

НАО «Западно-Казахстанский Медицинский университет  
имени М. Оспанова»

УДК 616.61-089.843-084:378.245.276.36,76.29.39

На правах рукописи

**РЫСМАХАНОВ МЫЛТЫКБАЙ САГИНБЕКОВИЧ**

**Совершенствование интраоперационных методов профилактики  
ишемически-реперфузионного повреждения почечного трансплантата  
(экспериментально-клиническое исследование)**

специальность «6D110100-Медицина»

Диссертация на соискание научной степени доктора философии (PhD)

Научный консультант:  
д.м.н., профессор Б.С. Жакиев

Научный консультант:  
MD, PhD Г.М. Куттымуратов

Зарубежный консультант:  
MD, профессор М. Хаберал

Республика Казахстан  
Актобе 2024

## **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Трансплантация почки на сегодняшний день является единственным радикальным методом лечения при заболеваниях почек в терминальной стадии, которая позволяет пациенту избавиться от гемодиализа и его побочных эффектов и, тем самым, значительно улучшает качество и продолжительность жизни. Однако почечный трансплантат до включения в процесс жизнедеятельности организма реципиента неизбежно подвергается ишемии, которая всегда сопровождает хирургический процесс трансплантации [1]. Эти изменения в органе начинаются с момента пережатия почечной артерии у живых доноров, а у трупных – со смертью мозга, и продолжаются при консервации почек и во время наложения сосудистых анастомозов. Последующая реперфузия органа инициирует в почечной ткани сложный иммуно-воспалительный процесс, определяемый как ишемически-реперфузионное повреждение (ИРП).

ИРП – является первичной и основной причиной острого повреждения почки после операции, приводящая к различной степени тяжести нарушений функции трансплантата вплоть до её полной потери [2, 3, 4]. До 50% случаев после всех пересадок почек наблюдается отсроченная функция трансплантата (ОФТ), вызываемая ИРП [2]. Установлена прямая и существенная связь между ИРП и ОФТ, между тяжестью ИРП и частотой эпизодов острого отторжения [5, 6]. Так, ОФТ имеет место примерно в 25-50% случаев при трупной пересадке, при пересадке от живых доноров – до 17% [7-12] Частота эпизодов острого отторжения почки чаще наблюдается у реципиентов с ОФТ, чем у пациентов без ОФТ – 49% против 35% [13]. Более того, послеоперационное развитие ОФТ удлиняет сроки госпитализации, существенно увеличивает затраты на проведение дополнительного лечения реципиенту [14].

Риск потери трансплантата в сочетании со смертностью при ОФТ в 2 раза выше, чем у реципиентов без ОФТ [15]. Причем из всех реципиентов с послеоперационной ОФТ у 10% может наблюдаться летальный исход [16].

В настоящее время нет принятой единой тактики или клинических рекомендаций по профилактике и / или лечению ИРП какого-либо пересаживаемого органа. Несмотря на то, что почка является наиболее изученным органом в отношении ИРП, по ней также нет методик, полностью удовлетворяющих потребность в уменьшении ОФТ.

Чтобы в процессе трансплантации почек уменьшить негативные последствия ишемии и реперфузии, предлагаются различные подходы. Это включает в себя как предоперационные, так и интра- и послеоперационные способы профилактики и лечения. Большинство из предлагаемых методов находятся на стадии экспериментальных или клинических исследований и требуют наличия дорогостоящего сопровождения и / или сложных процедур.

Все имеющиеся методы, такие как диетическое прекондиционирование, различные методы хранения органов, различные виды машинной перфузии, ишемическое пре- и посткондиционирование, использование мезенхимальных стволовых клеток, лечение и профилактика фармакологическими препаратами и т.д. [17] недостаточно универсальны и не пользуются рутинно в клинической практике. Из перечисленных методов профилактики ИРП пре- и посткондиционирование является простым в исполнении и не требует каких-либо дополнительных затрат. Однако их клинический эффект ставится под сомнение и требует дальнейших исследований [18,19].

Таким образом, проблема ИРП почечного трансплантата, и её профилактика остаются актуальными и на сегодняшний день. Необходим анализ и совершенствование существующих хирургических подходов, с разработкой простого и эффективного метода профилактики ИРП почечного трансплантата, что и определили основную цель и задачи данной работы.

### **Гипотеза:**

Н(1): ретроградная венозная реперфузия уменьшает ИРП почечного трансплантата.

### **Цель исследования:**

Улучшить результаты пересадки почек путем усовершенствования интраоперационных способов профилактики ишемически-реперфузионных повреждений почечного трансплантата.

### **Задачи исследования:**

1. Разработать интраоперационный способ профилактики ишемически-реперфузионного повреждения почечного трансплантата путем использования ретроградной венозной

реперфузии;

2. В эксперименте изучить влияние ретроградной венозной реперфузии на ишемически-реперфузионное повреждение почки;

3. Оценить клиническую эффективность способа ретроградной венозной реперфузии почечного трансплантата при пересадке почки;

4. Провести анализ отдалённых результатов применения интраоперационного способа ретроградной венозной реперфузии почечного трансплантата у реципиентов при трансплантации почки.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Данное исследование включало 2 этапа: экспериментальный и клинический.

**Экспериментальное исследование** проведено на двух базах:

- научно-исследовательская лаборатория животных университета «Başkent» (Анкара, Турция); проводилась разработка животной модели; данное исследование было одобрено Этическим комитетом по экспериментальным исследованиям на животных университета «Başkent» (Проект №:E-94603339-604.01.02-38157) и осуществлён при поддержке Исследовательского фонда университета «Başkent»;

- кадаверный центр Западно-Казахстанского медицинского Университета имени М. Оспанова; одобрено Локальным комитетом по биоэтике Западно-Казахстанского медицинского университета (№10 от 04.12.2021).

В экспериментальном исследовании использовали десять кроликов самцов белой новозеландской породы средним весом  $4550 \pm 70,7$  г.

Все кролики содержались в специальном виварии и находились на стандартном пищевом рационе, согласно требованиям по содержанию экспериментальных животных, с соблюдением температурного и светового режимов.

Для эксперимента использовали модель билатеральной ишемии почек, предложенную Wei Q с соавт., 2012г. и Doulamis IP с соавт., 2021г. [20, 21]. Лапаротомию и выделение обеих почек и их сосудов проводили согласно рекомендациям хирургического протокола животных моделей [22].

Экспериментальная модель с билатеральной почечной ишемией с последующей реперфузией для данного экспериментального исследования на кроликах разработана в сертифицированной лаборатории животных университета «Başkent» и была утверждена «Этическим комитетом по экспериментальным исследованиям на животных» университета «Başkent», г. Анкара, Турция (Project№:E-94603339-604.01.02-38157).

