

D-ДИМЕР КАК МАРКЕР ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ И ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Ю.Г. Горшкова

АО «ВИТАЛ ДЕВЕЛОПМЕНТ КОРПОРЭЙШН», г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Определение концентрации D-димера служит наиболее достоверным тестом, свидетельствующим об активации процессов свертывания крови в результате повреждения тканей или развития вызывающих тромботические осложнения заболеваний. Повышенное содержание D-димера является показателем гиперактивации системы коагуляции, а его концентрация в плазме крови выше порогового уровня – признаком развития тромботических осложнений. В статье рассматривается применение различных лабораторных тестов для определения D-димера.

Ключевые слова: D-димер, лабораторная диагностика, иммунотурбидиметрический метод анализа, латексная иммунотурбидиметрия, диагностика венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО).

DOI: 10.58953/15621790_2023_14_3-4_69

D-DIMER AS A MARKER OF HYPERCOAGULATION AND VENOUS THROMBOEMBOLIC DISEASE COMPLICATIONS

J.G. Gorshkova

Vital Development Corporation, St. Petersburg, Russia

Summary

Quantitative determination of D-dimer concentration is the most reliable test to confirm blood clotting process activation as a result of tissue damage or development of diseases causing venous thrombosis or thromboembolism (VTE). The increased D-dimer level is an indicator of the coagulation system hyperactivation, and its concentration above threshold level is a marker of venous thrombotic complications. This article describes several D-dimer assay methods and the laboratory application of these methods.

Keywords: D-dimer; laboratory diagnostics; immunoturbidimetric assay; latex immune assay testing; diagnostics of venous thromboembolism (VTE).

Введение

Актуальность проблемы диагностики венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО), к которым относятся тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоз подкожных вен и тромбоэмболия легочных артерий (ТЭЛА), обусловлена их высоким потенциальным риском для здоровья и жизни пациента. Непосредственную угрозу жизни пациента несет тромбоэмболия легочных артерий, которую отличает весьма быстрое развитие и тяжелое течение, в связи с чем большое значение приобретает своевременная диагностика и безотлагательное назначение эффективной терапии [8].

Венозный тромбоз может произойти при нарушении кровообращения (застой крови), повреждении эндотелия сосудистой стенки, повышенной способности крови к образованию тромба (гиперкоагуляция), а также при сочетании этих причин. Главную роль в образовании тромба играет активация процессов свертывания крови. Существует множество факторов риска, провоцирующих активацию этих процессов, различающихся по значимо-

сти: одни с большей, другие с меньшей вероятностью приводят к развитию венозных тромбоэмболических осложнений [8]. Одним из признаков активации процессов свертывания крови является повышение уровня D-димера в плазме крови при остром тромбозе, которое происходит из-за одновременной активации коагуляции и фибринолиза. Присутствие D-димера указывает на образование и разрушение фибринового сгустка внутри сосудистого русла [3].

D-димер и его применение в диагностике

D-димер – продукт протеолитической деградации фибрина, образующийся при распаде поперечно сшитого фибрина под действием плазмина в ходе процесса гемостаза; D-димер так назван, потому что этот небольшой белковый фрагмент состоит из двух D-фрагментов фибрина, соединенных D-D ковалентной связью. Молекула D-димера имеет два D-домена (и молекулярную массу 180–196 кДа или 340 кДа) [13, 15]. определение

его концентрации служит наиболее достоверным тестом, свидетельствующим об активации процессов свертывания крови в результате повреждения тканей или развития вызывающих тромботические осложнения заболеваний [10, 12].

D-димер является именно продуктом фибринолитической деградации поперечно сшитого фибрина-полимера; образоваться в результате димеризации фибрина-мономера он не может. Это главное обстоятельство, которое определяет диагностическую и прогностическую значимость данного маркера. Рост уровня D-димера наблюдается при нарушениях системы коагуляции (гиперкоагуляции) крови, в том числе, при тромбозе глубоких вен нижних конечностей, тромбоэмболии легочной артерии, ДВС-синдроме [4].

В каких случаях происходит повышение уровня D-димера?

