



D-димер как маркер тромбообразования и его применение в клинической практике

Лабораторный тест для определения D-димера по частоте измерений является одним из самых востребованных в практическом исследовании системы свертывания крови. Он занимает четвертое место по количеству назначений после протромбинового времени (ПВ), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и фибриногена.

С момента открытия D-димера (1970-е годы) и начала его применения в клинической практике (1990-е годы) анализ крови на D-димер прочно вошел в арсенал часто используемых тестов врачами многих специальностей для диагностики заболеваний, связанных с патологическим тромбообразованием. D-димер является конечным продуктом такого жизненно важного для организма процесса, как фибринолиз. В 1893 г. термин «фибринолиз» предложил использовать французский физиолог Dastre, а в 1905 г. ученый из Германии Morawitz высказал предположение, что в фибринолизе принимают участие некоторые ферменты. Это в 1959 г. подтвердил доктор Sherry (США), который доказал, что активатором фибринолиза является плазмин, образующийся из его предшественника — плазминогена. В 1973 г. одновременно две исследовательские группы сообщили об обнаружении уникального фрагмента, полученного при гидролитическом расщеплении белка фибрина ферментом плазмином в сыворотке человека. Позже этот фрагмент получил название D-димер и его начали использовать в качестве инструмента для диагностики различных заболеваний. Многие клинические состояния характеризуются увеличением концентрации D-димера в плазме крови (табл. 1).

Механизм образования D-димера

В настоящее время для диагностики тромбоза используются продукты расщепления фибриногена (рис. 1). Фибриноген при действии тромбина образует мономеры фибрина путем расщепления двух небольших фрагментов — фибринопептидов А и В. Во время этого процесса отрицательный заряд Е фибриногена (красные кружочки) преобразуется в положительный заряд, что позволяет спонтанно полимеризоваться мономерам фибрина в полимер, который стабилизируется водородными связями. Тромбин также активирует фактор XIII (фермент трансглутаминаза), который стабилизирует исходный полимер фибрина путем каталитического образования сшитых ковалентных связей между соседними D-доменами (зеленые кружочки). Под действием тканевого активатора плазминогена (t-PA), являющегося сериновой протеазой, из неактивного плазминогена образуется активный плазмин, который расщепляет фибрин на множество мелких фрагментов — продукты деградации фибрина (ПДФ). D-димер, образованный из двух смежных сшитых мономеров, является одним из основных ПДФ. В отличие от конечных продуктов расщепления фибриногена, которые представлены в виде отдельных фрагментов D и E, при расщеплении поперечно-сшитых фактором XIII волокон фибрина образуются более крупные фрагменты — D-димеры, тримеры D-E-D, поскольку плазмин не способен расщеплять ковалентную связь между D-доменами.

Таким образом, действие фибринолитической системы направлено на лизис фибрина, а при чрезмерной активации — и фибриногена. В результате образуется смесь продуктов деградации фибрина/фибриногена. ДФ — это крупные

фрагменты (D-димеры и тримеры), а продукты деградации фибриногена — отдельные олигопептиды с небольшой молекулярной массой. Только продукты деградации поперечно-сшитого фибрина содержат D-димеры. При этом действует правило:

Сгусток + фибринолиз = D-димер образуется
Нет сгустка + фибринолиз ≠ D-димер не образуется

D-димер относится как к маркерам активации свертывания и фибринообразования, так и к маркерам активации фибринолиза. Период полужизни D-димера составляет примерно 8 часов, клиренс осуществляется через почки и ретикуло-эндотелиальную систему. Определение D-димера является наиболее распространенным лабораторным маркером активации свертывания и фибринолиза.

Методы определения D-димера

1. Качественные и полуколичественные:

- реакция агглютинации латексных частиц (плазма);
- количественные:
 - иммунохроматография; Point-of-Care (диагностика по месту лечения);
 - ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay; ферментсвязанный иммуносорбентный метод);
 - иммунодиффузия на порозных мембранах;
 - иммунотурбидиметрия.

Краткая характеристика методов

1. Методы определения D-димера, основанные на латексной агглютинации.

К плазме, содержащей D-димер, добавляют латексные шарики, покрытые моноклональными антителами против D-димера, и отмечают время появления макроскопической агглютинации на предметном стекле. Это недорогие и легко выполнимые исследования. Они имеют умеренную чувствительность, но более высокую специфичность по отношению к тромбозу глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА).

2. Метод иммунохроматографии.

Относительная нечувствительность тестов латексной агглютинации стала

причиной разработки более чувствительных тестов, основанных на иммунохроматографической экспресс-диагностике. Этот метод сочетает в себе скорость проведения исследования (от 2 мин) с высокой чувствительностью. Отмечена особая ценность иммунохроматографического метода при ТГВ.

3. Метод ELISA.

Этот метод имеет высокую чувствительность, но относительно низкую специфичность, что в значительном числе случаев ассоциировано с ложно положительными результатами. Метод заключается в добавлении в лунки микропланшетов, покрытых антителами к D-димеру исследуемой плазмы. После инкубации вносят меченые ферментом антитела и после окончания реакции производят колориметрическое измерение. Метод ELISA является трудоемким, занимает много времени, а также требует специального оборудования, что делает его непрактичным для рутинного использования в клинической практике.