Было сформировано две группы:

- *группа А, основная группа* – 10 левых почек кроликов, с проведением ретроградной венозной реперфузии (РВРП) перед артериальной реперфузией;

- *группа В, контрольная группа* – 10 правых почек кроликов, которые подверглись только антеградной артериальной реперфузии без предварительной ретроградной венозной реперфузии.

Под внутримышечной анестезией (ВетаКетам, Вет-Агро, г. Люблин, Польша - 60 мг/кг и ВетаКсил, Вет-Агро, г. Люблин, Польша - 10 мг/кг) проводилась лапаротомия с выделением обеих почек, брюшной аорты и нижней полой вены. После 20 минутной ишемии обеих почек через установленную в брюшную аорту канюлю проводили промывание обеих почек холодным консервирующим раствором НТК (Кустодиол, Др. Франц Кёлер Хеми ГмбХ, г. Бенсхайм, Германия) при температуре 4-5°C. Проводилась ретроградная реперфузия левой почки венозной кровью из нижней полой вены через левую почечную вену. После запускалась типичная артериальная реперфузия обеих почек.

Через сорок восемь часов после операции под идентичным наркозом у кроликов проводили двустороннюю нефрэктомия для гистопатологического исследования.

*Гистологическое исследование* проводилось на базе морфологической лаборатории кафедры гистологии ЗКМУ имени М. Оспанова, г. Актобе, Казахстан.

После вырезки материала из почек проводили ее фиксацию. В качестве фиксатора использовали 10% раствор забуференного формалина. Далее срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятой методике. Материал оценивали с помощью светового микроскопа при увеличении  $\times 50$ ;  $\times 100$ ;  $\times 400$ . Микроскопирование гистологических препаратов проводили с использованием лабораторного медицинского видеомикроскопа «Axio Lab A1», регистрационное удостоверение – РК-МТ-7№009046.

Наименование держателя регистрационного удостоверения «Carl Zeiss Microscopy GmbH», производитель «Carl Zeiss Meditec», страна производитель Германия, дата государственной регистрации: 17.08.2018, №N016546.

В приготовленных срезах оценивались степень повреждения и/или патологического изменения в почечных тканях следующих гистологических параметров:

- Десквамация канальцевого эпителия;
- Закупорка почечных канальцев;
- Вакуолизация клеток;
- Интерстициальный отек;
- Сморщивание клубочков;
- Апоптоз ядер;
- Утеря щеточной каемки клеток проксимальных извитых канальцев.

Степень выраженности каждого из гистопатологических параметров в исследованных препаратах оценивали от 0 до 3 баллов, согласно шкале полуколичественного анализа по Мартин Александр, 2010г. [23], где соответствующие баллы означали:

- «0» – отсутствие повреждений / изменений,
- «1» – лёгкая степень повреждений / изменений,
- «2» – умеренная степень повреждений / изменений,
- «3» – тяжёлая степень повреждений / изменений.

### **Клиническое исследование**

Исследовательская работа проводилась на клинической базе кафедры хирургических болезней №2 с урологией НАО «Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова»; ГКП «Актюбинский медицинский центр» на ПХВ, отделение плановой хирургии и трансплантации.

Анализ материалов клинического исследования основан на результатах проведения 60 пациентам с терминальной ХПН гетеротопической трансплантации почек от живых родственных доноров, оперированных с 2018 г. по 2023 гг. в ГКП «Актюбинский медицинский центр» на ПХВ.

Данное клиническое исследование было одобрено биоэтической комиссией Западно-Казахстанского медицинского университета (заключение № 55А.02.09.2021) и зарегистрировано в международном реестре клинических исследований ClinicalTrials.gov (идентификатор: NCT05179434). Трансплантации почки реципиентам обеих групп проводились после одобрения Этической комиссии Управления здравоохранения Актюбинской области. Обследование всех реципиентов почек из основной и контрольной групп проводилось согласно клиническому протоколу от «14» декабря 2017 года (Протокол №35), разработанный Министерством здравоохранения Республики Казахстан.

#### *Дизайн исследования.*

Тип исследования: моноцентрическое клиническое исследование, с частичным историческим контролем.

Число участников: 60 (при ДИ – 95% и ГС – 62, требуемый размер выборки – 54).

Распределение: сплошное.

Модель исследования: продольное.

Маскировка: нет.

Основная цель: профилактика.

Сроки проведения: сентябрь 2020 – май 2023 гг.

#### Пациенты были разделены на 2 группы:

Основная группа– 30 реципиентов с ретроградной венозной реперфузией почечного трансплантата перед типичной артериальной;

Контрольная группа– 30 реципиентов с типичной артериальной реперфузией.

Доноры обеих групп пациентов подверглись идентичной лапароскопической нефрэктомии. В обеих исследуемых группах пациенты после операции получали одинаковую трехкомпонентную схему иммуносупрессии: ингибиторы кальциневрина (такролимус), мофетила микофенолат и глюкокортикостероид.

Критерии исследования.

#### Общие критерии:

возраст для исследований: от 18 до 60 лет;

пол для исследований: все (женщины и мужчины);

наличие добровольцев: нет;

ослепление: нет.

Критерии включения:

- больные с терминальной ХПН (ХБП IV-Vстadium по KDIGO, 2020 [24]), готовые к проведению трансплантации почки;

- доноры реципиентов с лапароскопическим изъятием почки;

- уровень лейкоцитарных антител (ЛА) менее 20% – для исключения иммунологического воздействия организма на трансплантат непосредственно после операции по пересадке;

- информированное согласие на участие в исследовании;

Критерии исключения:

- реципиенты, готовящиеся на комбинированную трансплантацию почки и какого-либо другого органа;

- реципиенты с ранее проведенной трансплантацией другого органа;

- реципиенты, готовящиеся к трансплантации с другим иммуносупрессивным режимом;

- предстоящая АВ0-несовместимая трансплантация почки;

- уровень лейкоцитарных антител более 20%;

- наличие в анамнезе злокачественных новообразований;

- смертность реципиента в течение одного года после трансплантации от экстраренальных патологий;

- беременные.

Для составления исходной клинической характеристики пациентов в обеих группах использовали следующие клинические и лабораторные показатели:

- возраст,

- пол,

- родственное отношение к донору,

- индекс массы тела (ИМТ),

- продолжительность программного гемодиализа до момента трансплантации (в месяцах),

- исходные уровни креатинина (мкмоль/л) и мочевины (ммоль/л) сыворотки крови непосредственно перед трансплантацией,

- расчетная СКФ по принятой формуле СКD-EPI до трансплантации (мл/мин/1,73м<sup>2</sup>),

- уровень лейкоцитарных антител в крови перед операцией (в %),

- продолжительность первичной тепловой ишемии трансплантата (в минутах),

- продолжительность холодовой ишемии трансплантата (в минутах),

- продолжительность вторичной тепловой ишемии трансплантата (в минутах),

- общая продолжительность операции по трансплантации у реципиента, без учета времени донорской операции (в минутах).

