transplantation.

Les processus pathophysiologiques qui sous-tendent la dysfonction précoce du greffon sont complexes. À l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement spécifiquement établi/standardisé de la défaillance aiguë du greffon hépatique (Selzner et coll., 2003 ; Taub, 2004). Le système MARS (*Molecular Adsorbent Recirculating System*) aurait un effet bénéfique sur les fonctions neurologique et rénale, et sur l'état hémodynamique, avec une bonne tolérance globale (Hetz et coll., 2006). Une étude multicentrique randomisée a été initiée récemment.

Conséquences des lésions d'I/R au niveau des lésions chroniques

À long terme, l'incidence des rejets chroniques n'est pas corrélée à l'intensité des lésions d'I/R (Rosen et coll., 1998). Toutefois, l'I/R pourrait contribuer au développement d'autres lésions chroniques.

Lésions biliaires

L'aspect macroscopique du greffon lors du prélèvement, la durée de reperfusion et la quantité de transfusion peropératoire sont autant de facteurs favorisant le développement de cholestases sévères et prolongées (Fusai et coll., 2006). L'incidence des sténoses biliaires non-anastomotiques est élevée, étroitement corrélée à la durée de l'IF. Les mécanismes lésionnels sont encore mal cernés (« *ischemic-type* » *biliary lesions*). Il a été montré que les cellules de l'arbre biliaire avaient une sensibilité majeure aux lésions de reperfusion (> aux hépatocytes). On sait également que les sels biliaires hydrophobes ont une toxicité directe qui va amplifier les lésions de l'épithélium. Le détachement de la membrane basale serait corrélé à la durée d'IF. En cas d'IF > 10 heures, les solutions à faible viscosité seraient moins pourvoyeuses de lésions biliaires (Sanchez-Urdazpal et coll., 1992 et 1993 ; Noack et coll., 1993 ; Hertl et coll., 1995 ; Carrasco et coll., 1996).

Récidive virale C

En cas de transplantation pour cirrhose virale C, l'intensité des lésions d'I/R favorise de façon significative la progression vers la fibrose en cas de récurrence virale sur le greffon (Watt, 2006).

Stratégies pour améliorer la conservation du greffon hépatique

Améliorer la qualité du greffon représente un moyen de favoriser son fonctionnement immédiat, d'optimiser au mieux l'allocation des greffons et aussi une façon de réduire la pénurie d'organes.

La simplicité de la conservation en IF constitue également un de ses inconvénients. Cette méthode n'est en effet pas très adaptée pour la conservation des greffons « sub-optimaux » (greffons stéatosiques, donneurs âgés, donneurs dénutris ou infectés en raison de long séjour en réanimation, donneurs ayant présenté des troubles hémodynamiques – bas débits voire arrêts cardio-respiratoires c'est-à-dire donneurs à cœur arrêté...). Cette limite de la méthode pourrait devenir encore plus parlante dans les années à venir du fait de la nécessité croissante d'avoir recours à ce pool de greffons prélevés chez des donneurs « aux critères élargis ».

Différentes stratégies ont été développées dans le but de favoriser la reprise de fonction immédiate des organes prélevés mais aussi d'élargir l'accès à un pool de donneurs « non idéaux » afin de satisfaire la demande croissante en greffon. Ces stratégies incluent les modifications ponctuelles des solutions de conservation et le prétraitement du donneur.

Modifications ponctuelles des solutions de conservation

De nombreuses équipes se sont attachées à améliorer les performances des solutions de conservation en les supplémentant en agents cytoprotecteurs. Le plus gros du travail concernant ces modifications ponctuelles des solutions a été réalisé sur des modèles cellulaires ou chez le rongeur. Malheureusement, les bénéfices observés ne se sont pas toujours confirmés chez le gros animal et ces modifications se sont souvent traduites par des résultats peu probants en clinique.

Ainsi, ont été testés expérimentalement et avec plus ou moins de succès : l'adjonction d'acides aminés qui suppriment la protéolyse (inhibition essentielle en cas de conservation prolongée) (Charrueau et coll., 2000), des antioxydants (NAC, curcumin) (Boudjema et coll., 1990a ; Chen et coll., 2006), des inhibiteurs calciques (nisoldipine, lidoflazine...) +/- associés à des antiprotéases (leupeptine, pepstatine) (Takei et coll., 1990 ; Jacobsson et coll., 1993), des piègeurs de radicaux libres (superoxyde dismutase, mélatonine) (Kawamoto et coll., 1990 ; Vairetti et coll., 2005), des « donneurs » de NO (sodium nitroprusside, L-Arginine) (Rodriguez et coll., 1999), des inhibiteurs de la peroxydation lipidique (lazaroid) (Todo et coll., 1996), des inhibiteurs de l'apoptose (IDN-6556) (Hoglen et coll., 2007), des inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice extracellulaire (Defamie et coll., 2008) ou encore des inhibiteurs de l'activation des cellules de Kupffer (NAC) (Maeda et coll., 1998).

Toujours expérimentalement, il a été montré que l'adjonction de polyéthylène glycol (PEG) à la solution de conservation permettait d'améliorer significativement la qualité des greffons hépatiques (Tokunaga et coll., 1992 ; Ben Abdennebi et coll., 2002). Les mécanismes expliquant l'effet bénéfique de cet agent imperméant incluraient la prévention de l'œdème cellulaire et la diminution de la peroxydation lipidique. Le PEG se lierait aux phospholipides et s'accumulerait dans les membranes cellulaires. L'altération de l'homéostasie du calcium est associée comme nous l'avons déjà mentionné avec l'activation de diverses protéases calcium-dépendantes et la perte de la fonction mitochondriale. En recouvrant les cellules non parenchymateuses, ce colloïde constituerait une barrière au passage des ions Ca^{2+} (Ben Abdennebi et coll., 2002). Tokunaga et coll. (1992) ont également suggéré que le PEG pouvait exprimer un effet immunoprotecteur.

Après avoir été testée avec succès pour la conservation du rein, l'adjonction de facteurs de croissance a montré également un effet bénéfique dans un modèle de transplantation hépatique chez le gros animal, en particulier en termes de survie (Ambiru et coll., 2004). Cette supplémentation en facteurs de croissance ouvre la voie à une nouvelle génération de solutions de conservation dites « métaboliquement actives » (McAnulty et coll., 2002).

Prétraitement du donneur

Le concept de prétraitement du donneur afin d'augmenter la tolérance du greffon à l'I/R a été exploré pour tous les organes mais la plupart des travaux expérimentaux et cliniques ont été réalisés pour le foie. Ces stratégies de prétraitement incluent : la protection directe à l'aide de drogues administrées au donneur, les interventions chirurgicales et la thérapie génique.

Protection directe à l'aide de drogues administrées au donneur

Ces drogues sont administrées dans le but d'inhiber l'action de molécules délétères ou de stimuler des voies métaboliques protectrices.

Les premiers travaux sur le prétraitement se sont intéressés au statut énergétique du foie chez le donneur. Le groupe de Boston a démontré le premier l'hypothèse selon laquelle les greffons hépatiques avec un taux élevé d'ATP conduiraient à de meilleurs résultats (Lanir et coll., 1988). Se basant sur ces résultats, plusieurs équipes dont celle de Belzer ont imaginé que le statut nutritionnel, et plus particulièrement les réserves en glycogène qui représentent la source majeure de glucose et d'ATP, pouvaient représenter un facteur déterminant de la fonction initiale du greffon (Belzer et Southard, 1988). L'équipe de Madison a ainsi montré expérimentalement que le jeûne et la déplétion en glycogène chez le donneur étaient responsables d'une diminution significative de la production de bile et d'ATP et entraînaient des dommages hépatocellulaires plus importants lors de la reperfusion (Boudjema et coll., 1990b). Ce concept a été appliqué en clinique (Cywes et coll., 1992). Le prétraitement des donneurs par injection de glucose par voie intraveineuse avant le prélèvement permettait d'augmenter significativement le taux de glycogène hépatique et était associé à de moindres lésions hépatocellulaires après transplantation. Alors que les résultats cliniques étaient prometteurs, Sumimoto et coll. (1993) ont montré à partir d'un modèle de transplantation chez le rat que plus les donneurs étaient déprimés en glycogène par une longue période de jeûne, meilleure était la survie des receveurs. Pour les auteurs, de tels résultats pouvaient s'expliquer par une inactivation des cellules de Kupffer par l'état de jeûne, supprimant ainsi la génération de ERO et de molécules pro-inflammatoires.

Des travaux ultérieurs ont confirmé l'hypothèse selon laquelle l'inactivation des cellules de Kupffer pouvait diminuer les lésions d'I/R et nombre de molécules ont été ainsi testées expérimentalement chez le donneur. Par exemple, le groupe de Thurman (Schemmer et coll., 1998) a montré que, chez le rongeur, la dépression des cellules de Kupffer avec le chlorure de gadolinium permettait d'augmenter significativement la survie des receveurs. L'application clinique d'une telle stratégie soulevait cependant le problème de la toxicité potentielle du chlorure de gadolinium. Pour cette raison, d'autres équipes ont testé le N-dichlorométhylène encapsulé dans des liposomes, molécule qui déprimerait plus sélectivement et plus complètement les cellules

de Kupffer. Alors que cet agent semblait améliorer sensiblement la fonction hépatique *in vitro*, les résultats *in vivo* n'étaient significatifs que si le temps de clampage portal durant l'implantation du greffon était long, condition associée à une activation des cellules de Kupffer par les endotoxines d'origine intestinale (Urata et coll., 2000).

D'autres auteurs ont montré que l'augmentation des défenses naturelles des cellules hépatiques contre les radicaux libres par l'injection intraportale de N-acétyl cystéine, un précurseur de la synthèse du glutathion (Nakano et coll., 1995), ou par des stratégies visant à surexprimer des protéines antioxydantes comme la superoxyde dismutase (Zwacka et coll., 1998 ; Yabe et coll., 2001) représentait un moyen d'augmenter la résistance du greffon à l'IF. Cependant, aucune de ces stratégies n'a trouvé la voie vers l'application en clinique.

Comme déjà largement abordée, il est admis que l'apoptose des cellules hépatiques joue un rôle important dans les lésions d'I/R. Les mécanismes initiant cette mort cellulaire programmée ne sont pas complètement élucidés mais semblent s'articuler de façon prééminente autour de l'activation de protéases. Ainsi, Natori et coll. (1999) ont été capables de diminuer significativement l'apoptose des cellules endothéliales et de prolonger la survie chez les animaux recevant un foie d'un donneur prétraité par un inhibiteur de la caspase 3. Des inhibiteurs des calpaïnes ont été également testés. Les calpaïnes appartiennent à un groupe de protéases intracellulaires calcium-dépendantes qui agiraient de concert avec les caspases pour activer la protéolyse membranaire au moment de la reperfusion. Le groupe de Clavien a montré que l'administration de cet inhibiteur au donneur permettait de diminuer significativement les dommages hépatocellulaires et surtout de prolonger la survie des animaux dans un modèle de transplantation (Kohli et coll., 1997). Toujours en situation expérimentale, d'autres équipes ont également pu observer que l'inhibition de l'apoptose chez le donneur diminuait significativement les lésions de préservation/reperfusion (Zhang et coll., 2005). Dans la situation particulière du donneur vivant apparenté, cette stratégie doit être envisagée avec beaucoup de précaution. Le danger avec ces traitements anti-apoptotiques vient du risque d'inhiber également l'apoptose dans les tissus ou organes non affectés par l'agression ischémique. Le *turnover* physiologique des cellules incluant l'élimination des cellules défectueuses ou même de cellules potentiellement cancéreuses pourrait être sévèrement perturbé.

L'ischémie froide, bien que nécessaire pour ralentir le métabolisme, entraîne des lésions bien documentées au niveau des CES hépatiques (Clavien, 1998). Les modifications morphologiques de ces cellules perturberaient la microcirculation hépatique au moment de la reperfusion (adhérence et activation des plaquettes et leucocytes, phénomènes thrombotiques) (Lemasters et Thurman, 1997). En situation expérimentale, de nombreuses équipes ont

rapporté l'effet protecteur du prétraitement du donneur avec des prostaglandines et de leurs analogues (Natori et coll., 1997 ; Totsuka et coll., 1998). Une étude clinique récente semble confirmer le potentiel de la PGI₂ dans la prévention des lésions de reperfusion, lorsque celle-ci est administrée chez le donneur, avant le prélèvement (Klein et coll., 1999). En fait, les cellules endothéliales hépatiques représenteraient la cible essentielle de « l'hépatoprotection » induite par les prostaglandines (Arai et coll., 1999 ; Itasaka et coll., 1999). De multiples mécanismes ont été proposés, incluant une amélioration de la perfusion sinusoidale, une diminution de l'adhésion des PNN aux cellules endothéliales et de l'agrégation plaquettaire. En outre, les analogues de prostaglandines (PGI₂, prostacycline) atténueraient les perturbations de la microcirculation hépatique (Anthuber et coll., 1996). Le prétraitement du donneur à l'aide d'un inhibiteur de l'adénosine déaminase représente un autre moyen d'améliorer la reprise de fonction immédiate des greffons (Tian et coll., 2000). L'effet bénéfique de ce prétraitement serait également lié à une amélioration significative de la microcirculation lors de la reperfusion.

L'induction pharmacologique chez le donneur de la hème oxygénase 1 (HO-1) ou des protéines du choc thermique (*Heat-Shock Proteins*, HSP) représente d'autres moyens d'augmenter la tolérance du greffon à l'I/R (Fudaba et coll., 2001 ; Kato et coll., 2003 ; Wang et coll., 2005 ; Ollinger et coll., 2007).

Au total, le concept de prétraitement du donneur afin d'augmenter la tolérance du greffon est séduisant. Cependant, le mécanisme d'action des différents agents pharmacologiques testés est encore mal cerné et les données cliniques concernant l'application de cette stratégie demeurent limitées. D'autre part, le prétraitement pharmacologique du donneur possède des limitations telles que :

- le « *timing* » (l'administration n'est pas toujours possible) ;
- les questions éthiques (le prétraitement peut-il être débuté avant le constat de décès ?) ;
- les effets délétères sur d'autres fonctions intrinsèques du foie nécessaires chez le receveur (comme par exemple la fonction macrophagique des cellules de Kupffer) ;
- les effets systémiques potentiels de certaines stratégies ; l'effet délétère potentiel pour les autres organes susceptibles d'être prélevés chez le même donneur (manque de spécificité du traitement) ;
- le coût souvent élevé des molécules administrées.