4. Иммунодиффузия на порозных мембранах.

За последние годы были разработаны иммуноферментные методы определения D-димера, которые позволяют получать результат в течение 10 минут. В них используются порозные мембраны, покрытые антителами, которые захватывают D-димер. Плазму больного фильтруют через мембрану и затем к фильтрату добавляют меченые антитела, чтобы определить связанный D-димер.

5. Иммунотурбидиметрия.

Одним из вариантов латексного метода определения D-димера является метод микролатексной агглютинации, или иммунотурбидиметрический. При добавлении плазмы пациента, содержащей D-димер, к реагенту происходит увеличение оптической плотности раствора, которая прямо пропорциональна концентрации D-димера в исследуемом образце. Коммерческие наборы для определения D-димера разработаны для автоматических анализаторов (биохимических и коагулометров), что позволяет выполнять исследования этого анализа в рутинном режиме.

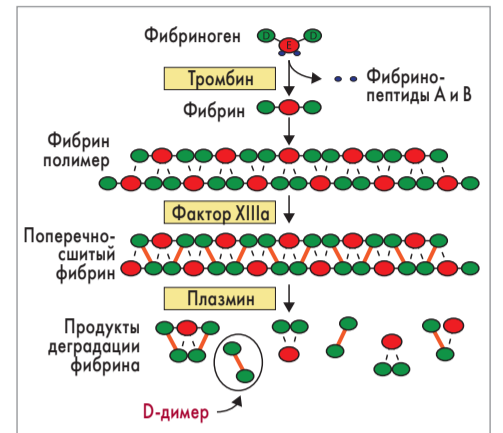


Рис. 1. Механизм образования D-димера

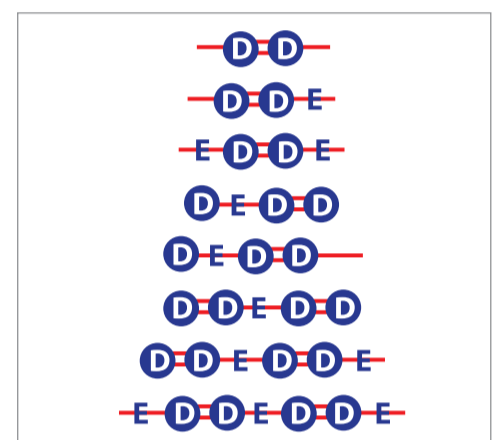


Рис. 2. D-димерный антиген, состоящий из множества фрагментов D и E

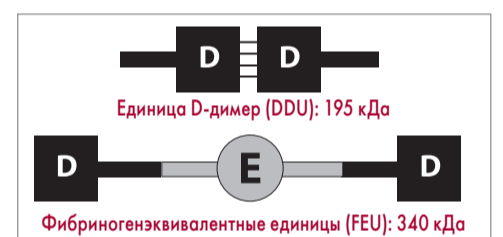


Рис. 3. Два типа единиц для D-димера: DDU и FEU

Два типа единиц измерения D-димера

1. **D-Dimer Units (DDU)** — для методов, использующих очищенный D-димер в качестве калибратора.

2. **Fibrinogen Equivalent Unit (FEU)** — фибриногенэквивалентные единицы; для методов, использующих в качестве калибратора ПДФ, образующиеся под действием плазмينا.

Размерность единиц указывается производителем теста (нг/мл, мкг/мл, мкг/л).

Референтные значения D-димера

Пороговые значения для D-димера в зависимости от единиц измерения:

1. DDU ≤ 0,25 мкг/мл (250 нг/мл или 250 мкг/л);
2. FEU ≤ 0,5 мкг/мл (500 нг/мл или 500 мкг/л).

Числовые значения легко конвертируются друг в друга, так как масса одной единицы FEU равна половине DDU. Например, 0,5 мкг/мл FEU = 0,25 мкг/мл DDU.

Если концентрация D-димера в плазме меньше указанных пороговых значений, то наличие тромбоза у пациента можно исключить.

Ограничения при определении D-димера

Тест на D-димер является нестандартизированным маркером. На сегодня известно около 30 коммерческих тест-систем для определения D-димера, имеющих определенные различия, поскольку каждый производитель устанавливает свой собственный метод стандартизации.

Основными причинами ограничения метода являются:

Таблица 1. Состояния, связанные с повышением уровня D-димера	
Патологические	Непатологические
Состояние после травмы	Курение
Презеклампсия/эклампсия	Возраст (здоровые люди старшего возраста)
Онкопатология	Нормальная беременность
Диссеминированное внутрисосудистое свертывание	Послеоперационное состояние
Серповидно-клеточная анемия	Инвазивные манипуляции
Артериальный и венозный тромбоэмболизм	Малоподвижность или длительная иммобилизация
Фибрилляция предсердий	Длительный прием эстрогенных препаратов
Острый коронарный синдром	
Инсульт	
Острое желудочно-кишечное кровотечение	
Нефротический синдром	
Инфекции, сепсис, воспаление	
Легочная эмболия	
Заболевания почек	
Острая почечная недостаточность	
Заболевания печени	
Инфаркт миокарда	
Стресс	

- использование различных моноклональных антител (более 20), отличающихся по специфичности и чувствительности;
- отсутствие Международного Референтного Стандарта (International Reference Preparation);

- отсутствие стандартного калибратора;
- различные единицы измерения, используемые для различных методов.