## **Методы исследования пациентов**

### *Оценка ближайших результатов.*

#### Клинико-лабораторные показатели:

- Уровень мочевины и креатинина в сыворотке крови – на 1-е, 4-е, 7-е, 14-е сутки после трансплантации – в обеих группах. Проводилось динамическое сравнение уровня креатинина и мочевины в обеих группах. Определялся на автоматическом анализаторе «ABL800 Radiometer» клинической лаборатории ГКП «Актюбинский медицинский центр» на ПХВ.

- Расчет СКФ – 1-е, 4-е, 7-е, 14-е сутки после трансплантации – в обеих группах. Расчет проводился онлайн-калькулятором по единой принятой формуле СКD-EPI – согласно рекомендациям Национального почечного фонда [24].

- КЩС и анализ газов реперфузата почки и крови с подвздошной вены – интраоперационно у больных в группе с РВП. Проводилось сравнение состава ретроградной крови, вытекающей с почечной артерии с составом крови из центральной вены (левая подвздошная вена). Определялся на автоматическом анализаторе «BC-240 Pro» клинической лаборатории ГКП «Актюбинский медицинский центр» на ПХВ.

- Измерение суточного диуреза – на 1-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки после трансплантации – в обеих группах. Суточный диурез (в мл) в первые семь суток после ишемии органа и ее последующей реперфузии отражает степень тяжести ИРП канальцевых клеток выражаемая в виде общего объема гиперфльтрации.

#### Инструментальные методы:

- УЗДГ трансплантата – на 1-е, 4-е, 7-е, 14-е сутки после трансплантации – в обеих группах. Автоматически аппаратом ультразвукового исследования измеряется индекс резистентности (ИР) почечного трансплантата, которая определяется по формуле: (пиковая систолическая скорость – конечная диастолическая скорость) / пиковая систолическая скорость, которая выражает процентное снижение конечно-диастолического кровотока в почечных сосудах по отношению к максимальному систолическому кровотоку. Измерение индекса резистентности паренхимы почечного трансплантата отражает степень отека почечной ткани.

Морфологические показатели:

- трепан-биопсия трансплантата – по показаниям (при подозрении на сверхострое и острое отторжение).

*Оценка отдалённых результатов.*

Клинико-лабораторные показатели:

- уровень мочевины и креатинина в сыворотке крови – на 30-е, 60-е сутки и через 1 год после трансплантации – в обеих группах. Проводилось динамическое сравнение уровня креатинина и мочевины в обеих группах. Определялись на автоматическом анализаторе «ABL800 Radiometer» клинической лаборатории ГКП «Актюбинский медицинский центр» на ПХВ.

- Расчет СКФ – 30-е, 60-е сутки и через 1 год сутки после трансплантации – в обеих группах. Расчет проводился онлайн-калькулятором по единой принятой формуле СКД-ЕРІ.

- уровень лейкоцитарных антител в сыворотке крови – 30-е сутки и через один год после трансплантации – в обеих группах. Проводилось динамическое сравнение уровня антител (в %) в крови реципиентов обеих групп. Определялся на мультитиплексном анализаторе НЛА-диагностики «LabScan 3D» в иммунологической лаборатории ГКП «Областной центр крови» на ПХВ г. Актюбе.

Инструментальные методы:

- УЗДГ трансплантата – 30-е, 60-е сутки и через 1 год после трансплантации – в обеих группах. Измерение индекса резистентности (ИР) паренхимы почечного трансплантата, отражающая степень отека почечной ткани.

Выживаемость трансплантата – частота потери функции почечного трансплантата в течение одного года.

**Статистический анализ** проводился с использованием SPSS версии 20.0 для Windows (SPSS Inc, Чикаго, Иллинойс, 2020). Для статистической проверки критериев, основанных на распределении Стьюдента, и равенства средних значений в двух выборках использовали t-критерий Стьюдента, а для выборок малого размера – тест Фишера. Для сравнения непараметрических переменных двух групп с медианными значениями использовался U-критерий Манна-Уитни в качестве двухвыборочного критерия для независимых выборок. Для проверки гипотезы о различии распределений совокупностей или определения корреляции применяли критерий Кси-квадрат. Статистические различия между двумя группами считались значимыми при значениях  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Результаты экспериментального исследования**

Для подтверждения выдвинутой гипотезы о том, что РВРП уменьшает степень ИРП было проведено экспериментальное исследование. С этой целью использовали животную модель с билатеральной ишемией почек с дальнейшей РВРП левой почки и гистологическим анализом обеих почек через 48 часов после воздействия.

По результатам гистологических исследований проведена сравнительная оценка патоморфологических изменений в тканях почек обеих групп по следующим семи параметрам: десквамация эпителия, проходимость канальцев, вакуолизация, интерстициальный отёк, сморщивание клубочков, апоптоз ядер и утеря щёточной каёмки проксимальных канальцев.

Результаты гистологических исследований с количественной оценкой патологических изменений в почечных тканях обеих групп:

1) *Десквамация эпителия.*

В контрольной группе десквамация канальцевого эпителия были выявлены в семи почках из десяти. Суммарная степень десквамации эпителия во всех семи почках контрольной группы

составила 15 баллов (в среднем  $1,50 \pm 1,18$  балла). В то же время в основной группе десквамация наблюдалась только в пяти образцах почечной ткани из десяти (в среднем  $0,70 \pm 0,82$  баллов). Причём в этой группе в трёх из пяти почек изменения были оценены в 1 балл – лёгкая степень десквамации эпителия. Таким образом, в почечных тканях основной группы десквамация эпителия наблюдалась в 1,4 раза реже по сравнению с контрольной, причем в большинстве случаев в легкой степени,  $p=0,04$

#### 2) *Закупорка канальцев.*

В контрольной группе из десяти почек проходимость канальцев была нарушена у девяти, а в основной – в пяти из десяти. Причем в двух почках изменения были легкой степени (22,2%), в пяти – средней (55,6%), в двух почках – тяжелая степень (22,2%) непроходимости почечных канальцев. Степень данных патологических изменений всех десяти почек в контрольной группе составил в среднем  $1,80 \pm 0,92$  баллов, против  $0,60 \pm 0,70$  баллов в основной группе,  $p=0,002$ . То есть, в основной группе степень закупорки канальцев после ретроградной реперфузии почек была менее выражена по сравнению с контрольной.