Повышенное содержание D-димера в плазме крови встречаются довольно часто, при многих патологических состояниях: помимо венозной тромбоэмболии (ВТЭ), оно наблюдается при артериальных тромбозах (в том числе при инфарктах и инсультах), злокачественных новообразованиях, послеоперационных состояниях, заболеваниях печени, у стационарных пациентов, при тяжелых инфекционных или воспалительных заболеваниях, при гиперкоагуляции, связанной с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, при нефрологических заболеваниях, серповидноклеточной анемии, а также во время беременности [1, 5, 8, 10].

Применение D-димера в клинической практике

В клинической практике определение концентрации D-димера в плазме крови используется для исключения вероятности тромботических состояний, в частности, тромбоэмболии легочной артерии, для оценки риска развития и мониторинга ДВС-синдрома, а также для определения длительности терапии антикоагулянтами [2].

Отрицательная прогностическая ценность определения D-димера высока, нормальный уровень D-димера делает маловероятным наличие острой тромбоэмболии легочной артерии или тромбоза глубоких вен [9]. С другой стороны, положительная прогностическая ценность повышенных уровней D-димера низкая, поэтому определение уровня D-димера бесполезно для верификации наличия тромбоэмболии легочной артерии, для этого используются инструментальные методы диагностики. Определение D-димера используют для:

- Исключения ТГВ и ТЭЛА (кроме беременных);
- Диагностики и мониторинга ДВС-синдрома;
- Диагностики патологий беременности;
- Определения длительности антикоагулянтной

терапии.

Поскольку D-димер — чувствительный, но неспецифичный тест, его применение позволяет с высокой вероятностью исключить наличие тромботических осложнений, если его концентрация ниже пороговой величины, а также следить за динамикой состояния пациентов и регулировать дозировку антикоагулянтов во время лечения [3, 5].

Преимущества измерения D-димера состоит в том, что только молекулы D-димеров, имеющие ковалентную связь, являются довольно однородным пулом олигопептидов, поэтому к ним были созданы моноклональные антитела [7]. Другие продукты деградации фибрина и растворимые фибрин-мономерные комплексы содержат большое число белков и белковых комплексов различной молекулярной массы и состава, что затрудняет создание высоко точных и специфичных тест-систем на их основе.

Разработка реагентов на основе моноклональных антител к D-димеру открыла новые возможности для изучения гемостаза и фибринолиза. Моноклональные антитела позволяют измерять содержание растворимых фрагментов фибрина в плазме крови даже в присутствии фибриногена и продуктов его деградации. Это особенно важно при диагностике венозной тромбоэмболии (ВТЭ) и синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома) [2, 13].

Методы анализа D-димера

Количественные методы определения D-димера основаны на его взаимодействии с моноклональными антителами к специфическим антигенным детерминантам в D-доменах. Специфические антитела связываются только с D-димерами, содержащими D-D ковалентные связи, но не реагируют с фибриногеном и растворимыми мономерами фибрина. Таким образом, D-димеры, определяемые в плазме крови пациента — показатель расщепления фибрина, но не фибриногена и фибрин-мономеров.

Для определения D-димера в клинико-диагностических лабораториях используются чаще всего количественные тесты, но могут применяться качественные и полуколичественные экспресс-тесты.

Количественные методы (плазма крови):

- Микропланшетный ИФА;
 - ИФА + Иммунофлуоресценция;
 - иммунохемилюминесценция;
 - иммунотурбидиметрия
- Качественные и полуколичественные методы (кровь или плазма крови):
- реакция агглютинации эритроцитов;
 - реакция агглютинации латексных частиц

Достоинства визуальных тестов известны: они бы-

стры, удобны и дешевы; не требуют сложного оборудования, но их недостатки являются довольно существенными для расширения области их применения:

- субъективная оценка результата;
- меньшая чувствительность по сравнению с автоматизированными методами;
- могут быть рекомендованы только для обнаружения повышенных концентраций D-димера, наблюдаемых при ДВС-синдроме, тромбозисе или других состояниях, но для исключения диагноза «Венозные тромбозические осложнения» их результаты использовать НЕЛЬЗЯ.

Количественные высокочувствительные тесты на D-димер являются более предпочтительными для исключения венозных тромбозических осложнений (ВТЭО), что позволяет минимизировать количество ложноотрицательных результатов при постановке диагноза.

