

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л.Пиневиц

 201 9 г.

Регистрационный № 138-1119

**МЕТОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ НАЧАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕЧНОГО
АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ
ПЕРИОДЕ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический
центр радиационной медицины и экологии человека»,

АВТОРЫ:

К.м.н. Зыблева С.В., к.м.н., доцент Зыблев С.Л., д.м.н., доцент Рожко А.В.,
Козарь И.Н.

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкции) изложен метод прогнозирования функции ренального аллотрансплантата при трансплантации почки на основании оценки иммунологических активационных маркеров в регионарных лимфатических узлах донорского органа. Данный метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику и лечение реципиентов почечного аллотрансплантата в посттрансплатационном периоде. Предназначена для врачей-специалистов: врачи-трансплантологи, врачи-иммунологи, врачи лабораторной диагностики, врачи-нефрологи, и иные специалисты, оказывающих медицинскую помощь пациентам с хронической болезнью почек в стационарных условиях при трансплантации почки.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, РЕАКТИВОВ И Т.Д.

1. Набор инструментов для диссекции тканей (пинцет, ножницы);
2. Стерильный контейнер;
3. 5 мл 0,9%-го раствора хлорида натрия;
4. Бумажный фильтр стерильный с диаметром пор 25 мкм;
5. Раствор PBS;
6. Наборы моноклональных антител;
7. Лизирующий раствор;
8. Дистиллированная вода;
9. Пробирки для проточного цитофлюориметра;
10. Пробирки стерильные объемом 10 мл;
11. Стерильная пипетка;
12. Стеклоанный гомогенизатор;
13. Центрифуга лабораторная;
14. Вортекс;

15. Одноканальные дозаторы переменного объема 1-5мкл, 2-20мкл, 10-100мкл, 100-1000мкл;

16. Наконечники 1-200мкл, 100-1000мкл;

17. Лазерный проточный цитофлюориметр.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Прогноз начальной функции ренального трансплантата у пациентов с хронической болезнью почек (N18) при трансплантации почки.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

- Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Этапы проведения исследования:

1. Этап получения лимфоцитарного диагносткума:

1.1. Во время операции трансплантации почки на этапе подготовки трансплантата к пересадке выделяют из донорского материала парааортальные лимфатические узлы и помещают в стерильный контейнер.

1.2. Лимфатические узлы, доставленные в лабораторию, доводят до однородной массы в 5 мл стерильного физиологического раствора стеклянным гомогенизатором с целью максимального сохранения клеточных структур. Для удаления крупнодисперсных частиц, полученный образец пропускают через стерильный бумажный фильтр с диаметром пор 25 мкм.

1.3. Взвесь полученных клеток отмывается двукратно в растворе PBS методом центрифугирования. В промаркированные пробирки для проточного цитометра с внутренним мыском вносят 100 мкл клеточной

взвеси и добавляют моноклональные антитела, меченные различными флуорохромами, согласно панели исследования в объёмах рекомендованных фирмой-производителем с определением количества Т-лимфоцитов (CD3⁺ клетки), экспрессирующих активационные рецепторы HLA-DR.

1.4. Образцы перемешивают на вортексе и инкубируют 20 минут в темноте при комнатной температуре. После инкубации в пробирки вносят по 100 мкл лизирующего раствора, содержащего 3,4% формальдегида.

1.5. Тщательно перемешанные на вортексе образцы, инкубируют 10 минут в темноте при комнатной температуре. В пробирки вносят по 1 мл дистиллированной воды. Образцы перемешивают на вортексе и инкубируют 10 минут при комнатной температуре без доступа света, затем исследуют на проточном цитофлуориметре.

1.6. Оценивают количество Т-лимфоцитов (CD3⁺ клетки), экспрессирующих рецепторы HLA-DR в образце.

1.7 Интерпретация результатов исследования.

Выполняется расчет вероятности развития дисфункции почечного трансплантата:

$$P=1/(1+\text{Exp}(-1,62+0,079*X))$$

X-уровень CD3⁺HLA-DR⁺ лимфоцитов в лимфоцитарной взвеси.

P= вероятность развития дисфункции почечного трансплантата.

При P>0,5 – вероятно развитие дисфункции почечного трансплантата более 50%.

В качестве оптимального порога отсечения, выше которого риск развития дисфункции почечного трансплантата составляет более 50%, является уровень CD3⁺HLA-DR⁺ более 20,7%

Данная методика позволяет оценивать влияние донор-ассоциированных факторов на функцию почечного трансплантата в

послеоперационном периоде, что может быть использовано в комплексном подходе определения тактики ведения пациентов с хронической болезнью почек при органной трансплантации с целью индивидуализации схем лечения.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

При правильном использовании метода ошибки в оценке результатов исключены.