#### 3) *Вакуолизация.*

Патологические изменения в почечных тканях в виде вакуолизации клеток имелись в девяти почках из десяти в каждой из групп – по 90%. В основной группе степень выраженности вакуолизации составила в среднем  $0,50 \pm 0,97$  баллов против  $1,90 \pm 0,99$  в контрольной группе. Выраженность этих изменений в обеих группах была статистически одинаковой,  $p=0,18$ .

#### 4) *Интерстициальный отек.*

Интерстициальный отек наблюдался во всех исследованных 20 почках. Хотя в основной группе общая суммарная степень отека была ниже, чем в контрольной (14 и 18 баллов соответственно). Статистически степень интерстициального отека была одинаковой в обеих группах и составили  $1,40 \pm 0,52$  баллов в основной группе и  $1,80 \pm 0,79$  – в контрольной,  $p=0,09$ .

#### 5) *Сморщивание клубочков.*

Сморщивание клубочков обнаружено в девяти почках из десяти в контрольной группе, причем в одной из них имелись изменения тяжелой степени (рисунок 18). В то время как в основной группе сморщивание выявлено только в четырех образцах, причем все четыре – в легкой степени выраженности. В среднем степень сморщивания клубочков составила  $0,40 \pm 0,52$  балла в основной группе и  $1,70 \pm 0,82$  балла в контрольной. Таким образом, в гистологических образцах основной группы с использованием методики РВРП патологические изменения в виде сморщивания клубочков оказались в значительной степени менее выраженными,  $p=0,0002$ .

#### 6) *Апоптоз ядер.*

В контрольной группе апоптоз ядер был обнаружен в тканях восьми почек из десяти: в двух почках изменения были легкой степени, в трёх – средней и в трех – тяжелой степени. В основной группе только в четырех образцах тканей был выявлен апоптоз лёгкой степени. Таким образом, суммарно степень апоптоза ядер в контрольной группе составила в среднем  $1,70 \pm 1,16$  баллов, а в основной группе –  $0,40 \pm 0,52$  балла. При сравнении данных в контрольной группе наблюдался выраженный апоптоз клеточных ядер по сравнению с группой с РВРП,  $p=0,002$ .

#### 7) *Утеря щеточной каемки проксимальных канальцев.*

Утеря щеточной каемки канальцев наблюдался в восьми случаях из десяти почек в контрольной группе. Выраженность этих изменений составила  $1,30 \pm 0,95$  баллов, а суммарно – 13 баллов. В этой группе повреждение щеточной каемки в легкой степени имелось в трех почках, средней – в трех и тяжелой – в одном случае. В основной группе данное изменение обнаружено в пяти образцах, но они были в легкой степени выраженности. Утеря щеточной каемки проксимальных канальцев в основной группе в среднем составила  $0,50 \pm 0,53$  баллов, суммарно – 5 баллов. Таким образом, в группе с РВРП выявили минимальную степень повреждения щеточной каемки канальцев по сравнению с контрольной,  $p=0,01$ .

При сравнительном анализе гистологических изменений тканей почек выявлено статистически достоверное отличие по пяти показателям из семи в основной группе. Десквамация эпителия, непроходимость канальцев, сморщивание клубочков, апоптоз ядер и повреждение щеточной каемки оказались менее выраженными в образцах почечных тканей в группе с РВРП ( $p<0,05$ ). При этом не было выявлено существенных различий в степени выраженности вакуолизации клеток и интерстициальном отеке в образцах из почечных тканей обеих групп ( $p>0,05$ ).

Таким образом, анализ полученных патоморфологических данных показал, что предшествующая РВРП почек позволяет значительно снизить степень выраженности патологических изменений, наблюдающихся после ишемии и реперфузии почек. Причем, в основной группе по сравнению с контрольной группой выраженность десквамации эпителия была ниже в 2,1 раза, отслоение и непроходимость канальцев – в 3 раза, сморщивание клубочков и апоптоз ядер – в 4,3 раза, а повреждение щеточной каемки – в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ).

### **Результаты клинического исследования**

Результаты экспериментального исследования показали, что способ предварительной РВРП почки значительно уменьшает ее ИРП и служили обоснованием использования данного метода в клинических условиях.

В клиническое исследование были включены 60 пациентов с диагнозом «ХБП 4-5 стадии, терминальная ХПН», которым проводилась гетеротопическая трансплантация почек от живых доноров. Основную группу составили 30 пациентов, которым проводили РВРП почечного трансплантата. В контрольную группу вошли 30 больных с типичной антеградной реперфузией.

Показаниями к трансплантации почки у всех реципиентов явились ХБП 4-5 стадии с СКФ  $\leq 30$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup> согласно критериям KDIGO, 2020 [25]. Всем 60 реципиентам проводили трансплантацию почек от живых родственных доноров. У всех 60 доноров обеих групп почку изъяли лапароскопическим путем с целью единообразия исследования. Основная часть доноров в обеих группах для своих реципиентов были родственниками первого поколения (91,7%) – сестры или братья, мать или отец и дети.

Все реципиенты до операции обследованы согласно клиническим протоколам. Пациенты обеих групп за день перед трансплантацией получали сеанс гемодиализа.

С целью подтверждения наличия ишемического повреждения пересаживаемой почки непосредственно перед запуском РВРП из подвздошной вены реципиента набирали кровь для анализа КЩС и газов. Далее запускали ретроградную реперфузию по предложенной методике. Ретроградная кровь в объеме 80-100 мл вытекала из оставленного «окна» артериального анастомоза. Данную оттекаемую из пересаженной почки ретроградную кровь забирали для анализа КЩС и газового состава.

При сравнительном анализе газового состава ретроградной крови с анализами крови, взятых из подвздошной вены реципиентов основной группы непосредственно перед РВРП выявлены, что в ретроградной крови рН был ниже, чем в крови из подвздошной вены –  $6,40 \pm 0,39$  и  $7,38 \pm 0,03$  соответственно ( $p < 0,01$ ). Это подтверждает наличие избытка оснований (BE<sub>сф</sub>) в оттекаемой из почки крови по сравнению с кровью из вены реципиента:  $-25,86 \pm 2,49$  ммоль/л и  $-1,98 \pm 0,21$  ммоль/л соответственно ( $p < 0,01$ ). Также выявлено высокое содержание лактата и калия в ретроградной крови:  $5,2 \pm 0,55$  ммоль/л и  $13,13 \pm 1,77$  ммоль/л против  $1,08 \pm 0,38$  ммоль/л и  $4,30 \pm 0,36$  ммоль/л в крови из подвздошной вены ( $p < 0,01$ ). А уровень кальция был значительно ниже в ретроградной крови ( $0,54 \pm 0,06$  ммоль/л), чем в крови из подвздошной вены ( $1,13 \pm 0,05$  ммоль/л) реципиентов ( $p < 0,01$ ).