Interventions chirurgicales : préconditionnement ischémique

De nombreux investigateurs se sont par ailleurs focalisés sur le préconditionnement ischémique (PI), une technique qui protégerait les organes des lésions d'I/R. Elle consiste en l'application préalable à une phase d'ischémie prolongée d'un ou de plusieurs cycles d'occlusion vasculaire et de reperfusion.

Ce stress ischémique induirait un état de tolérance envers une ischémie prolongée. Ce paradoxe fut caractérisé initialement pour le cœur par Murry et coll. (1986) avant d'être observé secondairement pour d'autres organes comme les reins (Toosy et coll., 1999), les poumons (Du et coll., 1996) et l'intestin (Hotter et coll., 1996 ; Davis et coll., 1999).

Pour le foie, il a été montré chez le rongeur que l'application du PI avant ischémie chaude prolongée permettait d'atténuer les dommages hépatocellulaires et d'améliorer la fonction hépatique ainsi que la survie (Yoshizumi et coll., 1998 ; Peralta et coll., 1999 ; Nilsson et coll., 2000 ; Compagnon et coll., 2002b). Ce concept de PI a été appliqué ultérieurement dans des modèles de transplantation hépatique chez le rat avec des résultats cependant discordants (Adam et coll., 1998 ; Yin et coll., 1998 ; Arai et coll., 2000). Nous disposons de peu de données chez le gros animal (Schulz et coll., 2001 ; Compagnon et coll., 2005). Récemment, l'utilisation d'un modèle canin a permis de confirmer les résultats observés chez le rongeur en montrant que le PI atténuait les lésions hépatocellulaires induites par une ischémie chaude prolongée, effet bénéfique qui était associé à une réduction de l'infiltration tissulaire en neutrophiles et à une augmentation de la synthèse d'ATP après reperfusion (Compagnon et coll., 2005). L'application d'un protocole identique de PI n'avait cependant aucun effet protecteur sur les lésions de reperfusion survenant après ischémie froide (modèle de transplantation hépatique), malgré une efficacité notable sur la viabilité cellulaire d'hépatocytes isolés soumis également à des lésions d'ischémie froide (Compagnon et coll., 2005). La raison pour laquelle le PI augmente la tolérance à l'ischémie chaude mais pas à l'IF reste inexplicée.

En situation clinique, nous disposons à l'heure actuelle de preuves limitées quant à l'efficacité du PI sur les lésions d'I/R hépatique (Clavien et coll., 2000 ; Totsuka et coll., 2000 ; Azoulay et coll., 2005 ; Cescon et coll., 2006 ; Jassem et coll., 2006). Azoulay et coll. (2005) ont rapporté un bénéfice en termes de dommage hépatocellulaire mais l'application du préconditionnement avant le prélèvement se traduisait cependant par un taux significativement plus élevé de dysfonction hépatique après transplantation. Le nombre de cycles d'I/R nécessaire à l'induction du PI pourrait être spécifique à chaque tissu (Hawaleshka et Jacobsohn, 1998). Alors que l'application de multiples et brefs cycles d'I/R semble être optimal pour le cœur (Murry et coll., 1986), un épisode unique de PI semble être plus efficace pour induire une protection maximale du foie à une ischémie prolongée, la durée optimale du stimulus ischémique semblant être de 10 minutes (Lloris-Carsi et coll., 1993). Une étude prospective randomisée récente n'a d'ailleurs pas montré de bénéfice si la durée du stimulus ischémique était réduite à 5 minutes (Koneru et coll., 2005).

Le mécanisme exact par lequel le PI conférerait une protection n'est pas complètement élucidé mais pourrait impliquer de nombreux signaux,

seconds messagers et effecteurs (Hawaleshka et Jacobsohn, 1998). Ce bref épisode d'I/R agirait comme un stimulus non spécifique qui activerait de multiples voies redondantes de signalisation. Le mécanisme protecteur induit par le PI est instantané, il survient dans les secondes qui suivent le stimulus. Le PI doit donc être appliqué immédiatement avant la phase d'ischémie prolongée auquel sera exposé le foie.

Différentes voies de signalisation intracellulaire pourraient être impliquées dans le PI hépatique précoce.

Peralta et coll. (1996) ont été les premiers à suggérer que la libération d'adénosine jouait un rôle clef dans ce phénomène de protection induite. Des travaux ultérieurs ont pu montrer que les récepteurs de l'adénosine de type A2 étaient impliqués dans la transduction du signal, que ce soit dans des conditions normo- ou hypothermiques (Nakayama et coll., 1999 ; Peralta et coll., 1999 ; Arai et coll., 2000). La phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K) serait responsable de l'activation séquentielle de deux isoformes de la protéine kinase C (PKC- α et PKC- β) et de la p38 MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) (Carini et Albano, 2003).

Le NO synthétisé induirait le PI en activant la p38 MAPK par l'intermédiaire d'une voie métabolique alternative reposant sur des signaux cGMP-dépendants (Carini et coll., 2003a). Peralta et coll. (2001) ont suggéré que l'adénosine libérée par les hépatocytes activerait la NO synthase (iNOS) dans les CES. Le monoxyde de carbone (CO) semble également jouer un rôle prédominant dans la médiation du PI (Peralta et coll., 1996 et 2001 ; Koti et coll., 2002 ; Barrier et coll., 2005).

Il est possible que d'autres facteurs, comme entre autres le stress oxydant ou le peptide atrial natriurétique (ANP), l'IL-6 et STAT 3, l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1 Ra) et Bcl-2 puissent contribuer à l'effet protecteur du PI (Carini et Albano, 2003 ; Carini et coll., 2003b ; Barrier et coll., 2005 ; Matsumoto et coll., 2006).

La résistance aux lésions d'I/R qui se développe à la phase précoce du PI résulte vraisemblablement de la modulation de plusieurs fonctions cellulaires telles que :

- le métabolisme énergétique : amélioration de la perfusion sinusoidale (Glanemann et coll., 2003), préservation des réserves en ATP et en glycogène (Compagnon et coll., 2002b ; Peralta et coll., 2000a), ainsi qu'un effet direct sur les fonctions mitochondriales avec maintien de l'état d'oxydoréduction (Koti et coll., 2002) ;
- le contrôle de l'équilibre acido-basique : meilleurs échanges ioniques transmembranaires et moindre production de protons par la glycolyse anaérobie en fourniraient l'explication (Carini et coll., 2001) ;
- la prévention des lésions oxydatives générées au cours de la reperfusion : amélioration des capacités antioxydantes (Peralta et coll., 2002) et moindre production de ERO (Fernandez et coll., 2002) ;

- l'inhibition de l'apoptose : diminution des lésions oxydatives et de la perte énergétique, l'inhibition de la caspase 3 (Yadav et coll., 1999), interaction directe possible avec les signaux proapoptotiques (Liu et coll., 2002) ;
- la réponse inflammatoire associée avec la reperfusion (Carini et Albano, 2003) : atténuation de la production de TNF- α et de chimiokines CXC, diminuant ainsi l'adhésion des leucocytes aux CES ainsi que l'infiltration hépatique post-ischémique par les PNN (Peralta et coll., 1996 ; Howell et coll., 2000). La capacité du PI à atténuer l'expression du TNF- α et de molécules d'adhésion intercellulaires impliquerait l'inhibition de NF- κ B (Funaki et coll. (2002) ;
- la diminution de l'expression de l'endothéline, conduisant à l'amélioration de la microperfusion hépatique (Peralta et coll., 2000b) ;
- une meilleure capacité à synthétiser des protéines lors de la reperfusion. Dans un modèle cellulaire, il a été montré que l'effet bénéfique du PI était attribuable à une protection directe des cellules parenchymateuses hépatiques, et semblait dépendre en partie de la capacité à rétablir une synthèse protéique lors de la reperfusion (Compagnon et coll., 2002b).

La phase précoce du PI serait à l'origine d'une seconde fenêtre de protection, manifeste aux alentours de la 24^e heure après l'application du stimulus, et qui pourrait durer entre 2 et 4 jours. Ce PI tardif a été observé après exposition à divers stimulus tels qu'une brève ischémie/reperfusion, une hyperthermie transitoire, un stress oxydant, ou l'infusion d'ANP (Carini et Albano, 2003). Cette protection est caractérisée par une amélioration de la perfusion sinusoidale et de la production de bile, ainsi qu'une diminution de l'infiltration leucocytaire et de la cytolysé hépatique. Du fait de son effet prolongé, le PI tardif pourrait être particulièrement intéressant en transplantation hépatique.

Différents mécanismes pourraient être impliqués dans le PI hépatique tardif.

L'augmentation de l'expression des protéines du choc thermique (HSP) (Kume et coll., 1996). En particulier, l'induction de HSP27 et de HSP70 jouerait un rôle central dans le développement de cette tolérance à l'ischémie/reperfusion. En se liant au cytochrome C et à des facteurs d'induction de l'apoptose (AIF, APAF-1), ces HSPs préviendraient l'activation des caspases (Garrido et coll., 2001). La phosphorylation de HSP 27 par la p38MAPK lui permettrait également d'interagir avec l'actine et ainsi d'augmenter la résistance du cytosquelette au stress oxydant (Huot et coll., 1996).

L'induction de l'hème oxygénase (HO-1) représente un autre mécanisme de défense lié à la stimulation des HSPs (Redaelli et coll., 2002 ; McNally et coll., 2006). HO-1 catalyse la dégradation de l'hème en monoxyde de carbone et de biliverdine, induisant la formation de bilirubine qui possède de puissantes propriétés antioxydantes. L'activation de HO-1 aurait également des effets anti-inflammatoires et anti-apoptotiques (Katori et coll., 2002).

Une autre conséquence majeure du PI tardif est la diminution de l'expression du TNF- α et de la protéine macrophagique de l'inflammation au cours de la réoxygénation. Cet effet serait médié par la modulation de la translocation nucléaire de NF- κ B et AP-1, régulation résultant probablement de la stabilisation de protéines inhibitrices de NF- κ B après leur liaison avec HSP70 (Kierner et coll., 2000).

Le préconditionnement hépatique peut également être réalisé en appliquant une courte période d'hyperthermie sub-létale avant la phase d'ischémie prolongée. Le préconditionnement hyperthermique (PH) a été évalué dans des modèles de transplantation chez le rongeur avec des résultats bénéfiques en termes de souffrance hépatocellulaire, de fonction de synthèse et de survie (Matsumoto et coll., 2001 ; Redaelli et coll., 2002). Une inhibition de l'apoptose et une meilleure préservation ultrastructurelle étaient observées dans les groupes d'animaux préconditionnés (15-20 min à 42-43°C, application du PH 24-48 h avant le prélèvement). Cet effet protecteur du PH était associé à des taux augmentés HSP 70 dans les hépatocytes et les CES. L'application clinique de cette technique de préconditionnement est cependant difficilement envisageable.

Actuellement, les stratégies chirurgicales comme le préconditionnement ischémique sont les plus prometteuses et les seules à pouvoir être envisagées pour une application clinique de routine. Le mécanisme exact de l'action protectrice est incomplètement connu. Il s'agit d'un processus multifactoriel nécessitant l'interaction de nombreux signaux, seconds messagers et effecteurs. Le « *timing* » du stimulus de préconditionnement semble essentiel. L'application clinique du préconditionnement hyperthermique dont l'effet protecteur est médié par le système HO-1, est plus problématique.

Thérapie génique

Enfin, le transfert de gènes pourrait offrir la possibilité de prévenir et réduire les dommages hépatiques occasionnés au cours du processus de transplantation (Ke et coll., 2004). Ainsi, la transfection du gène *Bcl-2* représenterait un moyen d'augmenter la résistance hépatique à l'ischémie froide en atténuant l'apoptose (Rentsch et coll., 2005). L'enzyme SOD et la catalase ont été transférées pour renforcer les défenses antioxydantes (Selzner et coll., 2003). D'autres équipes ont développé des stratégies cytoprotectrices fondées sur l'expression de gènes tels HO-1 ou IL-13 (Ke et coll., 2004 ; Geuken et coll., 2005). Des tentatives de modulation de la réponse inflammatoire par inhibition de NF- κ B ont été également faites (Fan et coll., 1999).

Ces résultats expérimentaux sont prometteurs mais ne doivent pas occulter les nombreux problèmes inhérents à la technique de thérapie génique : une efficacité limitée des vecteurs utilisés pour la transfection et la difficulté d'augmenter l'expression de protéines au moment et au site approprié, un problème de « *timing* » car la thérapie doit être réalisée plusieurs jours avant

le prélèvement, ou encore un risque de cytotoxicité (par exemple, l'expression de HO-1 peut être parfois spontanément élevée) (Casillas-Ramirez et coll., 2006).

Stratégies spécifiques à un type de donneurs (donneurs aux « critères élargis »)

Le prétraitement du donneur représente également un moyen d'augmenter le pool de donneurs en améliorant la viabilité des organes sub-optimaux.

Foies stéatosiques

La stéatose hépatique est rencontrée dans 6 à 24 % des greffons cadavériques. Sa forme sévère (plus de 60 % d'infiltration) est associée à un taux élevé de dysfonction et diminue significativement la survie à un an (Yoong et coll., 1999). Le mécanisme qui expliquerait la plus faible tolérance de ces greffons à l'ischémie semble être lié à des perturbations de la microcirculation hépatique et à un dysfonctionnement mitochondrial (Fukumori et coll., 1997 et 1999).

Les solutions IGL-1 et Polysol (en cours de développement) semblent être plus performantes que les solutions actuellement utilisées en pratique clinique pour la conservation des greffons stéatosiques (Ben et coll., 2006 ; Hata et coll., 2007).