Преимущества иммунотурбидиметрии

Среди количественных методов анализа наибольшие преимущества предоставляет иммунотурбидиметрический метод с латексным усилением, который отличает:

- высокая чувствительность и достаточно высокая специфичность;
- быстрое получение результата, тест может быть использован для анализа в режиме реального времени (~15 мин);
- не требует отдельного специального оборудования, подходят полуавтоматические и автоматические биохимические анализаторы или коагулометры.

Метод дает достоверные и воспроизводимые результаты.

Особенности использования теста D-димера для отдельных категорий пациентов

Содержание D-димера во время беременности существенно увеличивается и достигает максимума в III триместре, к моменту родов уровень D-димера может превышать исходный в 3–4 раза. Значительное (в 5–10 раз) повышение уровня D-димера наблюдается при патологиях беременности. Применять определение D-димера для исключения венозных тромбозических осложнений ВТЭО у беременных можно только в случае установленных и валидированных референсных значений по триместрам применительно к используемому в лаборатории набору реагентов. [1]

Уровень D-димера обычно с возрастом увеличивается, при этом специфичность определения концентрации D-димера при подозрении на ТЭЛА постоянно снижается. Использование скорректированных по возрасту пороговых значений улучшает специфичность тестирования для определения уровня D-димера у пожилых людей и позволяет снизить число ложноположитель-

ных диагнозов и неоправданных назначений инструментальных обследований. Для пациентов старше 50 лет пороговое значение D-димера рекомендуется определять по формуле:

Возраст пациента (годы) \times 10 мкг/л (нг/мл). [8]

Данную расчетную величину предложено называть возрастным порогом (age adjusted cut-off). Возрастной порог повышает специфичность определения D-димера и увеличивает число пациентов с исключенным диагнозом ВТЭО. [11]

Особенности анализа D-димера: можно ли сравнивать результаты определения D-димера, полученные разными методами?

При количественном измерении D-димера в одном и том же образце наборами реагентов разных производителей получают различные результаты, сравнивать которые некорректно по следующим причинам:

1. **Тест пока не имеет международной стандартизации** (существуют только международные рекомендации по использованию количественного анализа D-димера для исключения диагноза «Венозная тромбозическая» [14].

Причины затруднения стандартизации методов измерения концентрации D-димера:

- неоднородность анализируемого материала (смеси содержащих их фибриновых фрагментов различной молекулярной массы),
- различная аффинность/авидность и специфичность моноклональных антител, используемых для анализа – существует множество наборов разных производителей для определения D-димера.
- различия калибраторов, используемых для калибровки реагентов и измерительной аппаратуры.

2. **Отсутствует** Международный Референсный Материал (International Reference Preparation)

3. **В различных методах используют разные единицы измерения**

D-димер определяется в единицах массовой концентрации, и, по мере внедрения данного теста в практику, было принято два разных типа единиц измерения D-димера: фибриноген-эквивалентные единицы (ФЭЕ), fibrinogen equivalent unit (FEU), для молекулярной формы D-димера в комплексе с фрагментом E, с массой 340 кДа, и Единицы D-димера, D-dimer unit (DDU), с молекулярной массой 195 kDa [15].

- Единицы D-димера, D-Dimer Units (DDU) используются для методов с применением очищенного D-димера в качестве калибратора.

- Фибриноген-эквивалентные единицы (ФЭЕ), Fibrinogen Equivalent Unit (FEU) применяются для методов с использованием в качестве калибратора продуктов деградации фибрина, образующихся под действием пламина.

Таблица 1.

Сравнительные характеристики наборов реагентов для количественного анализа D-димера

Производитель	Диапазон измерений, мкг FEU/мл	Нормальные величины, мкг FEU/мл
Витал Девелопмент Корпорэйшн	0,5–20	< 0,5
DiaSys	0,2–8,7	< 0,5
Abbott Laboratories (ИФА)	0,05–9	< 0,5
Beckman Coulter	0,25–8	< 0,5
MINDRAY	0,5–48	≤ 1,0
Siemens	0,17–4,4	< 0,5
Экспресс Мануфактура	0,5–30	< 0,5

• Приблизительно 2 нг/мл ФЭЕ = 1 нг/мл D-димера. Однако математический пересчет единиц D-димера в ФЭЕ путем умножения на фактор 2 неприемлем!