Полученные данные убедительно показали наличие глубоких метаболических нарушений в тканях почки вследствие периода холодовой и тепловой ишемии и последующей реперфузии. Глубокий ацидоз, выраженный избыток BE<sub>сф</sub>, высокая концентрация лактата и калия, низкое содержание кальция в ретроградной крови подтвердили развитие ИРП в тканях пересаживаемой почки.

В то же время при вытекании 80–100 мл ретроградной крови через просвет артериального анастомоза наружу удалялись вредные продукты метаболизма, не попадая в общий кровоток реципиента.

#### *Послеоперационные характеристики.*

В первые сутки после операции у реципиентов основной группы суточный диурез составил  $4979,7 \pm 1781,9$  мл, а в контрольной группе –  $7943,3 \pm 2391,6$  мл. В последующие дни после операции (4-е, 7-е и 14-е сутки) в имело место выраженная полиурия по сравнению с показателями начального диуреза в основной группе ( $p < 0,01$ ). Так, на 4-е сутки суточный диурез составил  $3966,7 \pm 723,9$  мл в группе с РВРП и  $4526,7 \pm 661,6$  мл – в контрольной ( $p < 0,01$ ). На 7-е сутки полиурия в контрольной группе также сохранялась и составила  $3441,7 \pm 448,4$  мл против  $3048,3 \pm 394,1$  мл – в основной ( $p < 0,01$ ). Следует отметить, что на 14-е сутки ещё сохраняется



незначительная полиурия в контрольной группе ( $2361,7 \pm 286,4$  мл), в то время в основной группе отмечается более ранняя нормализация суточного диуреза ( $p < 0,02$ ).

Данный факт отражает то, что ИРП почечного трансплантата в контрольной группе носила более выраженный характер, чем в основной группе. В контрольной группе полиурия сохранялась и была достоверно выше суточного диуреза в основной группе.

Уровни креатинина сыворотки реципиентов на 1-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки после операции были достоверно ниже в основной группе ( $p < 0,05$ ), по сравнению с показателями пациентов из группы без РВРП. Динамика (тренд) снижения уровня креатинина: 1-е сутки –  $264,4 \pm 78,4$  против  $299,0 \pm 42,1$  мкмоль/л; 4-е сутки –  $91,0 \pm 12,3$  против  $101,7 \pm 6,0$  мкмоль/л; 7-е сутки –  $78,2 \pm 14,3$  против  $89,8 \pm 10,4$  мкмоль/л; 14-е сутки –  $76,8 \pm 10,5$  против  $89,1 \pm 11,4$  мкмоль/л соответственно. При этом в основной группе с использованием способа РВРП нормализация уровней креатинина у пациентов наблюдается на 4-е сутки, в то время как в контрольной группе тенденция к нормализации отмечалась лишь с 7-х суток после трансплантации. Аналогичная картина наблюдается со стороны уровня мочевины.

Уровни рСКФ на 1-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки после операции были значительно выше в основной группе ( $p < 0,05$ ), по сравнению с контрольной. Динамика повышения уровня рСКФ в сравнительном аспекте: 1-е сутки –  $26,7 \pm 12,6$  против  $22,1 \pm 6,4$  мл/мин/ $1,73\text{м}^2$ ; 4-е сутки –  $90,2 \pm 18,8$  против  $80,3 \pm 15,9$  мл/мин/ $1,73\text{м}^2$ ; 7-е сутки –  $104,9 \pm 17,2$  против  $92,1 \pm 21,8$  мл/мин/ $1,73\text{м}^2$  и 14-е сутки –  $103,5 \pm 17,5$  против  $95,4 \pm 12,9$  мл/мин/ $1,73\text{м}^2$  соответственно. Как видно из полученных результатов, в группе больных с проведением РВРП показатели рСКФ начиная с 4-х суток после операции имеет тенденцию к улучшению фильтрационной способности почечных трансплантатов.

При проведении УЗДГ трансплантатов индекс резистентности составили: 1-е сутки –  $0,53 \pm 0,06$  и  $0,73 \pm 0,11$ ; 4-е сутки –  $0,66 \pm 0,14$  и  $0,70 \pm 0,08$ ; 7-е сутки –  $0,64 \pm 0,09$  и  $0,68 \pm 0,07$ ; 14-е сутки –  $0,54 \pm 0,04$  и  $0,66 \pm 0,06$  в основной и контрольной группах соответственно. В двух группах по показателям ИР статистически достоверных отличий не было ( $p > 0,05$ ).

Продолжительность послеоперационного пребывания реципиентов в стационаре в основной группе в среднем составило  $17,9 \pm 2,2$  койко-дня, а в контрольной –  $24,3 \pm 3,13$  койко-дней.

После трансплантации все реципиенты находились под наблюдением в амбулаторных условиях. Согласно клинической рекомендации по иммунологическому мониторингу у реципиентов почек на 30-е сутки и через 1 год после операции в обеих группах определялся уровень лейкоцитарных антител в крови.

В основной группе у пациентов с использованием способа РВРП средний уровень креатинина и мочевины на 30-е, 60-е сутки и через один год после трансплантации остаются в пределах нормы, в то же время в контрольной группе данный показатель еще оставался повышенным. Показатели креатинина в группе с РВРП составили: на 30-й ПОД –  $69,7 \pm 10,8$  против  $86,2 \pm 4,7$  мкмоль/л; на 60-й ПОД –  $79,9 \pm 8,03$  против  $92,03 \pm 8,1$  мкмоль/л; через 1 год –  $85,4 \pm 7,9$  против  $91,43 \pm 8,9$  мкмоль/л соответственно ( $p > 0,05$ ).

Уровни рСКФ на 30-е, 60-е сутки и через один год после операции были значительно выше в основной группе ( $p < 0,05$ ), по сравнению с контрольной группой без РВРП. Средний уровень рСКФ через месяц после трансплантации в контрольной группе составил  $100,7 \pm 10,7$  мл/мин/ $1,72\text{м}^2$ , в основной –  $112,9 \pm 13,8$  мл/мин/ $1,72\text{м}^2$ ; на 60-е сутки:  $92,2 \pm 14,6$  и  $106,3 \pm 14,5$ ; через 1 год –  $92,3 \pm 16,2$  и  $99,5 \pm 13,9$  мл/мин/ $1,72\text{м}^2$ , соответственно. Как видно из полученных результатов, в группе больных с проведением РВРП показатели рСКФ в отдалённом периоде после операции сохраняются на высоких уровнях, что указывает на оптимальную фильтрационную функцию почечных трансплантатов.