Le prétraitement pharmacologique des donneurs pourrait également permettre d'améliorer la survie de ces greffons hépatiques marginaux. Nakano et coll. (1997) ont ainsi observé que l'administration de N-acétyl cystéine (NAC), un précurseur de glutathion, avant la phase de conservation permettait de protéger l'intégrité de la microcirculation du foie stéatosique.

Toujours en situation expérimentale, il a été montré que le préconditionnement à l'ischémie permettait d'augmenter également la tolérance des foies surchargés en dépôts lipidiques (Niemann et coll., 2005).

Donneurs à cœur arrêté

L'intérêt dans l'utilisation des donneurs à cœur arrêté comme source potentielle de greffon hépatique s'est considérablement accru ces dernières années. Bien que les résultats des premières expériences soient encourageants, un taux élevé de non-fonction primaire et une survie du greffon plus faible sont observés. Dans le but d'amener un plus grand nombre de ces organes à la transplantation, le prétraitement pharmacologique du donneur représente une approche intéressante afin de renforcer la tolérance de ces foies pour lesquels les effets délétères de l'ischémie chaude sont exacerbés par la période de conservation hypothermique et la reperfusion à suivre. En situation expérimentale, il a été montré que des drogues comme TAK-044

(un antagoniste des récepteurs de l'endothéline) (Fukunaga et coll., 1998), Nicaraven (un piègeur de radicaux libres) (Yokota et coll., 2000), ou encore lazaroïd (un inhibiteur de la peroxydation lipidique) (Xu et coll., 1996) avaient un effet bénéfique lorsqu'elles étaient administrées chez le donneur avant l'ischémie chaude. Cependant, ces drogues ne sont pas faciles à manier et leur coût est si élevé que leur utilisation en clinique ne s'est pas encore concrétisée. *A contrario*, la pentoxifylline est un composé bon marché. Il s'agit d'un inhibiteur de phosphodiesterase qui agirait en prévenant la libération par les cellules de Kupffer de cytokines pro-inflammatoires (Zabel et coll., 1993). Des équipes ont pu observer que le prétraitement des donneurs avec cet inhibiteur réduisait significativement les dommages hépatocellulaires et surtout autorisait de meilleurs taux de survie par rapport aux animaux non traités. Cependant, aucune étude clinique n'a encore confirmé ces résultats positifs chez le donneur à cœur arrêté (Astarcioglu et coll., 2000 ; Qing et coll., 2006).

Conditionnement du receveur

Le traitement du receveur représente une autre stratégie visant à diminuer les lésions de préservation/reperfusion et améliorer ainsi les résultats de la transplantation hépatique.

Ainsi, l'administration intraveineuse de biliverdine (produit du métabolisme de l'hème) chez le receveur juste avant et quelques heures après l'implantation du greffon semble avoir des effets cytoprotecteurs puissants, se traduisant par une amélioration significative de la survie des animaux (Fondevila et coll., 2004). Cet effet bénéfique serait lié à l'inhibition de l'expression de iNOS et de cytokines telles que IL-1, TNF- α , IL-6, mais aussi à l'induction de l'expression de molécules anti-apoptotiques. D'autres équipes ont montré que l'apport exogène de monoxyde de carbone (CO) par inhalation chez le receveur, dans les heures qui entourent la greffe, était également bénéfique (Kaizu et coll., 2005 et 2008). Une suppression de l'expression de gènes précoces de l'inflammation ainsi que la diminution de l'infiltration par les neutrophiles étaient observées chez les animaux traités. Les mécanismes sous-jacents impliqueraient une régulation négative par la voie de MEK/ERK1/2.

Perfusion hypothermique du greffon

La conservation par perfusion hypothermique représente un autre concept de conservation des greffons hépatiques. En situation expérimentale, de nombreux travaux ont montré la supériorité de cette méthode sur l'IF (Pienaar et coll., 1990 ; Kim et coll., 1997 ; Compagnon et coll., 2001 ; Bessems et coll., 2006 ; Dutkowski et coll., 2006). Cette technique consiste

à perfuser en continue le greffon par ses vaisseaux afférents, en hypothermie et en oxygénant le perfusé.

La perfusion hypothermique apporte plusieurs avantages :

- le maintien des capacités de synthèse en ATP (Boudjema et coll., 1991 ; Fujita et coll., 1993 ; Kim et coll., 1997) ou en métabolites indispensables et du pouvoir antioxydant des cellules (Meister et Anderson, 1983) ;
- l'élimination des produits de dégradation du métabolisme qui peuvent s'accumuler à des concentrations toxiques dans les tissus, autorisant entre autres un meilleur contrôle du pH intracellulaire ;
- un moyen de délivrer de façon continue aux tissus des substrats métaboliques (adénosine, ribose, phosphate...) ou d'autres agents cytoprotecteurs tels que des antioxydants ou des inhibiteurs enzymatiques (St Peter et coll., 2002).

La perfusion hypothermique représente également un bon moyen de « récupérer » des greffons ayant subi des périodes d'ischémie chaude prolongée, car prélevés sur des donneurs à cœur arrêté. Cette technique offre en effet la possibilité de « post-conditionner » ces greffons endommagés (Lee et coll., 2003 ; Bessems et coll., 2005b ; Manekeller et Minor 2006). Ce « post-conditionnement » de foies ayant été exposés à une ischémie chaude demeure efficace même après une période intermédiaire de conservation en IF (Manekeller et Minor, 2006).

Sur le plan technique, une perfusion de type pulsatile ou continue peut être utilisée indifféremment pour la veine porte (Dutkowski et coll., 1998). Qui plus est, il semble exister une grande tolérance hépatique aux variations de pression de perfusion par la veine porte (van der Plaats et coll., 2004). Pour l'artère hépatique, il semble préférable d'avoir recours à une perfusion de type pulsatile. En effet, la perfusion continue induirait une augmentation de 15 % des résistances vasculaires et impliquerait donc d'augmenter la pression de perfusion pour maintenir une pression de perfusion identique (Mandelbaum et coll., 1965). Si le réseau veineux est choisi comme voie de perfusion unique, il a été montré que les performances de la perfusion par les veines sus-hépatiques étaient superposables à celles de la perfusion par la veine porte pour des durées de conservation de 24 et 48 heures (Compagnon et coll., 2001). Comparée à l'IF, la perfusion hypothermique permettait une moindre souffrance des cellules parenchymateuses et non parenchymateuses, un maintien voire une augmentation des capacités antioxydantes du greffon et une meilleure préservation du statut énergétique en fin de conservation.

L'application clinique de la conservation des greffons hépatiques par perfusion hypothermique est encore au stade d'étude de faisabilité. Malgré l'ensemble de ces données en faveur de la supériorité de la machine à perfuser, l'ischémie froide demeure la seule méthode employée en clinique. Une telle pratique s'explique par les contraintes logistiques non négligeables qu'impose la perfusion.

Dans cet esprit, il convient d'édifier maintenant un cahier des charges d'une machine de perfusion susceptible par sa simplicité de répondre aux exigences de la pratique quotidienne. La perfusion hypothermique pourrait représenter un moyen d'évaluer la viabilité des greffons avant transplantation. Les paramètres hémodynamiques (débit de perfusion, résistance...) et la libération d'enzymes intracellulaires ou autres métabolites dans le perfusé pourraient en effet apporter des informations essentielles, surtout en cas de greffon « marginal ». La perfusion hypothermique offrirait ainsi l'opportunité d'augmenter avec plus de sécurité le nombre d'organes utilisables.

Perfusion normothermique

Quelques équipes vont à contre-courant du principe de base que constitue l'hypothermie pour la conservation des organes en concentrant leur effort sur la perfusion normothermique (Jamieson et Friend, 2006). Deux approches différentes sont actuellement explorées, d'une part la recirculation *in situ* et d'autre part la perfusion *ex vivo*.

La méthode *in situ*, qui utilise un système de bypass cardiopulmonaire, a été testée dans différents modèles d'ischémie chaude chez le gros animal (porc). Des résultats positifs ont été observés en termes de fonctionnalité et de survie des animaux après transplantation (Valero et coll., 1998 et 2000 ; Net et coll., 2005). Cette technique permet en outre l'analyse de la viabilité des greffons, en autorisant l'utilisation de paramètres de viabilité tels que le débit sanguin hépatique ou les ratios d'extraction en oxygène (Valero et coll., 1998). L'analyse histologique des greffons chez les animaux en vie a cependant montré que tous présentaient des lésions biliaires de type nécrose ischémique irréversible, compromettant ainsi une survie à long terme. La même équipe a montré par la suite que l'adjonction de drogues cytoprotectrices (L-Arginine, adénosine...) permettait de diminuer significativement le degré des lésions biliaires (Valero et coll., 2000 ; Net et coll., 2005).

La perfusion normothermique *ex vivo* est plus complexe à mettre en œuvre sur le plan technique. De nombreux travaux ont montré sa supériorité sur l'IF dans des modèles de transplantation à cœur arrêté (Schön et coll., 2001 ; Reddy et coll., 2004 ; Brasile et coll., 2005). Ces travaux insistent sur la nécessité de développer une machine de perfusion portable afin de pouvoir appliquer la perfusion normothermique d'emblée et éviter ainsi d'imposer au greffon une phase intermédiaire d'ischémie froide avant la perfusion chaude. Bien qu'elle puisse offrir des avantages pour les greffons marginaux, la perfusion normothermique reste une entreprise complexe nécessitant une grande expertise à sa mise en œuvre ainsi qu'un monitoring continu par un personnel très entraîné, autant d'éléments qui limitent fortement son application clinique pour l'instant.

En conclusion, l'unique objectif de la conservation d'organe dans le domaine de la transplantation est de fournir au receveur un greffon dont la qualité lui permettra d'assurer à la fois une bonne reprise de fonction et la survie à long terme.

Les lésions hépatiques d'ischémie/reperfusion (I/R) représentent un processus complexe et multifactoriel dans lequel de multiples médiateurs et diverses cellules interagissent. Ces lésions peuvent aboutir à la mort cellulaire et finalement à la dysfonction de l'organe.

Le succès de la conservation en ischémie froide est étroitement lié à la simplicité de la méthode. Les performances de cette technique de conservation repose essentiellement sur l'inhibition du métabolisme par l'hypothermie, la suppression de l'œdème cellulaire grâce aux agents imperméants et la stimulation du métabolisme énergétique lors de la reperfusion grâce à des précurseurs de la synthèse d'ATP mais aussi sur une courte durée de conservation. Cependant, le taux de dysfonction primaire des greffons demeure élevé. La simplicité de la conservation en ischémie froide constitue également un de ses inconvénients. Cette méthode n'est en effet pas très adaptée pour la conservation des greffons « aux critères élargis ». Depuis 10 ans, l'approche commune pour améliorer la qualité de la conservation d'organe s'est fondée sur le concept d'une modification ponctuelle des solutions originales. Ces adjonctions de molécules n'ont pas souvent trouvé le chemin de l'application clinique, les résultats observés chez l'animal ne se confirmant pas systématiquement chez l'homme. On peut alors sérieusement se poser la question de savoir si nous n'avons pas tout simplement atteint les limites de la conservation en ischémie froide. La reformulation des solutions de conservation n'est peut-être pas le meilleur moyen d'améliorer significativement la fonction immédiate du greffon et de nouvelles approches sont actuellement explorées.

La première idée est de considérer que la tolérance de l'organe à l'ischémie/reperfusion pourrait être améliorée en prétraitant le donneur. Les différentes stratégies du prétraitement du donneur incluent une protection directe à l'aide de drogues administrées au donneur avec l'idée d'inhiber des molécules délétères, de renforcer des voies métaboliques protectrices, la thérapie génique et des interventions chirurgicales comme le préconditionnement à l'ischémie. Des résultats bénéfiques sur la survie de la greffe ont été obtenus par la protection directe du donneur mais la spécificité du traitement reste réduite. Le mécanisme d'action des agents pharmacologiques testés en situation expérimentale est encore mal cerné et leur spécificité réduite. Bien que la thérapie génique soit séduisante, de nombreux problèmes d'ordre pratique et éthique accompagnent cette stratégie thérapeutique. Actuellement, les stratégies chirurgicales comme le préconditionnement ischémique sont les plus prometteuses et les seules également à pouvoir être envisagées pour une application clinique de routine.

L'autre idée est fondée sur le fait que l'anoxie plutôt que les caractéristiques physicochimiques des solutions pourrait constituer le facteur limitant à toute amélioration : la conservation en perfusion hypothermique continue représentant alors le seul moyen de maintenir cet apport en oxygène au niveau de l'organe réfrigéré. Cette technique permet en outre d'éliminer les produits toxiques accumulés dans le tissu hépatique, de contrôler le pH cellulaire, de délivrer des agents cytoprotecteurs et d'améliorer la viabilité des organes sub-optimaux par un « postconditionnement ». Elle est actuellement au stade d'étude de faisabilité en clinique.