• Размерность единиц указывается производителем тест-системы (нг/мл, мкг/л), так же, как и пороговые значения D-димера для исключения венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО).

• Универсальных пороговых значений для всех методов анализа D-димера не существует!

• Лаборатория должна сообщать клиницисту единицы

Таблица 2.

Результаты анализа D-димера в различных контрольных материалах наборами реагентов трех разных производителей на автоматическом биохимическом анализаторе VitaLine-150 (АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»)

Контрольные материалы ожидаемые значения			ВИТАЛ		DiaSys*		Экспресс Мануфактура	
Фирма	Контроль	Значение, мкг/мл	Сред.	% откл.	Сред.	% откл.	Сред.	% откл.
ВИТАЛ	Уровень 1	3,2(2,56–3,84)	3,555	11,1	1,188	-62,9	6,21	94,1
	Уровень 2	7,6(6,08–9,12)	7,953	4,6	0,372	-95,1	14,89	95,9
Siemens	Control 1	0,3(0,24–0,36)	0,247	-17,8	0,161	-46,2	-	-
	Control 2	2,49(1,99–2,99)	2,017	-19,0	0,559	-77,6	-	-
DiaSys	Level 1	1,28(1,02–1,54)	3,738	192,0	1,220	-4,7	-	-
	Level 2	4,58(3,66–5,50)	14,709	221,2	4,254	-7,1	-	-
Компания А	Control 1	1,5(1,2–1,8)	0,872	-41,8	0,178	-88,1	1,98	32,0
	Control 2	3,0(2,4–3,6)	1,642	-45,3	0,411	-86,3	3,84	28,0
Компания В	Level 1	0,518(0,389–0,648)	0,000	100	3,820	637,5	1,14	120,3
	Level 2	1,154(0,865–1,442)	0,000	100	1,639	42,0	2,51	117,8

Примечания. * Данные были получены в ЛПУ, анализ проводился на указанном анализаторе. Сред. – среднее значение; % откл. – отклонение от центрального значения, %

измерения и пороговую величину, установленные производителем для конкретного теста. Если концентрация D-димера в плазме меньше указанных пороговых значений, то наличие тромбоза у больного можно исключить.

Принцип определения концентрации D-димера иммунотурбидиметрическим методом. Исследуемые образцы смешивают с буфером и латексом, сенсибилизированным моноклональными антителами к D-димеру человека. D-димер, содержащийся в образце, реагирует с закрепленными на латексеантителами, и мутность суспензии увеличивается. Концентрация D-димера в исследуемых образцах прямо пропорциональна вели-

чине оптической плотности, измеряемой фотометрически, значение концентрации определяется по нелинейному калибровочному графику.

Характеристики наборов (по данным производителей [6]) приведены в таблице 1.

Хотя диапазоны измерений и различаются, пороговые значения почти для всех тест-систем (кроме MINDRAY) одинаковые, однако полученные результаты анализа контрольных материалов разных производителей различными тест-системами сильно отличаются от ожидаемых (таблица 2).

Полученные данные подтверждают некорректность сравнения результатов определения концентрации D-димера тест-системами разных производителей.

Повышение качества диагностики, лечения и профилактики венозных тромбозных осложнений позволяет спасти жизни тысяч людей, благодаря предотвращению тяжелых заболеваний, приводящих к инвалидности. Точный и своевременный анализ D-димера способствует решению этой проблемы.

Список литературы

1. Андреева М. Д. Клиническое значение определения маркеров тромбофилии у пациенток с осложненным течением беременности в анамнезе. *Журнал акушера и женских болезней*. – 2015. – №2. – С. 13-17.

2. Багрова И. В., Кухарчик Г. А., Серебрякова В. И., Константинова И. В., Капутин М. Ю. Современные подходы к диагностике тромбоза легочной артерии. // *Флебология*. – 2012. – № 4. – С.35-42.