При проведении иммунологического анализа через месяц после трансплантации в крови реципиентов основной группы лейкоцитарных антител как I, так и II классов не обнаружено. В то время как у реципиентов контрольной группы на 30-е сутки после операции средний уровень лейкоцитарных антител I класса составил  $1,8 \pm 4,6$  %, а II класса –  $0,83 \pm 2,7$  % ( $p < 0,01$ ). Через один год после трансплантации у реципиентов основной группы в крови уровень лейкоцитарных антител I класса не обнаружено, антитела II класса составили  $0,2 \pm 1,1$ %. А у реципиентов контрольной группы через 1 год уровень лейкоцитарных антител I класса в среднем составил  $2,1 \pm 4,9$ %, а II класса –  $1,9 \pm 4,5$  % ( $p < 0,01$ ).

Полученные данные свидетельствуют о минимальном риске развития иммунологической реакции со стороны «хозяина против трансплантата» в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов основной группы.

#### *Выживаемость трансплантата.*

При анализе отдаленных результатов выявлено, что в течение одного года потеря функции почечного трансплантата в контрольной группе наблюдалась у 4 реципиентов, что составило 13,3%, в основной группе данное осложнение было только у 1 пациента – 3,3% ( $p=0,16$ ).

В контрольной группе причинами потери трансплантата были:

- острая респираторная инфекция – 1;
- хроническое отторжение – 3.

Потеря трансплантата у одного реципиента в основной группе произошло на фоне экстраренальной патологии через 8 месяцев после операции. Тяжёлая острая респираторная инфекция спровоцировала дисфункцию трансплантата с последующей полной потерей её функции. В то время как в контрольной группе причиной потери трансплантата в основном (75%) явилась ренальная патология в виде хронического отторжения почки. Таким образом, показатели общей однолетней выживаемости почечных трансплантатов в обеих группах статистически не отличались. При анализе выживаемости почечного трансплантата без учёта случаев потерь функции почек по экстраренальным патологиям по данным теста Гехана-Бреслоу-Уилкоксона выявлена статистически значимая разница между показателями выживаемости основной и контрольной группы ( $p=0,04$ ). А расчет отношения рисков развития потери почечного графта по методу Мантеля-Хенцеля в группе с РВРП оказалась выше, чем в контрольной, 95% ДИ: 1,099 до 58,37). У реципиентов основной группы показаний к биопсии за период наблюдения не было. Трепан-биопсии почечных трансплантатов выполняли только пациентам контрольной группы с дисфункцией почек (3 пациента).

Таким образом, ретроградная венозная реперфузия почечных трансплантатов, предшествующая антеградной артериальной реперфузии, уменьшает эффекты ИРП почечной паренхимы после ее ишемии и реперфузии, ускоряет нормализацию функциональных показателей почки. Данный эффект РВРП повышает её выживаемость и уменьшает риск потери трансплантата в течение одного года непосредственно от ренальных причин.

На основании полученных результатов проведенного исследования можно сделать следующие **выводы**:

1. Ретроградная венозная реперфузия почки у реципиентов является эффективным интраоперационным способом профилактики ишемически-реперфузионного повреждения трансплантата, технически прост в выполнении и не требует каких-либо дополнительных инструментов или оборудования.

2. Результатами экспериментального исследования на животных моделях установлено, что предварительная ретроградная венозная реперфузия ишемизированной почки по сравнению с типичной антеградной артериальной реперфузией значительно уменьшает выраженность ишемически-реперфузионного повреждения: десквамацию эпителия в 2,1 раза, отслоение и непроходимость канальцев – в 3 раза, сморщивание клубочков и апоптоз ядер – в 4,3 раза и повреждение щеточной каемки – в 2,6 раза.

3. Интраоперационный способ профилактики ишемически-реперфузионного повреждения почечного трансплантата путём ретроградной венозной реперфузии позволяет ускорить нормализацию функциональных показателей почки в 2 раза, сократить сроки послеоперационного пребывания пациентов в стационаре в 1,4 раза.

4. В отдаленном послеоперационном периоде способ ретроградной венозной реперфузии почечного трансплантата позволяет сохранить оптимальную фильтрационную функцию пересаженной почки, повысить её выживаемость и уменьшить риск потери трансплантата в течение одного года в 1,2 раза.

#### **Практические рекомендации**

1. При трансплантации почки для профилактики ишемически-реперфузионного повреждения следует проводить интраоперационную ретроградную венозную реперфузию трансплантата.

2. После завершения венозного анастомоза необходимо наложить артериальный анастомоз без затягивания шва, оставляя просвет для оттока ретроградной крови.

3. Перед типичной артериальной реперфузией необходимо осуществлять ретроградный кровоток по почечной вене, чтобы венозная кровь заполнила трансплантат и вытекала по почечной артерии в объёме 80-100 мл. Далее шов артериального анастомоза следует затянуть и перевязать.

4. После ретроградной венозной реперфузии проводить антеградную артериальную реперфузию трансплантата через почечную артерию.

### **Научная новизна**

1) Разработан новый интраоперационный способ профилактики ишемически-реперфузионного повреждения почечного трансплантата путем использования ретроградной венозной реперфузии почки (патент на изобретение РК №2021/0443.1 от 27.01.2021 г.);

2) В эксперименте установлено положительное влияние способа ретроградной венозной реперфузии на ишемически-реперфузионное повреждение почки;

3) Оценена клиническая эффективность способа ретроградной венозной реперфузии почечного трансплантата при пересадке почки;

4) На основании изучения отдалённых результатов использования интраоперационного способа ретроградной венозной реперфузии почечного трансплантата у реципиентов выявлена его высокая эффективность при трансплантации почки.

### **Практическая значимость**

Разработанный интраоперационный способ профилактики ишемически-реперфузионного повреждения почечного трансплантата путем использования ретроградной венозной реперфузии у реципиентов позволяет улучшить результаты трансплантации почек.

### **Формы внедрения**

1. Патент на изобретение РК № 2021/0443.1 от 27.01.2021 г. «Профилактики ишемически-реперфузионного повреждения почечного трансплантата путем использования ретроградной венозной реперфузии почки»;

2. Акт внедрения в практическое здравоохранение №283 от 19.12.2022 г.: «Способ ретроградной реперфузии почечного трансплантата»;

3. Акт внедрения №16 от 01.02.2023 г. в практическое здравоохранение: «Способ локального внутрилоханочного охлаждения почечного трансплантата во время имплантации у реципиента».