BIBLIOGRAPHIE

ADAM R, ARNAULT I, BAO YM, SALVUCCI M, SEBAGH M, BISMUTH H. Effect of ischemic preconditioning on hepatic tolerance to cold ischemia in the rat. *Transpl Int* 1998, **11** (suppl 1) : 168-170

AMBIRU S, URYUHARA K, TALPE S, DEHOUX JP, JACOBBI L, et coll. Improved survival of orthotopic liver allograft in swine by addition of trophic factors to University of Wisconsin solution. *Transplantation* 2004, **77** : 302-319

ANDERSON BO, BROWN JM, HARKEN AH. Mechanisms of neutrophil-mediated tissue injury. *J Surg Res* 1991, **51** : 170-179

ANTHUBER M, FARKAS S, RIHL M, MENGER MD, JAUCH KW, et coll. Conditioning of liver grafts by donor bolus pretreatment with epoprostenol. *Transplantation* 1996, **62** : 13-17

ANUNDI I, KING J, OWEN DA, SCHNEIDER H, LEMASTERS JJ, THURMAN RG. Fructose prevents hypoxic cell death in liver. *Am J Physiol* 1987, **253** : 390-396

ARAI M, PENG XX, CURRIN RT, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Protection of sinusoidal endothelial cells against storage/reperfusion injury by prostaglandin E2 derived from Kupffer cells. *Transplantation* 1999, **68** : 440-445

ARAI M, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Contribution of adenosine A(2) receptors and cyclic adenosine monophosphate to protective ischemic preconditioning of sinusoidal endothelial cells against Storage/Reperfusion injury in rat livers. *Hepatology* 2000, **32** : 297-302

ASTARCIOGLU H, KARADEMIR S, UNEK T, OZER E, MENEKAY S, et coll. Beneficial effects of pentoxifylline pretreatment in non-heart-beating donors in rats. *Transplantation* 2000, **69** : 93-98

AZOULAY D, DEL GAUDIO M, ANDREANI P, ICHAI P, SEBAG M, et coll. Effects of 10 minutes of ischemic preconditioning of the cadaveric liver on the graft's preservation and function: the ying and the yang. *Ann Surg* 2005, **242** : 133-139

BANGA NR, HOMER-VANNIASINKAM S, GRAHAM A, AL-MUKHTAR A, WHITE SA, PRASAD KR. Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver. *Br J Surg* 2005, **92** : 528-538

BARRIER A, OLAYA N, CHIAPPINI F, ROSER F, SCATTON O, et coll. Ischemic preconditioning modulates the expression of several genes, leading to the overproduction of IL-1Ra, iNOS, and Bcl-2 in a human model of liver ischemia-reperfusion. *FASEB J* 2005, **19** : 1617-1626

BAUTISTA AP, SPITZER JJ. Platelet activating factor stimulates and primes the liver, Kupffer cells and neutrophils to release superoxide anion. *Free Radic Res Commun* 1992, **17** : 195-209

BELZER FO, SOUTHARD JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988, **45** : 673-676

BEN ABDENNEBI H, STEGHENS JP, HADJ-AISSA A, BARBIEUX A, RAMELLA-VIRIEUX S, et coll. A preservation solution with polyethylene glycol and calcium: a possible multiorgan liquid. *Transpl Int* 2002, **15** : 348-354

BEN MOSBAH I, ROSELLÓ-CATAFAU J, FRANCO-GOU R, ABDENNEBI HB, SAIDANE D, et coll. Preservation of steatotic livers in IGL-1 solution. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1215-1223

BENNETT-GUERRERO E, FEIERMAN DE, BARCLAY GR, PARIDES MK, SHEINER PA, et coll. Preoperative and intraoperative predictors of postoperative morbidity, poor graft function, and early rejection in 190 patients undergoing liver transplantation. *Arch Surg* 2001, **136** : 1177-1183

BENYON RC, ARTHUR MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001, **21** : 373-384

BERBERAT PO, FRIESS H, SCHMIED B, KREMER M, GRAGERT S, et coll. Differentially expressed genes in postperfusion biopsies predict early graft dysfunction after liver transplantation. *Transplantation* 2006, **82** : 699-704

BESSEMS M, DOORSCHODT BM, VAN VLIET AK, VAN GULIK TM. Improved rat liver preservation by hypothermic continuous machine perfusion using polysol, a new, enriched preservation solution. *Liver Transpl* 2005a, **11** : 539-546

BESSEMS M, DOORSCHODT BM, VAN MARLE J, VREELING H, MEIJER AJ, VAN GULIK TM. Improved machine perfusion preservation of the non-heart-beating donor rat liver using Polysol: a new machine perfusion preservation solution. *Liver Transpl* 2005b, **11** : 1379-1388

BESSEMS M, DOORSCHODT BM, DINANT S, DE GRAAF W, VAN GULIK TM. Machine perfusion preservation of the pig liver using a new preservation solution, polysol. *Transplant Proc* 2006, **38** : 1238-1242

BILBAO G, CONTRERAS JL, ECKHOFF DE, MIKHEEVA G, KRASNYKH V, et coll. Reduction of ischemia-reperfusion injury of the liver by in vivo adenovirus-mediated gene transfer of the antiapoptotic Bcl-2 gene. *Ann Surg* 1999, **230** : 185-193

BILZER M, JAESCHKE H, VOLLMAR AM, PAUMGARTNER G, GERBES AL. Prevention of Kupffer cell-induced oxidant injury in rat liver by atrial natriuretic peptide. *Am J Physiol* 1999, **276** : 1137-1144

BITTNER HB, CHEN EP, BISWAS SS, VAN TRIGT P 3RD, DAVIS RD. Right ventricular dysfunction after cardiac transplantation: primarily related to status of donor heart.

BOROS P, BROMBERG JS. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury. *Am J Transplant* 2006, **6** : 652-658

BOROZAN I, CHEN L, SUN J, TANNIS LL, GUINDI M, et coll. Gene expression profiling of acute liver stress during living donor liver transplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 806-824

BORS W, MICHEL C, SARAN M, LENGFELDER E. The involvement of oxygen radicals during the autoxidation of adrenalin. *Biochim Biophys Acta* 1978, **540** : 162-172

BOUDJEMA K, VAN GULIK TM, LINDELL SL, VREUGDENHIL PS, SOUTHARD JH, BELZER FO. Effect of oxidized and reduced glutathione in liver preservation. *Transplantation* 1990a, **50** : 948-951

BOUDJEMA K, LINDELL SL, SOUTHARD JH, BELZER FO. The effects of fasting on the quality of liver preservation by simple cold storage. *Transplantation* 1990b, **50** : 943-948

BOUDJEMA K, LINDELL SL, BELZER FO, SOUTHARD JH. Effects of method of preservation on functions of livers from fed and fasted rabbits. *Cryobiology* 1991, **28** : 227-236

BRADHAM CA, SCHEMMER P, STACHLEWITZ RF, THURMAN RG, BRENNER DA. Activation of nuclear factor-kappaB during orthotopic liver transplantation in rats is protective and does not require Kupffer cells. *Liver Transpl Surg* 1999, **5** : 282-293

BRASILE L, STUBENITSKY BM, HAISCH CE, KON M, KOOTSTRA G. Repair of damaged organs in vitro. *Am J Transplant* 2005, **5** : 300-306

BRETSCHNEIDER HJ. Myocardial protection. *Thorac Cardiovasc Surg* 1980, **28** : 295-302

BUNN HF, POYTON RO. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev* 1996, **76** : 839-885

BUSUTTIL RW, SHAKED A, MILLIS JM, JURIM O, COLQUHOUN SD, et coll. One thousand liver transplants. The lessons learned. *Ann Surg* 1994, **219** : 490-497

CALDWELL CC, TSCHOEP J, LENTSCH AB. Lymphocyte function during hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Leukoc Biol* 2007, **82** : 457-464

CALDWELL-KENKEL JC, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Selective loss of nonparenchymal cell viability after cold ischemic storage of rat livers. *Transplantation* 1988, **45** : 834-837

CALDWELL-KENKEL JC, CURRIN RT, TANAKA Y, THURMAN RG, LEMASTERS JJ. Reperfusion injury to endothelial cells following cold ischemic storage of rat livers. *Hepatology* 1989, **10** : 292-299

CALMUS Y, CYNOBER L, DOUSSET B, LIM SK, SOUBRANE O, et coll. Evidence for the detrimental role of proteolysis during liver preservation in humans. *Gastroenterology* 1995, **108** : 1510-1516

CARINI R, ALBANO E. Recent insights on the mechanisms of liver preconditioning. *Gastroenterology* 2003, **125** : 1480-1491

CARINI R, GRAZIA DE CESARIS M, SPLENDORE R, ALBANO E. Stimulation of p38 MAP kinase reduces acidosis and Na(+) overload in preconditioned hepatocytes. *FEBS Lett* 2001, **491** : 180-183

CARINI R, GRAZIA DE CESARIS M, SPLENDORE R, DOMENICOTTI C, NITTI MP, et coll. Signal pathway responsible for hepatocyte preconditioning by nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2003a, **34** : 1047-1055

CARINI R, DE CESARIS MG, SPLENDORE R, DOMENICOTTI C, NITTI MP, et coll. Mechanisms of hepatocyte protection against hypoxic injury by atrial natriuretic peptide. *Hepatology* 2003b, **37** : 277-285

CARRASCO L, SANCHEZ-BUENO F, SOLA J, RUIZ JM, RAMIREZ P, et coll. Effects of cold ischemia time on the graft after orthotopic liver transplantation. A bile cytological study. *Transplantation* 1996, **61** : 393-396

CASILLAS-RAMIREZ A, MOSBAH IB, RAMALHO F, ROSELLO-CATAFAU J, PERALTA C. Past and future approaches to ischemia-reperfusion lesion associated with liver transplantation. *Life Sci* 2006, **79** : 1881-1894

CAVALLARI A, CILLO U, NARDO B, FILIPPONI F, GRINGERI E, et coll. A multicenter pilot prospective study comparing Celsior and University of Wisconsin preserving solutions for use in liver transplantation. *Liver Transpl* 2003, **9** : 814-821

CESCON M, GRAZI GL, GRASSI A, RAVAIOLI M, VETRONE G, et coll. Effect of ischemic preconditioning in whole liver transplantation from deceased donors. A pilot study. *Liver Transpl* 2006, **12** : 628-635

CHARRUEAU C, BLONDE-CYNOBER F, COUDRAY-LUCAS C, POUPON R, CHAUMEIL JC, et coll. Prevention of proteolysis in cold-stored rat liver by addition of amino acids to the preservation solution. *J Gastroenterol Hepatol* 2000, **15** : 1199-1204

CHEN C, JOHNSTON TD, WU G, RANJAN D. Curcumin has potent liver preservation properties in an isolated perfusion model. *Transplantation* 2006, **82** : 931-937

CHEN H, PENG CH, SHEN BY, DENG XX, SHEN C, et coll. Multi-factor analysis of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007, **6** : 141-146

CHURCHILL TA, CHEETHAM KM, FULLER BJ. Glycolysis and energy metabolism in rat liver during warm and cold ischemia: evidence of an activation of the regulatory enzyme phosphofructokinase. *Cryobiology* 1994, **31** : 441-452

CLAVIEN PA. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. *Hepatology* 1998, **28** : 281-285

CLAVIEN PA, HARVEY PR, STRASBERG SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992, **53** : 957-978

CLAVIEN PA, HARVEY PR, SANABRIA JR, CYWES R, LEVY GA, STRASBERG SM. Lymphocyte adherence in the reperfused rat liver: mechanisms and effects. *Hepatology* 1993, **17** : 131-142

CLAVIEN PA, YADAV S, SINDRAM D, BENTLEY RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 2000, **232** : 155-162

COLLETTI LM, BURTCH GD, REMICK DG, KUNKEL SL, STRIETER RM, et coll. The production of tumor necrosis factor alpha and the development of a pulmonary capillary injury following hepatic ischemia/reperfusion. *Transplantation* 1990, **49** : 268-272

COLLETTI LM, KUNKEL SL, WALZ A, BURDICK MD, KUNKEL RG, et coll. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996, **23** : 506-514

COLLETTI LM, CORTIS A, LUKACS N, KUNKEL SL, GREEN M, STRIETER RM. Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat. *Shock* 1998, **10** : 182-191

COMPAGNON P, CLEMENT B, CAMPION JP, BOUDJEMA K. Effects of hypothermic machine perfusion on rat liver function depending on the route of perfusion. *Transplantation* 2001, **72** : 606-614

COMPAGNON P, WANG H, LINDELL SL, AMETANI MS, MANGINO MJ, et coll. Brain death does not affect hepatic allograft function and survival after orthotopic transplantation in a canine model. *Transplantation* 2002a, **73** : 1218-1227

COMPAGNON P, WANG HB, SOUTHARD JH, MANGINO MJ. Ischemic preconditioning in a rodent hepatocyte model of liver hypothermic preservation injury. *Cryobiology* 2002b, **44** : 269-278

COMPAGNON P, LINDELL S, AMETANI MS, GILLIGAN B, WANG HB, et coll. Ischemic preconditioning and liver tolerance to warm or cold ischemia: experimental studies in large animals. *Transplantation* 2005, **79** : 1393-1400

CONTI A, SCALA S, D'AGOSTINO P, ALIMENTI E, MORELLI D, et coll. Wide gene expression profiling of ischemia-reperfusion injury in human liver transplantation. *Liver Transpl* 2007, **13** : 99-113

CORRADINI SG, MICHELETTA F, NATOLI S, IAPPELLI M, DI ANGELANTONIO E, et coll. High preoperative recipient plasma 7beta-hydroxycholesterol is associated with initial poor graft function after liver transplantation. *Liver Transpl* 2005, **11** : 1494-1504

CURSIO R, GUGENHEIM J, RICCI JE, CRENESSE D, ROSTAGNO P, et coll. A caspase inhibitor fully protects rats against lethal normothermic liver ischemia by inhibition of liver apoptosis. *Faseb J* 1999, **13** : 253-261

CURZIO M, ESTERBAUER H, DI MAURO C, CECCHINI G, DIANZANI MU. Chemotactic activity of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal and homologous hydroxyalkenals. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1986, **367** : 321-329

CYWES R, GREIG PD, SANABRIA JR, CLAVIEN PA, LEVY GA, et coll. Effect of intraportal glucose infusion on hepatic glycogen content and degradation, and outcome of liver transplantation. *Ann Surg* 1992, **216** : 235-246

CYWES R, PACKHAM MA, TIETZE L, SANABRIA JR, HARVEY PR, et coll. Role of platelets in hepatic allograft preservation injury in the rat. *Hepatology* 1993, **18** : 635-647

DAVIS JM, GUTE DC, JONES S, KRSMANOVIC A, KORTHUIS RJ. Ischemic preconditioning prevents postischemic P-selectin expression in the rat small intestine. *Am J Physiol* 1999, **277** : 2476-2481

DEFAMIE V, LAURENS M, PATRONO D, DEVEL L, BRAULT A, et coll. Matrix metalloproteinase inhibition protects rat livers from prolonged cold ischemia-warm reperfusion injury. *Hepatology* 2008, **47** : 177-185

DESCHENES M, BELLE SH, KROM RA, ZETTERMAN RK, LAKE JR. Early allograft dysfunction after liver transplantation: a definition and predictors of outcome. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Transplantation* 1998, **66** : 302-310

DU ZY, HICKS M, WINLAW D, SPRATT P, MACDONALD P. Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rat. *J Heart Lung Transplant* 1996, **15** : 1258-1267