3. Васильев С. А., Виноградов В. Л., Берковский А. Л., Маркова М. Л. D-димер – диагностический и прогностический маркер тромботических заболеваний (ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва) <https://cyberleninka.ru/article/n/d-dimer-diaagnosticheskiy-i-prognozticheskiy-marker-tromboticheskikh-zabolevaniy/viewer> (дата обращения 30.01. 2024)

4. Воробьев А. И., Васильев С. А., Городецкий В. М., Шевелев А. А., Горгидзе Л. А., Кременецкая О. С., Шкловский-Корди Н. Е. Гиперкоагуляционный синдром: классификация, патогенез, диагностика, терапия. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(3) DOI 10.18821/0234-5730-2016-61-3-116-122 (дата обращения 30.01. 2024)

5. Воробьева Н. А., Воробьева А. И. Прогностическая значимость D-димера при COVID-19. *Проблемы стандартизации в здравоохранении*. – 2021. – № 5-6. – С.36-42. DOI: 10.26347/1607-2502202105-06036-042

6. Инструкции по применению наборов реагентов для анализа D-димера «D-ДИМЕР-ВИТАЛ» (АО «Витал Девелопмент Корпорейшн», Россия), «ЭкспрессМ-D-димер Турби» (ООО «Экспресс Мануфактура», Россия), «АхСЫМ® D-dimer» (Иммуноферментный анализ) производства Abbott Laboratories Inc. (США), «D-Dimer» («Beckman Coulter», США), «D-Dimer Kit (Particle-enhanced Immunoturbidimetric Assay Method)» («MINDRAY», КНР), «D-Dimer FS» («DiaSys Diagnostic Systems GmbH», Германия), «INNOVANCE D-Dimer» (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Германия).

7. Кишкун А. А. *Лабораторная диагностика неотложных состояний*. Лабора, Москва, 2012. – С.271-279.

8. РОССИЙСКИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ, ЛЕЧЕНИЮ И ПРОФИЛАКТИКЕ ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ (ВТЭО). Координаторы проекта: академик РАН Л. А. Бокерия; академик РАН И. И. Затевахин; академик РАН А. И. Кириенко // *Флебология*. – 2015. – том 9, выпуск 2, 52 стр.

9. Шидловская С. А., Гиляров М. Ю., Богданова А. А., Громыко Г. А., Гогниева Д. Г., Кучина А. Ю., Суворов А. Ю. D-димер как маркер гиперкоагуляции у пациентов с фибрилляцией предсердий. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*, 2019, Т. 12, № 3, с. 222-226 <https://doi.org/10.17116/kardio201912031222>

10. Asakura H., Ogawa H. "COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation // *International Journal of Hematology*. – 2020. V.113. – P. 45-57. doi:10.1007/s12185-020-03029-y. ISSN 0925-5710. PMC 7648664. PMID 33161508

11. Douma R., le Gal G., Söhne M. et al. Potential of an age adjusted D-dimer cut-off value to improve the exclusion of pulmonary embolism in older patients: a retrospective analysis of 3 large cohorts//*BMJ*. 2010; 340 (mar 30 3): с.1475doi: 10.1136/bmj.c1475 (дата обращения 30.01. 2024)

12. Khan F., Tritschler T., Kahn S. et al. Venous thromboembolism// *The Lancet*. – 2021. – V. 398 – P. 64-77. doi:10.1016/s0140-6736(20)32658-1. ISSN 0140-6736. PMID 33984268. S2CID 234497047

13. Kogan A., Mukharyamova K., Bereznikova A. et al. HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4935535" Monoclonal antibodies with equal specificity to D-dimer and high-molecular-weight fibrin degradation products//*Blood Coagulation & Fibrinolysis*. – 2016. – V.27. – P.542-550. doi:10.1097/MBC.0000000000000453. PMC 4935535. PMID 26656897

14. Olson J., Adcock D., Bush T., et al. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Quantitative D-Dimer for exclusion venous thromboembolic disease// Approved Guideline. H-59A, 2011, 31 (6), 1-31.*

15. Olson J., Cunningham M., Higgins R., Eby C., Brandt J. D-dimer: simple test, tough problems// *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. – 2013. – V.137 (8). – P. 1030-1038. doi:10.5858/arpa.2012-0296-CP. PMID 23899057