### **Выступления:**

1) XXX-й международный конгресс Всемирного трансплантологического общества TTS – 2024 (Турция, г. Стамбул, 2024г. – сентябрь);

2) конгресс «AsianTransplantationWeek 2023» Азиатского трансплантологического общества (Республика Корея, г. Сеул, 2023г. – ноябрь);

3) III Съезд хирургов Казахстана с международным участием "Актуальные вопросы хирургии и трансплантологии" (Казахстан, г. Алматы, 2022г. – сентябрь);

4) XXIX-й международный конгресс Всемирного трансплантологического общества TTS – 2022 (Аргентина, г. Буэнос-Айрес, 2022г. – сентябрь);

5) конгресс «AsianTransplantationWeek 2021» Азиатского трансплантологического общества (Республика Корея, г. Сеул, 2021 г. – октябрь);

6) международный научно-практический форум Прикаспийских государств «Технологии и инновации» (Россия, г. Астрахань, 2021 г. – март);

7) конгресс «AsianTransplantationWeek 2020» Азиатского трансплантологического общества (Республика Корея, г. Сеул, 2020 г. – декабрь).

### **Публикации – 4(Q2 (68%) – 1, Q3 (38%) – 1, Q4 (24%) – 2):**

1. Rysmakhanov, M., Smagulov, A., Sultangereyev, Y. et al. Evaluation of the effect of retrograde venous renal reperfusion in rabbits on ischemic reperfusion injury: an experimental study. *Comp Clin Pathol* (2024). <https://doi.org/10.1007/s00580-024-03606-1>.

2. Rysmakhanov MS, Zare A, Smagulov AS, Abenova NA, Mussin NM, Sultangereyev YB, Zhakiyev BS, Kuttymuratov GK, Haberal M, Jafari N, Baneshi H, Bakhshalizadeh S, Mahdipour M,

Rahmanifar F, Tamadon A. Comprehensive Overview of Innovative Strategies in Preventing Renal Ischemia-reperfusion Injury: Insights from Bibliometric and In Silico Analyses. *Curr Pharm Des.* 2024 Apr 26. doi: 10.2174/0113816128283420240409050754.

3. Rysmakhanov M, Yelemessov A, Mussin N, Yessenbayev D, Saparbayev S, Zhakiyev B, Sultangereyev Y. Two- and three-dimensional laparoscopic donor nephrectomy: a comparative study of a single-center experience. *Korean Journal of Transplantation* 2022;36:104-110. <https://doi.org/10.4285/kjt.22.0003>.

4. Rysmakhanov M, Smagulov A, Mussin N, Kaliyev A, Zhakiyev B, Sultangereyev Y, Kuttymuratov G. Retrograde reperfusion of renal grafts to reduce ischemic-reperfusion injury. *Korean Journal of Transplantation* 2022;36:253-258. <https://doi.org/10.4285/kjt.22.0053>.

Тезисы – 7 (Q1 (96%) – 2, Q4 (24%) – 4, ККСОН – 1):

1. Rysmakhanov M, Kuttymuratov G. Possibility of using retrograde reperfusion renal graft to reduce ischemic-reperfusion injury. *Korean Journal of Transplantation* 2020;34:108-108. <https://doi.org/10.4285/ATW2020.PO-1051>.

2. Rysmakhanov M, Kuttymuratov G. Retrograde reperfusion of renal graft to reduce ischemia-reperfusion injury. *Korean Journal of Transplantation* 2021;35:87-87. <https://doi.org/10.4285/ATW2021.OP-1110>.

3. Rysmakhanov, Myltykbay; Kuttymuratov, Gany; Mussin, Nadiar. P2.17: Retrograde Reperfusion of the Renal Graft in Adult Recipient To Reduce Ischemia-Reperfusion Injury. *Transplantation* 106(9S):p S513, September 2022. | DOI: 10.1097/01.tp.0000888216.53264.cc

4. Рысмаханов М.С., Мусин Н.М., Жакиев Б.С., Haberal M. Ретроградная венозная реперфузия почки – экспериментальное исследование. *Вестник хирургии Казахстана* 2022(С1); С.152.

5. Rysmakhanov M, Karakaya E, Akdur A, Haberal M. The effect of retrograde venous renal reperfusion on ischemia-reperfusion injury in rabbits. *Korean Journal of Transplantation* 2022;36:31-31. <https://doi.org/10.4285/ATW2022.F-1279>.

6. Mussin N, Rysmakhanov M, Sultangereyev Y. Three-dimensional laparoscopic donor nephrectomy: single-center experience. *Korean Journal of Transplantation* 2022;36:214-214. <https://doi.org/10.4285/ATW2022.F-3530>.

7. Sultangereyev, Yerlan; Rysmakhanov, Myltykbay; Zhakiyev, Bazylbek; Mussin, Nadiar; Haberal, Mehmet. P.289: Retrograde venous reperfusion of the kidney – An experimental study. *Transplantation* 108(9S): September 2024. | DOI: 10.1097/01.tp.0001067952.64313.08.

### **Личный вклад автора**

Диссертантом лично проведена экспериментальная работа и ее анализ. Непосредственно самим автором проводился отбор пациентов в группы исследования, выполнялись клинические осмотры участников, велась вся медицинская документация, формировалась электронная база данных, выполнялась первичная статистическая обработка и анализ полученных результатов исследования. Соискателем разработан и получен патент на изобретение РК («Казпатент») №2021/0443.1от 27.01.2021г. и 2 внедрения в клиническую практику. Автор непосредственно участвовал при проведении всех оперативных вмешательств больным, курировал после операции, обследовал в ближайшем и отдалённом послеоперационном периодах. Соискателем самостоятельно подготовлены все публикации и доклады, написана диссертационная работа.