DUTKOWSKI P, ODERMATT B, HEINRICH T, SCHÖNFELD S, WATZKA M, et coll. Hypothermic oscillating liver perfusion stimulates ATP synthesis prior to transplantation. *J Surg Res* 1998, **80** : 365-372

DUTKOWSKI P, GRAF R, CLAVIEN PA. Rescue of the cold preserved rat liver by hypothermic oxygenated machine perfusion. *Am J Transplant* 2006, **6** : 903-912

EMADALI A, MUSCATELLI-GROUX B, DELOM F, JENNA S, BOISMENU D, et coll. Proteomic analysis of ischemia-reperfusion injury upon human liver transplantation reveals the protective role of IQGAP1. *Mol Cell Proteomics* 2006, **5** : 1300-1313

EMADALI A, METRAKOS PP, KALANTARI F, BOUTROS T, BOISMENU D, CHEVET E. Proteomic analysis of tyrosine phosphorylation during human liver transplantation. *Proteome Sci* 2007, **5** : 1

ERHARD J, LANGE R, SCHERER R, KOX WJ, BRETSCHEIDER HJ, et coll. Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution versus University of Wisconsin (UW) solution for organ preservation in human liver transplantation. A prospective, randomized study. *Transpl Int* 1994, **7** : 177-181

ESSANI NA, MCGUIRE GM, MANNING AM, JAESCHKE H. Endotoxin-induced activation of the nuclear transcription factor kappa B and expression of E-selectin messenger RNA in hepatocytes, Kupffer cells, and endothelial cells in vivo. *J Immunol* 1996, **156** : 2956-2963

ESSANI NA, BAJT ML, FARHOOD A, VONDERFECHT SL, JAESCHKE H. Transcriptional activation of vascular cell adhesion molecule-1 gene in vivo and its role in the pathophysiology of neutrophil-induced liver injury in murine endotoxin shock. *J Immunol* 1997a, **158** : 5941-5948

ESSANI NA, FISHER MA, JAESCHKE H. Inhibition of NF-kappa B activation by dimethyl sulfoxide correlates with suppression of TNF-alpha formation, reduced ICAM-1 gene transcription, and protection against endotoxin-induced liver injury. *Shock* 1997b, **7** : 90-96

FAN C, ZWACKA RM, ENGELHARDT JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *J Mol Med* 1999, **77** : 577-592

FAOUZI S, BURCKHARDT BE, HANSON JC, CAMPE CB, SCHRUM LW, et coll. Anti-Fas induces hepatic chemokines and promotes inflammation by an NF-kappa B-independent, caspase-3-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001, **276** : 49077-49082

FARHOOD A, MCGUIRE GM, MANNING AM, MIYASAKA M, SMITH CW, JAESCHKE H. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression and its role in neutrophil-induced ischemia-reperfusion injury in rat liver. *J Leukoc Biol* 1995, **57** : 368-374

FERGUSON DM, GORES GJ, LUDWIG J, KROM RA. UW solution protects against reperfusion injury by inhibiting lipid peroxidation. *Transplant Proc* 1991, **23** : 1552-1553

FERGUSON DM, GORES GJ, BRONK SF, KROM RA. An increase in cytosolic protease activity during liver preservation. Inhibition by glutathione and glycine. *Transplantation* 1993, **55** : 627-633

FERNANDEZ L, HEREDIA N, GRANDE L, GÓMEZ G, RIMOLA A, et coll. Preconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation: role of xanthine/xanthine oxidase. *Hepatology* 2002, **36** : 562-572

FOLKMAN J. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995, **333** : 1757-1763

FONDEVILA C, SHEN XD, TSUCHIYASHI S, YAMASHITA K, CSIZMADIA E, et coll. Biliverdin therapy protects rat livers from ischemia and reperfusion injury. *Hepatology* 2004, **40** : 1333-1341

FUDABA Y, OH DAN H, TASHIRO H, ITO H, FUKUDA Y, et coll. Geranylgeranylacetone, a heat shock protein inducer, prevents primary graft nonfunction in rat liver transplantation. *Transplantation* 2001, **72** : 184-189

FUJITA S, HAMAMOTO I, NAKAMURA K, TANAKA K, OZAWA K. Isolated perfusion of rat livers: effect of temperature on O₂ consumption, enzyme release, energy store, and morphology. *Nippon Geka Hokan* 1993, **62** : 58-70

FUKUMORI T, OHKOHCHI N, TSUKAMOTO S, SATOMI S. Why is fatty liver unsuitable for transplantation? Deterioration of mitochondrial ATP synthesis and sinusoidal structure during cold preservation of a liver with steatosis. *Transplant Proc* 1997, **29** : 412-415

FUKUMORI T, OHKOHCHI N, TSUKAMOTO S, SATOMI S. The mechanism of injury in a steatotic liver graft during cold preservation. *Transplantation* 1999, **67** : 195-200

FUKUNAGA K, TAKADA Y, TANIGUCHI H, YUZAWA K, OTSUKA M, et coll. Protecting the viability of hepatic allografts procured from non-heart-beating donors by blockade of endothelin and platelet activating factor in porcine liver transplantation. *Int Surg* 1998, **83** : 226-231

FULLER BJ. The effect of cooling on mammalian cells. In : Clinical applications of cryobiology. FULLER BJ (ed). Boca Raton, CRC press, 1991 : 1-22

FUNAKI H, SHIMIZU K, HARADA S, TSUYAMA H, FUSHIDA S, et coll. Essential role for nuclear factor kappaB in ischemic preconditioning for ischemia-reperfusion injury of the mouse liver. *Transplantation* 2002, **74** : 551-556

FUSAI G, DHALI WAL P, ROLANDO N, SABIN CA, PATCH D, et coll. Incidence and risk factors for the development of prolonged and severe intrahepatic cholestasis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1626-1633

GAO W, WASHINGTON MK, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Antiangiogenic agents protect liver sinusoidal lining cells from cold preservation injury in rat liver transplantation. *Gastroenterology* 1997, **113** : 1692-1700

GAO W, BENTLEY RC, MADDEN JF, CLAVIEN PA. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation. *Hepatology* 1998, **27** : 1652-1660

GARRIDO C, GURBUXANI S, RAVAGNAN L, KROEMER G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, **286** : 433-442

GASBARRINI A, BORLE AB, FARGHALI H, BENDER C, FRANCAVILLA A, VAN THIEL D. Effect of anoxia on intracellular ATP, Na⁺i, Ca²⁺i, Mg²⁺i, and cytotoxicity in rat hepatocytes. *J Biol Chem* 1992, **267** : 6654-6663

GAUTHIER TW, DAVENPECK KL, LEFER AM. Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selectin in splanchnic ischemia-reperfusion. *Am J Physiol* 1994, **267** : 562-568

GEUKEN E, BUIS CI, VISSER DS, BLOKZIJL H, MOSHAGE H, et coll. Expression of heme oxygenase-1 in human livers before transplantation correlates with graft injury and function after transplantation. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1875-1885

GLANEMANN M, VOLLMAR B, NUSSLER AK, SCHAEFER T, NEUHAUS P, MENGER MD. Ischemic preconditioning protects from hepatic ischemia/reperfusion-injury by preservation of microcirculation and mitochondrial redox-state. *J Hepatol* 2003, **38** : 59-66

GORES GJ, NIEMINEN AL, FLEISHMAN KE, DAWSON TL, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Extracellular acidosis delays onset of cell death in ATP-depleted hepatocytes. *Am J Physiol* 1988, **255** : 315-322

GORES GJ, NIEMINEN AL, WRAY BE, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Intracellular pH during "chemical hypoxia" in cultured rat hepatocytes. Protection by intracellular acidosis against the onset of cell death. *J Clin Invest* 1989, **83** : 386-396

GUJRAL JS, BUCCI TJ, FARHOOD A, JAESCHKE H. Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? *Hepatology* 2001, **33** : 397-405

GUJRAL JS, KNIGHT TR, FARHOOD A, BAJT ML, JAESCHKE H. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis? *Toxicol Sci* 2002, **67** : 322-328

HATA K, TOLBA RH, WEI L, BÜTTNER R, YAMAMOTO Y, MINOR T. Impact of polysol, a newly developed preservation solution, on cold storage of steatotic rat livers. *Liver Transpl* 2007, **13** : 114-121

HAWALESHKA A, JACOBSON E. Ischaemic preconditioning: mechanisms and potential clinical applications. *Can J Anaesth* 1998, **45** : 670-682

HERTL M, CHARTRAND PB, WEST DD, HARVEY PR, STRASBERG SM. The effects of hepatic preservation at 0 degrees C compared to 5 degrees C: influence of antiproteases and periodic flushing. *Cryobiology* 1994, **31** : 434-440

HERTL M, HARVEY PR, SWANSON PE, WEST DD, HOWARD TK, et coll. Evidence of preservation injury to bile ducts by bile salts in the pig and its prevention by infusions of hydrophilic bile salts. *Hepatology* 1995, **21** : 1130-1137

HETZ H, FAYBIK P, BERLAKOVICH G, BAKER A, BACHER A, et coll. Molecular adsorbent recirculating system in patients with early allograft dysfunction after liver transplantation: a pilot study. *Liver Transpl* 2006, **12** : 1357-1364

HIOKI O, MINEMURA M, SHIMIZU Y, KASII Y, NISHIMORI H, et coll. Expression and localization of basic fibroblast growth factor (bFGF) in the repair process of rat liver injury. *J Hepatol* 1996, **24** : 217-224

HOGLEN NC, ANSELMO DM, KATORI M, KALDAS M, SHEN XD, et coll. A caspase inhibitor, IDN-6556, ameliorates early hepatic injury in an ex vivo rat model of warm and cold ischemia. *Liver Transpl* 2007, **13** : 361-366

HOLLOWAY CM, HARVEY PR, STRASBERG SM. Viability of sinusoidal lining cells in cold-preserved rat liver allografts. *Transplantation* 1990, **49** : 225-229

HOLZMULLER P, WINKLMAYR E, RECKENDORFER H, SPERLICH M, MOSER E. Influence of warm ischemia on cold-stored, University of Wisconsin solution-protected rat liver: investigation by ¹H-nuclear magnetic resonance relaxometry. *Transplant Proc* 1993, **25** : 1902-1903

HOTTER G, CLOSA D, PRADOS M, FERNÁNDEZ-CRUZ L, PRATS N, et coll. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1996, **222** : 27-32

HOWELL JG, ZIBARI GB, BROWN MF, BURNEY DL, SAWAYA DE, et coll. Both ischemic and pharmacological preconditioning decrease hepatic leukocyte/endothelial cell interactions. *Transplantation* 2000, **69** : 300-303

HSU CM, WANG JS, LIU CH, CHEN LW. Kupffer cells protect liver from ischemia-reperfusion injury by an inducible nitric oxide synthase-dependent mechanism. *Shock* 2002, **17** : 280-285

HUGHES H, FARHOOD A, JAESCHKE H. Role of leukotriene B4 in the pathogenesis of hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1992, **45** : 113-119

HUOT J, HOULE F, SPITZ DR, LANDRY J. HSP27 phosphorylation-mediated resistance against actin fragmentation and cell death induced by oxidative stress. *Cancer Res* 1996, **56** : 273-279

HUR GM, RYU YS, YUN HY, JEON BH, KIM YM, et coll. Hepatic ischemia/reperfusion in rats induces iNOS gene transcription by activation of NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun* 1999, **261** : 917-922

IKEDA T, YANAGA K, KISHIKAWA K, KAKIZOE S, SHIMADA M, SUGIMACHI K. Ischemic injury in liver transplantation: difference in injury sites between warm and cold ischemia in rats. *Hepatology* 1992, **16** : 454-461

ITASAKA H, SUEHIRO T, WAKIYAMA S, YANAGA K, SHIMADA M, SUGIMACHI K. The mechanism of hepatic graft protection against reperfusion injury by prostaglandin E1. *Surg Today* 1999, **29** : 526-532

JACOBSSON J, SUNDBERG R, VALDIVIA LA, STARZL TE. Liver preservation with lidoflazine and the University of Wisconsin solution: a dose-finding study. *Transplantation* 1993, **56** : 472-475

JAESCHKE H. Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver. *Chem Biol Interact* 1991, **79** : 115-136

JAESCHKE H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2000, **15** : 718-724

JAESCHKE H. Xanthine oxidase-induced oxidant stress during hepatic ischemia-reperfusion: are we coming full circle after 20 years? *Hepatology* 2002a, **36** : 761-763

JAESCHKE H. Inflammation in response to hepatocellular apoptosis. *Hepatology* 2002b, **35** : 964-966

JAESCHKE H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003, **284** : 15-26

JAESCHKE H, FARHOOD A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol* 1991, **260** : 355-362

JAESCHKE H, LEMASTERS JJ. Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Gastroenterology* 2003, **125** : 1246-1257

JAESCHKE H, FARHOOD A, BAUTISTA AP, SPOLARICS Z, SPITZER JJ. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Am J Physiol* 1993a, **264** : 801-809

JAESCHKE H, FARHOOD A, BAUTISTA AP, SPOLARICS Z, SPITZER JJ, SMITH CW. Functional inactivation of neutrophils with a Mac-1 (CD11b/CD18) monoclonal antibody protects against ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Hepatology* 1993b, **17** : 915-923

JAESCHKE H, FARHOOD A, FISHER MA, SMITH CW. Sequestration of neutrophils in the hepatic vasculature during endotoxemia is independent of beta 2 integrins and intercellular adhesion molecule-1. *Shock* 1996, **6** : 351-356

JAESCHKE H, HO YS, FISHER MA, LAWSON JA, FARHOOD A. Glutathione peroxidase-deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: importance of an intracellular oxidant stress. *Hepatology* 1999, **29** : 443-450

JAMIESON RW, FRIEND PJ. Normothermic Organ Preservation. *Transplantation Review* 2006, **20** : 172-178

JASSEM W, KOO DD, CERUNDOLO L, RELA M, HEATON ND, FUGGLE SV. Leukocyte infiltration and inflammatory antigen expression in cadaveric and living-donor livers before transplant. *Transplantation* 2003, **75** : 2001-2007

JASSEM W, FUGGLE SV, CERUNDOLO L, HEATON ND, RELA M. Ischemic preconditioning of cadaver donor livers protects allografts following transplantation. *Transplantation* 2006, **81** : 169-174

KAIZU T, NAKAO A, TSUNG A, TOYOKAWA H, SAHAI R, et coll. Carbon monoxide inhalation ameliorates cold ischemia/reperfusion injury after rat liver transplantation. *Surgery* 2005, **138** : 229-235

KAIZU T, IKEDA A, NAKAO A, TSUNG A, TOYOKAWA H, et coll. Protection of transplant-induced hepatic ischemia/reperfusion injury with carbon monoxide via MEK/ERK1/2 pathway downregulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008, **294** : G236-G244

KALAYOGLU M, SOLLINGER HW, STRATTA RJ, D'ALESSANDRO AM, HOFFMANN RM, et coll. Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet* 1988, **1** : 617-619

KAMIKE W, BURDELSKI M, STEINHOFF G, RINGE B, LAUCHART W, PICHLMAYR R. Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transplantation* 1988, **45** : 138-143

KARAM G, COMPAGNON P, HOURMANT M, DESPINS P, DUVEAU D, et coll. A single solution for multiple organ procurement and preservation. *Transpl Int* 2005, **18** : 657-663

KATO Y, SHIMAZU M, KONDO M, UCHIDA K, KUMAMOTO Y, et coll. Bilirubin rinse: A simple protectant against the rat liver graft injury mimicking heme oxygenase-1 preconditioning. *Hepatology* 2003, **38** : 364-373

KATORI M, BUSUTTIL RW, KUPIEC-WEGLINSKI JW. Heme oxygenase-1 system in organ transplantation. *Transplantation* 2002, **74** : 905-912

KAWAMOTO S, INOUE M, TASHIRO S, MORINO Y, MIYAUCHI Y. Inhibition of ischemia and reflow-induced liver injury by an SOD derivative that circulates bound to albumin. *Arch Biochem Biophys* 1990, **277** : 160-165

KE B, SHEN XD, GAO F, BUSUTTIL RW, KUPIEC-WEGLINSKI JW. Interleukin 13 gene transfer in liver ischemia and reperfusion injury: role of Stat6 and TLR4 pathways in cytoprotection. *Hum Gene Ther* 2004, **15** : 691-698

KENNEDY EM, WOOD RP, SHAW BW, JR. Primary nonfunction. Is there a contribution from the back table bath? *Transplantation* 1990, **49** : 739-743

KERR JF, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972, **26** : 239-257

KIEMER AK, VOLLMAR AM, BILZER M, GERWIG T, GERBES AL. Atrial natriuretic peptide reduces expression of TNF-alpha mRNA during reperfusion of the rat liver upon decreased activation of NF-kappaB and AP-1. *J Hepatol* 2000, **33** : 236-246

KIM JS, SOUTHARD JH. Alteration in cellular calcium and mitochondrial functions in the rat liver during cold preservation. *Transplantation* 1998, **65** : 369-375

KIM JS, BOUDJEMA K, D'ALESSANDRO A, SOUTHARD JH. Machine perfusion of the liver: maintenance of mitochondrial function after 48-hour preservation. *Transplant Proc* 1997, **29** : 3452-3454

KIM JS, QIAN T, LEMASTERS JJ. Mitochondrial permeability transition in the switch from necrotic to apoptotic cell death in ischemic rat hepatocytes. *Gastroenterology* 2003, **124** : 494-503

KIM SK, BELZER FO, SOUTHARD JH. Loss of mitochondrial respiratory function and its suppression during cold ischemic preservation of rat livers with University of Wisconsin solution. *Hepatology* 1992, **16** : 742-748

KIM YI, HWANG YJ, SONG KE, YUN YK, LEE JW, CHUN BY. Hepatocyte protection by a protease inhibitor against ischemia/reperfusion injury of human liver. *J Am Coll Surg* 2002, **195** : 41-50

KIMURA H, KATSURAMAKI T, ISOBE M, NAGAYAMA M, MEGURO M, et coll. Role of inducible nitric oxide synthase in pig liver transplantation. *J Surg Res* 2003, **111** : 28-37

KLEIN M, GEOGHEGAN J, WANGEMANN R, BOCKLER D, SCHMIDT K, SCHEELE J. Preconditioning of donor livers with prostaglandin I2 before retrieval decreases hepatocellular ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 1999, **67** : 1128-1132

KOHLI V, GAO W, CAMARGO CA, JR., CLAVIEN PA. Calpain is a mediator of preservation-reperfusion injury in rat liver transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, **94** : 9354-9359

KOHLI V, SELZNER M, MADDEN JF, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver. *Transplantation* 1999, **67** : 1099-1105

KONERU B, FISHER A, HE Y, KLEIN KM, SKURNICK J, et coll. Ischemic preconditioning in deceased donor liver transplantation: a prospective randomized clinical trial of safety and efficacy. *Liver Transpl* 2005, **11** : 196-202

KOO DD, WELSH KI, MCLAREN AJ, ROAKE JA, MORRIS PJ, FUGGLE SV. Cadaver versus living donor kidneys: impact of donor factors on antigen induction before transplantation. *Kidney Int* 1999, **56** : 1551-1559

KOTI RS, SEIFALIAN AM, MCBRIDE AG, YANG W, DAVIDSON BR. The relationship of hepatic tissue oxygenation with nitric oxide metabolism in ischemic preconditioning of the liver. *FASEB J* 2002, **16** : 1654-1656

KUME M, YAMAMOTO Y, SAAD S, IWASAKI W, UCHINAMI H, et coll. Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 1996, **128** : 251-258

LAND WG. The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 505-514

LANG F, BUSCH GL, GULBINS E. Physiology of cell survival and cell death: implications for organ conservation. *Nephrol Dial Transplant* 1995, **10** : 1551-1555

LANIR A, JENKINS RL, CALDWELL C, LEE RG, KHETTRY U, CLOUSE ME. Hepatic transplantation survival: correlation with adenine nucleotide level in donor liver. *Hepatology* 1988, **8** : 471-475

LE MOINE O, DEVIÈRE J, GOLDMAN M. The inflammatory cascade of liver ischemia and reperfusion: from the donor to the recipient. In : *Organ Allocation*. TOURAINE JL (ed). 1998 : 181-208

LE MOINE O, LOUIS H, DEMOLS A, DESALLE F, DEMOOR F, et coll. Cold liver ischemia-reperfusion injury critically depends on liver T cells and is improved by donor pretreatment with interleukin 10 in mice. *Hepatology* 2000, **31** : 1266-1274

LEE CY, JAIN S, DUNCAN HM, ZHANG JX, JONES JW JR, et coll. Survival transplantation of preserved non-heart-beating donor rat livers: preservation by hypothermic machine perfusion. *Transplantation* 2003, **76** : 1432-1436

LEIST M, GANTNER F, BOHLINGER I, GERMANN PG, TIEGS G, WENDEL A. Murine hepatocyte apoptosis induced in vitro and in vivo by TNF-alpha requires transcriptional arrest. *J Immunol* 1994, **153** : 1778-1788

LEMASTERS JJ, THURMAN RG. Reperfusion injury after liver preservation for transplantation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997, **37** : 327-338

LEMASTERS JJ, DIGUISEPPI J, NIEMINEN AL, HERMAN B. Blebbing, free Ca²⁺ and mitochondrial membrane potential preceding cell death in hepatocytes. *Nature* 1987, **325** : 78-81

LEMASTERS JJ, NIEMINEN AL, QIAN T, TROST LC, ELMORE SP, et coll. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 1998, **1366** : 177-196

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, CHEADLE WG, MILLER FN, EDWARDS MJ. Chemokine involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: roles for macrophage inflammatory protein-2 and KC. *Hepatology* 1998a, **27** : 1172-1177

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, CHEADLE WG, MILLER FN, EDWARDS MJ. Chemokine involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: roles for macrophage inflammatory protein-2 and Kupffer cells. *Hepatology* 1998b, **27** : 507-512

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, KATO A, WARNER RL, CHEADLE WG, et coll. Requirement for interleukin-12 in the pathogenesis of warm hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Hepatology* 1999a, **30** : 1448-1453

LENTSCH AB, YOSHIDOME H, WARNER RL, WARD PA, EDWARDS MJ. Secretory leukocyte protease inhibitor in mice regulates local and remote organ inflammatory injury induced by hepatic ischemia/reperfusion. *Gastroenterology* 1999b, **117** : 953-961

LENTSCH AB, KATO A, YOSHIDOME H, MCMASTERS KM, EDWARDS MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000, **32** : 169-173

LI XK, MATIN AF, SUZUKI H, UNO T, YAMAGUCHI T, HARADA Y. Effect of protease inhibitor on ischemia/reperfusion injury of the rat liver. *Transplantation* 1993, **56** : 1331-1336

LIN H, YAMAMOTO Y, OKAMOTO R, UEDA J, YAMAMOTO S, et coll. Hepatic functional difference between brain death hypotension and hypovolemic hypotension in liver donation. *Transplant Proc* 1989a, **21** : 2389-2391

LIN H, OKAMOTO R, YAMAMOTO Y, MAKI A, UEDA J, et coll. Hepatic tolerance to hypotension as assessed by the changes in arterial ketone body ratio in the state of brain death. *Transplantation* 1989b, **47** : 444-448

LIU H, LO CR, CZAJA MJ. NF-kappaB inhibition sensitizes hepatocytes to TNF-induced apoptosis through a sustained activation of JNK and c-Jun. *Hepatology* 2002, **35** : 772-778

LLORIS-CARSI JM, CEJALVO D, TOLEDO-PEREYRA LH, CALVO MA, SUZUKI S. Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia. *Transplant Proc* 1993, **25** : 3303-3304

LUSTER AD. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998, **338** : 436-445

MAEDA T, MURASE N, SUBBOTIN V, SAKAMOTO T, YAMADA T, et coll. Analogs of cyclic nucleotides in rat liver preservation. *Transplantation* 1998, **66** : 844-851

MANDELBAUM I, BERRY J, SILBERT M, BURNS WH, ROTHE C. Regional blood flow during pulsatile and nonpulsatile perfusion. *Arch Surg* 1965, **91** : 771-774

MANEKELLER S, MINOR T. Possibility of conditioning predamaged grafts after cold storage: influences of oxygen and nutritive stimulation. *Transpl Int* 2006, **19** : 667-674

MARTIKAINEN P, KYPRIANOU N, TUCKER RW, ISAACS JT. Programmed death of non-proliferating androgen-independent prostatic cancer cells. *Cancer Res* 1991, **51** : 4693-4700

MARTIN DR, SCOTT DF, DOWNES GL, BELZER FO. Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: cold sensitivity of the ATPase system. *Ann Surg* 1972, **175** : 111-117

MATSUDA T, YAMAGUCHI Y, MATSUMURA F, AKIZUKI E, OKABE K, et coll. Immunosuppressants decrease neutrophil chemoattractant and attenuate ischemia/reperfusion injury of the liver in rats. *J Trauma* 1998, **44** : 475-484

MATSUMOTO K, HONDA K, KOBAYASHI N. Protective effect of heat preconditioning of rat liver graft resulting in improved transplant survival. *Transplantation* 2001, **71** : 862-868

MATSUMOTO T, O'MALLEY K, EFRON PA, BURGER C, MCAULIFFE PF, et coll. Interleukin-6 and STAT3 protect the liver from hepatic ischemia and reperfusion injury during ischemic preconditioning. *Surgery* 2006, **140** : 793-802

MCANULTY JF, REID TW, WALLER KR, MURPHY CJ. Successful six-day kidney preservation using trophic factor supplemented media and simple cold storage. *Am J Transplant* 2002, **2** : 712-718

MCCUSKEY RS. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. *Liver* 2000, **20** : 3-7

MCKEOWN CM, EDWARDS V, PHILLIPS MJ, HARVEY PR, PETRUNKA CN, STRASBERG SM. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988, **46** : 178-191

MCNALLY SJ, HARRISON EM, ROSS JA, GARDEN OJ, WIGMORE SJ. Curcumin induces heme oxygenase-1 in hepatocytes and is protective in simulated cold preservation and warm reperfusion injury. *Transplantation* 2006, **81** : 623-626

MENASCHE P, PIWNICA A. Free radicals and myocardial protection: a surgical viewpoint. *Ann Thorac Surg* 1989, **47** : 939-945

MENASCHE P, TERMIGNON JL, PRADIER F, GROUSSET C, MOUAS C, et coll. Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg* 1994, **8** : 207-213

MERTES PM. Physiology of brain death. In : Transplantation biology: cellular and molecular aspects. TILNEY N, STROM T, PAUL L (eds). Philadelphia, Raven, 1996 : 275

MOCHIDA S, ARAI M, OHNO A, MASAKI N, OGATA I, FUJIWARA K. Oxidative stress in hepatocytes and stimulatory state of Kupffer cells after reperfusion differ between warm and cold ischemia in rats. *Liver* 1994, **14** : 234-240

MORGAN GR, SANABRIA JR, CLAVIEN PA, PHILLIPS MJ, EDWARDS C, et coll. Correlation of donor nutritional status with sinusoidal lining cell viability and liver function in the rat. *Transplantation* 1991, **51** : 1176-1183

MOTOYAMA S, MINAMIYA Y, SAITO S, SAITO R, MATSUZAKI I, et coll. Hydrogen peroxide derived from hepatocytes induces sinusoidal endothelial cell apoptosis in perfused hypoxic rat liver. *Gastroenterology* 1998, **114** : 153-163

MURRY CE, JENNINGS RB, REIMER KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986, **74** : 1124-1136

NAGENDRA AR, MICKELSON JK, SMITH CW. CD18 integrin and CD54-dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated human hepatocytes. *Am J Physiol* 1997, **272** : 408-416

NAKANO H, BOUDJEMA K, ALEXANDRE E, IMBS P, CHENARD MP, et coll. Protective effects of N-acetylcysteine on hypothermic ischemia-reperfusion injury of rat liver. *Hepatology* 1995, **22** : 539-545