## Литература

- 1) Qiu L, Zhang ZJ. Therapeutic Strategies of Kidney Transplant Ischemia Reperfusion Injury: Insight From Mouse Models. *Biomed J Sci Tech Res.* 2019;14(5):002617. Epub 2019 Feb 20. PMID: 31093605; PMCID: PMC6513342.
- 2) Cavaille-Coll, M., Bala, S., Velidedeoglu, E., Hernandez, A., Archdeacon, P., Gonzalez, G., Neuland, C., Meyer, J. Albrecht, R. (2013). Summary of FDA workshop on ischemia reperfusion injury in kidney transplantation. *Am J Transplant*, 13(5), 1134-1148. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23566221>. doi:10.1111/ajt.12210
- 3) Pefanis A, Ierino FL, Murphy JM, Cowan PJ. Regulated necrosis in kidney ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int.* 2019 Aug; 96(2):291-301. doi: 10.1016/j.kint.2019.02.009. Epub 2019 Mar 7. PMID: 31005270.
- 4) Jang HR, Rabb H. The innate immune response in ischemic acute kidney injury. *Clin Immunol.* 2009 Jan;130(1):41-50. doi: 10.1016/j.clim.2008.08.016. Epub 2008 Oct 14. PMID: 18922742; PMCID: PMC2646108.
- 5) Yarlagadda SG, Klein CL, Jani A. Long-term renal outcomes after delayed graft function. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2008 Jul;15(3):248-56. doi: 10.1053/j.ackd.2008.04.005. PMID: 18565476.
- 6) Zhao H, Alam A, Soo AP, George AJT, Ma D. Ischemia-Reperfusion Injury Reduces Long Term Renal Graft Survival: Mechanism and Beyond. *EBio Medicine.* 2018 Feb;28:31-42. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.01.025. Epub 2018 Feb 2. PMID: 29398595; PMCID: PMC5835570.
- 7) Redfield RR, Scalea JR, Zens TJ, Muth B, Kaufman DB, Djamali A, Astor BC, Mohamed M. Predictors and outcomes of delayed graft function after living-donor kidney transplantation. *Transpl Int.* 2016 Jan;29(1):81-7. doi: 10.1111/tri.12696. Epub 2015 Oct 26. PMID: 26432507.
- 8) Irish WD, Ilsley JN, Schnitzler MA, Feng S, Brennan DC. A risk prediction model for delayed graft function in the current era of deceased donor renal transplantation. *Am J Transplant.* 2010 Oct;10(10):2279-86. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03179.x. PMID: 20883559.
- 9) Chen R, Wang H, Song L, Hou J, Peng J, Dai H, Peng L. Predictors and one-year outcomes of patients with delayed graft function after deceased donor kidney transplantation. *BMC Nephrol.* 2020 Dec 4;21(1):526. doi: 10.1186/s12882-020-02181-1. PMID: 33276737; PMCID: PMC7716446.
- 10) Legendre C, Canaud G, Martinez F. Factors influencing long-term outcome after kidney transplantation. *Transpl Int.* 2014 Jan;27(1):19-27. doi: 10.1111/tri.12217. Epub 2013 Nov 8. PMID: 24138291.
- 11) Potluri VS, Parikh CR, Hall IE, Ficek J, Doshi MD, Butrymowicz I, Weng FL, Schröppel B, Thiessen-Philbrook H, Reese PP. Validating Early Post-Transplant Outcomes Reported for Recipients of Deceased Donor Kidney Transplants. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016 Feb 5;11(2):324-31. doi: 10.2215/CJN.06950615. Epub 2015 Dec 14. PMID: 26668026; PMCID: PMC4741043.
- 12) Al Otaibi T, Ahmadpoor P, Allawi AA, Habhab WT, Khatami MR, Nafar M, Glotz D. Delayed Graft Function in Living-Donor Kidney Transplant: A Middle Eastern Perspective. *Exp Clin Transplant.* 2016 Feb;14(1):1-11. PMID: 26862818
- 13) Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant.* 2011 Nov;11(11):2279-96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03754.x. Epub 2011 Sep 19. PMID: 21929642; PMCID: PMC3280444.
- 14) Serrano OK, Vock DM, Chinnakotla S, Dunn TB, Kandaswamy R, Pruett TL, Feldman R, Matas AJ, Finger EB. The Relationships Between Cold Ischemia Time, Kidney Transplant Length of Stay, and Transplant-related Costs. *Transplantation.* 2019 Feb;103(2):401-411. doi: 10.1097/TP.0000000000002309. PMID: 29863580.
- 15) Khalkhali HR, Ghafari A, Hajizadeh E, Kazemnejad A. Risk factors of long-term graft loss in renal transplant recipients with chronic allograft dysfunction. *Exp Clin Transplant.* 2010 Dec;8(4):277-82. PMID: 21143092.
- 16) Lim WH, Johnson DW, Teixeira-Pinto A, Wong G. Association Between Duration of Delayed Graft Function, Acute Rejection, and Allograft Outcome After Deceased Donor Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2019 Feb;103(2):412-419. doi: 10.1097/TP.0000000000002275. PMID: 29762458.

- 17) Saat TC, van den Akker EK, IJzermans JN, Dor FJ, de Bruin RW. Improving the outcome of kidney transplantation by ameliorating renal ischemia reperfusion injury: lost in translation? *J Transl Med.* 2016 Jan 20;14:20. doi: 10.1186/s12967-016-0767-2. PMID: 26791565; PMCID: PMC4721068.
- 18) Menting TP, Wever KE, Ozdemir-van Brunschot DM, Van der Vliet DJ, Rovers MM, Warle MC. Ischaemic preconditioning for the reduction of renal ischaemia reperfusion injury. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Mar 4;3(3):CD010777. doi: 10.1002/14651858.CD010777.pub2. PMID: 28258686; PMCID: PMC6464274.
- 19) Cheungpasitporn W, Khoury NJ, Thongprayoon C, Craici IM. Is Remote Ischemic Conditioning of Benefit to Patients Undergoing Kidney Transplantation? *J Invest Surg.* 2019 Jan;32(1):72-74. doi: 10.1080/08941939.2017.1380090. Epub 2017 Oct 12. PMID: 29023177.
- 20) Wei Q, Dong Z. Mouse model of ischemic acute kidney injury: technical notes and tricks. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012;303(11):F1487-F1494. doi:10.1152/ajprenal.00352.2012.
- 21) Doulamis IP, Guariento A, Saeed MY, et al. A Large Animal Model for Acute Kidney Injury by Temporary Bilateral Renal Artery Occlusion. *JVisExp.* 2021;(168):10.3791/62230. Published 2021 Feb 2. doi:10.3791/62230.
- 22) Hesketh EE, Czopek A, Clay M, et al. Renal ischaemia reperfusion injury: a mouse model of injury and regeneration. *JVisExp.* 2014;(88):51816. Published 2014 Jun 7. doi:10.3791/51816.
- 23) Schick MA, Isbary TJ, Schlegel N, Brugger J, Waschke J, Muellenbach R, Roewer N, Wunder C. The impact of crystalloid and colloid infusion on the kidney in rodent sepsis. *Intensive Care Med.* 2010 Mar;36(3):541-8. doi: 10.1007/s00134-009-1704-0. Epub 2009 Nov 5. PMID: 19890625.
- 24) Chadban SJ, Ahn C, Axelrod DA, Foster BJ, Kasiske BL, Kher V, Kumar D, Oberbauer R, Pascual J, Pilmore HL, Rodrigue JR, Segev DL, Sheerin NS, Tinckam KJ, Wong G, Knoll GA. KDIGO Clinical Practice Guideline on the Evaluation and Management of Candidates for Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2020 Apr;104(4S1 Suppl 1):S11-S103. doi: 10.1097/TP.0000000000003136. PMID: 32301874.
- 25) Shaffi K, Uhlig K, Perrone RD, Ruthazer R, Rule A, Lieske JC, Navis G, Poggio ED, Inker LA, Levey AS. Performance of creatinine-based GFR estimating equations in solid-organ transplant recipients. *Am J Kidney Dis.* 2014 Jun;63(6):1007-18. doi: 10.1053/j.ajkd.2014.01.436. Epub 2014 Apr 2. PMID: 24703720; PMCID: PMC4113340.