NAKANO H, NAGASAKI H, BARAMA A, BOUDJEMA K, JAECK D, et coll. The effects of N-acetylcysteine and anti-intercellular adhesion molecule-1 monoclonal antibody against ischemia-reperfusion injury of the rat steatotic liver produced by a choline-methionine-deficient diet. *Hepatology* 1997, **26** : 670-678

NAKAYAMA H, YAMAMOTO Y, KUME M, YAMAGAMI K, YAMAMOTO H, et coll. Pharmacologic stimulation of adenosine A2 receptor supplants ischemic preconditioning in providing ischemic tolerance in rat livers. *Surgery* 1999, **126** : 945-954

NATORI S, FUJII Y, KUROSAWA H, NAKANO A, SHIMADA H. Prostaglandin E1 protects against ischemia-reperfusion injury of the liver by inhibition of neutrophil adherence to endothelial cells. *Transplantation* 1997, **64** : 1514-1520

NATORI S, SELZNER M, VALENTINO KL, FRITZ LC, SRINIVASAN A, et coll. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells occurs during liver preservation injury by a caspase-dependent mechanism. *Transplantation* 1999, **68** : 89-96

NET M, VALERO R, ALMENARA R, BARROS P, CAPDEVILA L, et coll. The effect of normothermic recirculation is mediated by ischemic preconditioning in NHBD liver transplantation. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2385-2392

NIEMANN CU, HIROSE R, LIU T, BEHREND M, BROWN JL, et coll. Ischemic preconditioning improves energy state and transplantation survival in obese Zucker rat livers. *Anesth Analg* 2005, **101** : 1577-1583

NIEMINEN AL, BYRNE AM, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Mitochondrial permeability transition in hepatocytes induced by t-BuOOH: NAD(P)H and reactive oxygen species. *Am J Physiol* 1997, **272** : 1286-1294

NIEMINEN AL, GORES GJ, WRAY BE, TANAKA Y, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Cell Calcium* 1988, **9** : 237-246

NILSSON B, FRIMAN S, GUSTAFSSON BI, DELBRO DS. Preconditioning protects against ischemia/reperfusion injury of the liver. *J Gastrointest Surg* 2000, **4** : 44-49

NOACK K, BRONK SF, KATO A, GORES GJ. The greater vulnerability of bile duct cells to reoxygenation injury than to anoxia. Implications for the pathogenesis of biliary strictures after liver transplantation. *Transplantation* 1993, **56** : 495-500

NOHL H, GILLE L, KOZLOV A, STANIEK K. Are mitochondria a spontaneous and permanent source of reactive oxygen species? *Redox Rep* 2003, **8** : 135-141

NUNES FA, KUMAR C, CHANCE B, BRASS CA. Chemiluminescent measurement of increased free radical formation after ischemia/reperfusion. Mechanisms of free radical formation in the liver. *Dig Dis Sci* 1995, **40** : 1045-1053

OGASAWARA J, WATANABE-FUKUNAGA R, ADACHI M, MATSUZAWA A, KASUGAI T, et coll. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 1993, **364** : 806-809

OH CK, SAWYER RG, PELLETIER SJ, PRUETT TL, SANFEY HA. Independent predictors for primary non-function after liver transplantation. *Yonsei Med J* 2004, **45** : 1155-1161

OHKOHCHI N, ENDOH T, OIKAWA K, SEYA K, SATOMI S. Fragility of the electron transport chain and superoxide generation in mitochondria of the liver graft after cold ischemia. *Transplantation* 1999, **67** : 1173-1177

OKAMOTO S, CORSO CO, NOLTE D, RASCHER W, THIERY J, et coll. Impact of brain death on hormonal homeostasis and hepatic microcirculation of transplant organ donors. *Transpl Int* 1998, **11** (suppl 1) : 404-407

OKAMOTO S, CORSO CO, KONDO T, LEIDERER R, RASCHER W, et coll. Changes in hepatic microcirculation and histomorphology in brain-dead organ donors: an experimental study in rats. *Eur J Surg* 1999, **165** : 759-766

OKUAKI Y, MIYAZAKI H, ZENIYA M, ISHIKAWA T, OHKAWA Y, et coll. Splenectomy-reduced hepatic injury induced by ischemia/reperfusion in the rat. *Liver* 1996, **16** : 188-194

OLLINGER R, WANG H, YAMASHITA K, WEGIEL B, THOMAS M, et coll. Therapeutic applications of bilirubin and biliverdin in transplantation. *Antioxid Redox Signal* 2007, **9** : 2175-2185

OTTO G, WOLFF H, DAVID H. Preservation damage in liver transplantation: electron-microscopic findings. *Transplant Proc* 1984, **16** : 1247-1248

PAHAN K, SMITH BT, SINGH AK, SINGH I. Cytochrome P-450 2E1 in rat liver peroxisomes: downregulation by ischemia/reperfusion-induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1997, **23** : 963-971

PANNEN BH. New insights into the regulation of hepatic blood flow after ischemia and reperfusion. *Anesth Analg* 2002, **94** : 1448-1457

PERALTA C, CLOSA D, HOTTER G, GELPI E, PRATS N, ROSELLO-CATAFAU J. Liver ischemic preconditioning is mediated by the inhibitory action of nitric oxide on endothelin. *Biochem Biophys Res Commun* 1996, **229** : 264-270

PERALTA C, HOTTER G, CLOSA D, PRATS N, XAUS C, et coll. The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors. *Hepatology* 1999, **29** : 126-132

PERALTA C, BARTRONS R, RIERA L, MANZANO A, XAUS C, et coll. Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000a, **279** : 163-171

PERALTA C, BULBENA O, BARGALLO R, PRATS N, GELPI E, ROSELLO-CATAFAU J. Strategies to modulate the deleterious effects of endothelin in hepatic ischemia-reperfusion. *Transplantation* 2000b, **70** : 1761-1770

PERALTA C, RULL R, RIMOLA A, DEULOFEU R, ROSELLÓ-CATAFAU J, et coll. Endogenous nitric oxide and exogenous nitric oxide supplementation in hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Transplantation* 2001, **71** : 529-536

PERALTA C, BULBENA O, XAUS C, PRATS N, CUTRIN JC, et coll. Ischemic preconditioning: a defense mechanism against the reactive oxygen species generated after hepatic ischemia reperfusion. *Transplantation* 2002, **73** : 1203-1211

PIENAAR BH, LINDELL SL, VAN GULIK T, SOUTHARD JH, BELZER FO. Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion. *Transplantation* 1990, **49** : 258-260

PLOEG RJ, VAN BOCKEL JH, LANGENDIJK PT, GROENEWEGEN M, VAN DER WOUDE FJ, et coll. Effect of preservation solution on results of cadaveric kidney transplantation. The European Multicentre Study Group. *Lancet* 1992, **340** : 129-137

PLOEG RJ, D'ALESSANDRO AM, KNECHTLE SJ, STEGALL MD, PIRSCH JD, et coll. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation—a multivariate analysis. *Transplantation* 1993, **55** : 807-813

POLLA BS, STUBBE H, KANTENGWA S, MARIDONNEAU-PARINI I, JACQUIER-SARLIN MR. Differential induction of stress proteins and functional effects of heat shock in human phagocytes. *Inflammation* 1995, **19** : 363-378

POLLA BS, KANTENGWA S, FRANCOIS D, SALVIOLI S, FRANCESCHI C, et coll. Mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, **93** : 6458-6463

PORTE RJ, PLOEG RJ, HANSEN B, VAN BOCKEL JH, THOROGOOD J, et coll. Long-term graft survival after liver transplantation in the UW era: late effects of cold ischemia and primary dysfunction. European Multicentre Study Group. *Transpl Int* 1998, **11** (suppl 1) : S164-S167

PRATSCHKE J, WILHELM MJ, KUSAKA M, BEATO F, MILFORD EL, et coll. Accelerated rejection of renal allografts from brain-dead donors. *Ann Surg* 2000, **232** : 263-271

PRATSCHKE J, NEUHAUS P, TULLIUS SG. What can be learned from brain-death models? *Transpl Int* 2005, **18** : 15-21

PRUZANSKI W, VADAS P. Phospholipase A2—a mediator between proximal and distal effectors of inflammation. *Immunol Today* 1991, **12** : 143-146

QIAN T, NIEMINEN AL, HERMAN B, LEMASTERS JJ. Mitochondrial permeability transition in pH-dependent reperfusion injury to rat hepatocytes. *Am J Physiol* 1997, **273** : 1783-1792

QING DK, DONG JH, HAN BL, CHEN XR. Cold preservation of pig liver grafts with warm ischemia and pentoxifylline-UW solution. *Arch Med Res* 2006, **37** : 449-455

REDAELLI CA, TIAN YH, SCHAFFNER T, LEDERMANN M, BAER HU, DUFOUR JF. Extended preservation of rat liver graft by induction of heme oxygenase-1. *Hepatology* 2002, **35** : 1082-1092

REDDY SP, BHATTACHARJYA S, MANIAKIN N, GREENWOOD J, GUERREIRO D, et coll. Preservation of porcine non-heart-beating donor livers by sequential cold storage and warm perfusion. *Transplantation* 2004, **77** : 1328-1332

RENTSCH M, KIENLE K, MUELLER T, VOGEL M, JAUCH KW, et coll. Adenoviral bcl-2 transfer improves survival and early graft function after ischemia and reperfusion in rat liver transplantation. *Transplantation* 2005, **80** : 1461-1467

RICHTER C, SCHWEIZER M, COSSARIZZA A, FRANCESCHI C. Control of apoptosis by the cellular ATP level. *FEBS Lett* 1996, **378** : 107-110

RODRIGUEZ JV, GUIBERT EE, QUINTANA A, SCANDIZZI A, ALMADA L. Role of sodium nitroprusside in the improvement of rat liver preservation in University of Wisconsin solution: A study in the isolated perfused liver model. *J Surg Res* 1999, **87** : 201-208

ROSEN HR, MARTIN P, GOSS J, DONOVAN J, MELINEK J, et coll. Significance of early aminotransferase elevation after liver transplantation. *Transplantation* 1998, **65** : 68-72

RUBBO H, DARLEY-USMAR V, FREEMAN BA. Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. *Chem Res Toxicol* 1996, **9** : 809-820

RUOSLAHTI E. RGD and other recognition sequences for integrins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1996, **12** : 697-715

SANCHEZ-URDAZPAL L, GORES GJ, WARD EM, MAUS TP, WAHLSTROM HE, et coll. Ischemic-type biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1992, **16** : 49-53

SANCHEZ-URDAZPAL L, GORES GJ, WARD EM, MAUS TP, BUCKEL EG, et coll. Diagnostic features and clinical outcome of ischemic-type biliary complications after liver transplantation. *Hepatology* 1993, **17** : 605-609

SAWAYA DE, JR., ZIBARI GB, MINARDI A, BILTON B, BURNEY D, et coll. P-selectin contributes to the initial recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion. *Shock* 1999, **12** : 227-232

SCAFFIDI C, FULDA S, SRINIVASAN A, FRIESEN C, LI F, et coll. Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. *Embo J* 1998, **17** : 1675-1687

SCHEMMER P, SCHOONHOVEN R, SWENBERG JA, BUNZENDAHL H, THURMAN RG. Gentle in situ liver manipulation during organ harvest decreases survival after rat liver transplantation: role of Kupffer cells. *Transplantation* 1998, **65** : 1015-1020

SCHÖN MR, KOLLMAR O, AKKOC N, MATTHES M, WOLF S, et coll. Cold ischemia affects sinusoidal endothelial cells while warm ischemia affects hepatocytes in liver transplantation. *Transplant Proc* 1998, **30** : 2318-2320

SCHÖN MR, KOLLMAR O, WOLF S, SCHREM H, MATTHES M, et coll. Liver transplantation after organ preservation with normothermic extracorporeal perfusion. *Ann Surg* 2001, **233** : 114-123

SCHULTZ RM, MARDER P, SPAETHE SM, HERRON DK, SOFIA MJ. Effects of two leukotriene B4 (LTB4) receptor antagonists (LY255283 and SC-41930) on LTB4-induced human neutrophil adhesion and superoxide production. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1991, **43** : 267-271

SCHULZ R, WALZ MK, BEHREND S, NEUMANN T, GERKEN G, HEUSCH G. Minimal protection of the liver by ischemic preconditioning in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001, **280** : 198-207

SCOAZEC JY, BORGHI-SCOAZEC G, DURAND F, BERNUAU J, PHAM BN, et coll. Complement activation after ischemia-reperfusion in human liver allografts: incidence and pathophysiological relevance. *Gastroenterology* 1997, **112** : 908-918

SELZNER N, RUDIGER H, GRAF R, CLAVIEN PA. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 2003, **125** : 917-936

SERKOVA NJ, ZHANG Y, COATNEY JL, HUNTER L, WACHS ME, et coll. Early detection of graft failure using the blood metabolic profile of a liver recipient. *Transplantation* 2007, **83** : 517-521

SHAPPELL SB, TOMAN C, ANDERSON DC, TAYLOR AA, ENTMAN ML, SMITH CW. Mac-1 (CD11b/CD18) mediates adherence-dependent hydrogen peroxide production by human and canine neutrophils. *J Immunol* 1990, **144** : 2702-2711

SHEN XD, KE B, ZHAI Y, AMERSI F, GAO F, et coll. CD154-CD40 T-cell costimulation pathway is required in the mechanism of hepatic ischemia/reperfusion injury, and its blockade facilitates and depends on heme oxygenase-1 mediated cytoprotection. *Transplantation* 2002, **74** : 315-319

SHITO M, WAKABAYASHI G, UEDA M, SHIMAZU M, SHIRASUGI N, et coll. Interleukin 1 receptor blockade reduces tumor necrosis factor production, tissue injury, and mortality after hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Transplantation* 1997, **63** : 143-148

SINDRAM D, PORTE RJ, HOFFMAN MR, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Platelets induce sinusoidal endothelial cell apoptosis upon reperfusion of the cold ischemic rat liver. *Gastroenterology* 2000, **118** : 183-191

SINDRAM D, PORTE RJ, HOFFMAN MR, BENTLEY RC, CLAVIEN PA. Synergism between platelets and leukocytes in inducing endothelial cell apoptosis in the cold ischemic rat liver: a Kupffer cell-mediated injury. *Faseb J* 2001, **15** : 1230-1232

SOUTHARD JH, BELZER FO. The University of Wisconsin organ preservation solution: components, comparisons, and modifications. *Transplantation Review* 1993, **7** : 176-190

SOUTHARD JH, VAN GULIK TM, AMETANI MS, VREUGDENHIL PK, LINDELL SL, et coll. Important components of the UW solution. *Transplantation* 1990, **49** : 251-257

SQUIER MK, MILLER AC, MALKINSON AM, COHEN JJ. Calpain activation in apoptosis. *J Cell Physiol* 1994, **159** : 229-237

ST PETER SD, IMBER CJ, FRIEND PJ. Liver and kidney preservation by perfusion. *Lancet* 2002, **359** : 604-613

STRAATSBURG IH, BOERMEESTER MA, WOLBINK GJ, VAN GULIK TM, GOUMA DJ, et coll. Complement activation induced by ischemia-reperfusion in humans: a study in patients undergoing partial hepatectomy. *J Hepatol* 2000, **32** : 783-791

STUDER RK, BORLE AB. Na(+)-Ca²⁺ antiporter activity of rat hepatocytes. Effect of adrenalectomy on Ca²⁺ uptake and release from plasma membrane vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1992, **1134** : 7-16

SUMIMOTO R, JAMIESON NV, KOBAYASHI T, FUKUDA Y, DOHI K, KAMADA N. The need for glutathione and allopurinol in HL solution for rat liver preservation. *Transplantation* 1991, **52** : 565-567

SUMIMOTO R, SOUTHARD JH, BELZER FO. Livers from fasted rats acquire resistance to warm and cold ischemia injury. *Transplantation* 1993, **55** : 728-732

SUZUKI S, TOLEDO-PEREYRA LH. Interleukin 1 and tumor necrosis factor production as the initial stimulants of liver ischemia and reperfusion injury. *J Surg Res* 1994, **57** : 253-258

SUZUKI S, TOLEDO-PEREYRA LH, RODRIGUEZ FJ, CEJALVO D. Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine. *Transplantation* 1993, **55** : 1265-1272

SZABO C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett* 2003, **140-141** : 105-112

TAKADA M, NADEAU KC, HANCOCK WW, MACKENZIE HS, SHAW GD, et coll. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation* 1998, **65** : 1533-1542

TAKEI Y, MARZI I, KAUFFMAN FC, CURRIN RT, LEMASTERS JJ, THURMAN RG. Increase in survival time of liver transplants by protease inhibitors and a calcium channel blocker, nisoldipine. *Transplantation* 1990, **50** : 14-20

TAUB R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004, **5** : 836-847

TIAN YH, SCHAFFER T, SCKELL A, SCHILLING MK. Adenosine deaminase inhibition attenuates reperfusion low flow and improves graft survival after rat liver transplantation. *Transplantation* 2000, **69** : 2277-2281

TODO S, HAMADA N, ZHU Y, ZHANG S, SUBBOTIN V, et coll. Lazaroid U-74389G for 48-hour canine liver preservation. *Transplantation* 1996, **61** : 189-194

TODOROKI N, WATANABE Y, AKAIKE T, KATAGIRI Y, TANOUE K, et coll. Enhancement by IL-1 beta and IFN-gamma of platelet activation: adhesion to leukocytes via GMP-140/PADGEM protein (CD62). *Biochem Biophys Res Commun* 1991, **179** : 756-761

TOKUNAGA Y, WICOMB WN, GARCIA-KENNEDY R, ESQUIVEL CO, COLLINS GM. The immunosuppressive effect of polyethylene glycol in a flush solution for rat liver transplantation. *Transplantation* 1992, **54** : 756-758

TOOSY N, MCMORRIS EL, GRACE PA, MATHIE RT. Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury. *BJU Int* 1999, **84** : 489-494

TOTSUKA E, TODO S, ZHU Y, ISHIZAKI N, KAWASHIMA Y, et coll. Attenuation of ischemic liver injury by prostaglandin E1 analogue, misoprostol, and prostaglandin I2 analogue, OP-41483. *J Am Coll Surg* 1998, **187** : 276-286

TOTSUKA E, FUNG JJ, URAKAMI A, MORAS N, ISHII T, et coll. Influence of donor cardiopulmonary arrest in human liver transplantation: possible role of ischemic preconditioning. *Hepatology* 2000, **31** : 577-580

TSUKADA T, EGUCHI K, MIGITA K, KAWABE Y, KAWAKAMI A, et coll. Transforming growth factor beta 1 induces apoptotic cell death in cultured human umbilical vein endothelial cells with down-regulated expression of bcl-2. *Biochem Biophys Res Commun* 1995, **210** : 1076-1082

UEMURA T, RANDALL HB, SANCHEZ EQ, IKEGAMI T, NARASIMHAN G, et coll. Liver retransplantation for primary nonfunction: analysis of a 20-year single-center experience. *Liver Transpl* 2007, **13** : 227-233

UPADHYA AG, HARVEY RP, HOWARD TK, LOWELL JA, SHENOY S, STRASBERG SM. Evidence of a role for matrix metalloproteinases in cold preservation injury of the liver in humans and in the rat. *Hepatology* 1997, **26** : 922-928

URATA K, BRAULT A, ROCHELEAU B, HUET PM. Role of Kupffer cells in the survival after rat liver transplantation with long portal vein clamping times. *Transpl Int* 2000, **13** : 420-427

VAIRETTI M, FERRIGNO A, BERTONE R, RIZZO V, RICHELMI P, et coll. Exogenous melatonin enhances bile flow and ATP levels after cold storage and reperfusion in rat liver: implications for liver transplantation. *J Pineal Res* 2005, **38** : 223-230

VAJDOVA K, GRAF R, CLAVIEN PA. ATP-supplies in the cold-preserved liver: A long-neglected factor of organ viability. *Hepatology* 2002, **36** : 1543-1552

VALERO R, GARCIA-VALDECASAS JC, TABEL J, TAURÁ P, RULL R, et coll. Hepatic blood flow and oxygen extraction ratio during normothermic recirculation and total body cooling as viability predictors in non-heart-beating donor pigs. *Transplantation* 1998, **66** : 170-176

VALERO R, GARCIA-VALDECASAS JC, NET M, BELTRAN J, ORDI J, et coll. L-arginine reduces liver and biliary tract damage after liver transplantation from non-heart-beating donor pigs. *Transplantation* 2000, **70** : 730-737

VAN DER HOEVEN JA, PLOEG RJ, POSTEMA F, MOLEMA I, DE VOS P, et coll. Induction of organ dysfunction and up-regulation of inflammatory markers in the liver and kidneys of hypotensive brain dead rats: a model to study marginal organ donors. *Transplantation* 1999, **68** : 1884-1890

VAN DER HOEVEN JA, TER HORST GJ, MOLEMA G, DE VOS P, GIRBES AR, et coll. Effects of brain death and hemodynamic status on function and immunologic activation of the potential donor liver in the rat. *Ann Surg* 2000a, **232** : 804-813

VAN DER HOEVEN JA, LINDELL SL, SOUTHARD JH, PLOEG RJ. Increased primary non-function and decreased survival due to brain death induced promotion of ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. *Tranplantation* 2000b, **69** : S128

VAN DER PLAATS A, T HART NA, VERKERKE GJ, LEUVENINK HG, PLOEG RJ, RAKHORST G. Hypothermic machine preservation in liver transplantation revisited: concepts and criteria in the new millennium. *Ann Biomed Eng* 2004, **32** : 623-631

VAROTTI G, GRAZI GL, VETRONE G, ERCOLANI G, CESCONE M, et coll. Causes of early acute graft failure after liver transplantation: analysis of a 17-year single-centre experience. *Clin Transplant* 2005, **19** : 492-500

VASQUEZ-VIVAR J, KALYANARAMAN B, MARTASEK P, HOGG N, MASTERS BS, et coll. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, **95** : 9220-9225

VOLLMAR B, GLASZ J, MENGER MD, MESSMER K. Leukocytes contribute to hepatic ischemia/reperfusion injury via intercellular adhesion molecule-1-mediated venular adherence. *Surgery* 1995, **117** : 195-200

WANG X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 2001, **15** : 2922-2933

WANG XH, WANG K, ZHANG F, LI XC, LI J, et coll. Heme oxygenase-1 alleviates ischemia/reperfusion injury in aged liver. *World J Gastroenterol* 2005, **11** : 690-694

WATT KD. Abnormal liver enzymes 2-3 months after liver transplantation in a patient with hepatitis C: Report of a case. *Liver Transpl* 2006, **12** : S29-S31

WATTIAUX R, WATTIAUX-DE CONINCK S. Effects of ischemia on lysosomes. *Int Rev Exp Pathol* 1984, **26** : 85-106

WEISS SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989, **320** : 365-376

WILHELM MJ, PRATSCHKE J, LASKOWSKI IA, PAZ DM, TILNEY NL. Brain death and its impact on the donor heart-lessons from animal models. *J Heart Lung Transplant* 2000, **19** : 414-418

WINWOOD PJ, SCHUPPAN D, IREDALE JP, KAWSER CA, DOCHERTY AJ, ARTHUR MJ. Kupffer cell-derived 95-kd type IV collagenase/gelatinase B: characterization and expression in cultured cells. *Hepatology* 1995, **22** : 304-315

WU G, TOMEI LD, BATHURST IC, ZHANG F, HONG CB, et coll. Antiapoptotic compound to enhance hypothermic liver preservation. *Transplantation* 1997, **63** : 803-809

XU HS, STEVENSON WC, PRUETT TL, JONES RS. Donor lazaroïd pretreatment improves viability of livers harvested from non-heart-beating rats. *Am J Surg* 1996, **171** : 113-116

YABE Y, KOBAYASHI N, NISHIHASHI T, TAKAHASHI R, NISHIKAWA M, et coll. Prevention of neutrophil-mediated hepatic ischemia/reperfusion injury by superoxide dismutase and catalase derivatives. *J Pharmacol Exp Ther* 2001, **298** : 894-899

YADAV SS, SINDRAM D, PERRY DK, CLAVIEN PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology* 1999, **30** : 1223-1231

YAMAOKA Y, TAKI Y, GUBERNATIS G, NAKATANI T, OKAMOTO R, et coll. Evaluation of the liver graft before procurement. Significance of arterial ketone body ratio in brain-dead patients. *Transpl Int* 1990, **3** : 78-81

YAMAOKA Y, WASHIDA M, MANAKA D, GUBERNATIS G, RINGE B, et coll. Arterial ketone body ratio as a predictor of donor liver viability in human liver transplantation. *Transplantation* 1993, **55** : 92-95

YIN DP, SANKARY HN, CHONG AS, MA LL, SHEN J, et coll. Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats. *Transplantation* 1998, **66** : 152-157

YIN XM. Bid, a critical mediator for apoptosis induced by the activation of Fas/TNF-R1 death receptors in hepatocytes. *J Mol Med* 2000, **78** : 203-211

YOKOTA R, FUKAI M, SHIMAMURA T, SUZUKI T, WATANABE Y, et coll. A novel hydroxyl radical scavenger, nicaraven, protects the liver from warm ischemia and reperfusion injury. *Surgery* 2000, **127** : 661-669

YOKOYAMA I, TODO S, MIYATA T, SELBY R, TZAKIS AG, STARZL TE. Endotoxemia and human liver transplantation. *Transplant Proc* 1989, **21** : 3833-3841

YOONG KF, GUNSON BK, NEIL DA, MIRZA DF, MAYER AD, et coll. Impact of donor liver microvesicular steatosis on the outcome of liver retransplantation. *Transplant Proc* 1999, **31** : 550-551

YOSHIDOME H, LENTSCH AB, CHEADLE WG, MILLER FN, EDWARDS MJ. Enhanced pulmonary expression of CXC chemokines during hepatic ischemia/reperfusion-induced lung injury in mice. *J Surg Res* 1999a, **81** : 33-37

YOSHIDOME H, KATO A, EDWARDS MJ, LENTSCH AB. Interleukin-10 suppresses hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: implications of a central role for nuclear factor kappaB. *Hepatology* 1999b, **30** : 203-208

YOSHIDOME H, KATO A, MIYAZAKI M, EDWARDS MJ, LENTSCH AB. IL-13 activates STAT6 and inhibits liver injury induced by ischemia/reperfusion. *Am J Pathol* 1999c, **155** : 1059-1064

YOSHIZUMI T, YANAGA K, SOEJIMA Y, MAEDA T, UCHIYAMA H, SUGIMACHI K. Amelioration of liver injury by ischaemic preconditioning. *Br J Surg* 1998, **85** : 1636-1640

ZABEL P, SCHADE FU, SCHLAAK M. Inhibition of endogenous TNF formation by pentoxifylline. *Immunobiology* 1993, **187** : 447-463

ZHANG Y, YE QF, LU L, XU XL, MING YZ, XIAO JS. Panax notoginseng saponins preconditioning protects rat liver grafts from ischemia/reperfusion injury via an antiapoptotic pathway. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2005, **4** : 207-212

ZHENG L, FISHER G, MILLER RE, PESCHON J, LYNCH DH, LENARDO MJ. Induction of apoptosis in mature T cells by tumour necrosis factor. *Nature* 1995, **377** : 348-351

ZHOU W, MCCOLLUM MO, LEVINE BA, OLSON MS. Inflammation and platelet-activating factor production during hepatic ischemia/reperfusion. *Hepatology* 1992, **16** : 1236-1240

ZHU J, WANG S, BIE P, LI X, ZHANG Y, et coll. Apoptosis and regeneration of sinusoidal endothelial cells after extended cold preservation and transplantation of rat liver. *Transplantation* 2007, **84** : 1483-1491

ZWACKA RM, ZHANG Y, HALLDORSON J, SCHLOSSBERG H, DUDUS L, ENGELHARDT JF. CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest* 1997, **100** : 279-289

ZWACKA RM, ZHOU W, ZHANG Y, DARBY CJ, DUDUS L, et coll. Redox gene therapy for ischemia/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF-kappaB activation. *Nat Med* 1998, **4** : 698-704