Отсутствие стандартизации различных тест-систем для определения D-димера означает, что результаты, референтные интервалы и значения cut-off не могут быть экстраполированы для различных методов. При количественном измерении D-димера одного и того же пациента различными тест-системами получаются различные результаты, сравнивать которые некорректно.

Причины различия в анализах на D-димер

1. D-димерный антиген не является гомогенным, а состоит из соединений, содержащих фрагменты D и E с различной молекулярной массой (рис. 2).

2. При анализе D-димера используются разные антитела, буферы, измерительная техника и стандарты.

Такая вариабельность в типах и единицах измерения D-димера привела к путанице в некоторых лабораториях, особенно когда необходимо было установить порог для исключения венозной тромбоземболии.

Следует помнить, что существует 2 различных типа единиц для D-димера (рис. 3):

- единица D-димер – DDU с м. м. 195 кДа;
- единица эквивалентности фибриногена – FEU с м. м. 340 кДа.

При установлении пороговых значений D-димера для исключения венозной тромбоземболии (ВТЭ) и правильной интерпретации результатов теста крайне важно учитывать единицы измерения.

Методы определения D-димера основаны на его взаимодействии с моноклональными антителами к специфическим эпитопам в D-доменах молекул фибрина. Эти специфические антитела связываются с D-димерами, содержащими D-D ковалентные связи, но не вступают в реакцию с фибриногеном и растворимыми фибрин-мономерными комплексами (РФМК). D-димер, обнаруживаемый в плазме, – это ПДФ, но не фибриногена и РФМК.

Клиническая значимость D-димера

Измерение уровня D-димера показано с целью:

- исключения ВТЭ;
- диагностики и мониторинга диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома);
- определения длительности антикоагулянтной терапии.

Необходимость определения D-димера остается дискуссионной при оценке:

- прогноза течения заболеваний сердечно-сосудистой системы;
- вероятности неблагоприятных исходов беременности;

- риска тромбоземболии при других патологиях.

Венозный тромбоземболизм

ВТЭ является собирательным понятием, объединяющим такие патологии, как ТГВ и ТЭЛА. Образование тромба в сосудистом русле всегда приводит к активации фибринолиза и появлению в крови ПДФ. Чувствительность определения D-димера в диагностике ВТЭ очень высокая – 90-100%. Этот анализ проводится для подтверждения наличия тромбоза. При оценке результатов исследования следует учитывать то, что повышение уровня D-димера в крови только указывает как на образование фибрина, так и на лизис фибринового сгустка, однако не предоставляет ответа на вопрос, в каком отделе сосудистого русла, в каком объеме и по какой причине он возник; в каждом конкретном случае это определяют с помощью клинических и визуализационных методов (в частности, доплерометрии). Уровень D-димера при ТЭЛА практически не зависит от локализации тромба. Тест на D-димер отличается высокой негативной прогностической точностью – 97-100%. Отрицательный результат анализа практически всегда свидетельствует об отсутствии тромбов в кровеносном русле.

Существуют определенные ограничения относительно использования D-димера при ВТЭ (табл. 2).

Необходимо отметить, что результат теста на D-димер может быть отрицательным при ТЭЛА, если тромб образовался давно (≥ 2 нед) или имеет очень маленький размер. Может наблюдаться ложное возрастание уровня D-димера при наличии высокого титра IgM. В случае превышения порогового значения необходимо подтверждение диагноза с помощью доплерометрии, спиральной компьютерной томографии или контрастной венографии. Еще одним стратегическим подходом в диагностике ВТЭ является использование клинико-анамнестических шкал (шкала Wells).

ДВС-синдром

ДВС-синдром характеризуется системной активацией системы гемостаза с внутрисосудистым свертыванием и усилением фибринолиза. Если пациенты не получают соответствующего лечения, это приводит к истощению количества тромбоцитов, факторов и ингибиторов свертывания крови, в результате чего могут возникать жизнеугрожающее кровотечение и/или тромбоз. ДВС-синдром чаще наблюдается у пациентов с инфекционными воспалительными заболеваниями, злокачественными новообразованиями, травмами или акушерской патологией.

ISTH (International Society of Thrombosis and Haemostasis) гармонизировал руководство по диагностике и лечению ДВС-синдрома. D-димер включен в руководство ISTH как рекомендуемый лабораторный тест для оценки тромбообразования и фибринолиза у пациентов с ДВС-синдромом.

Антикоагулянтная терапия

Антикоагулянты непрямого действия

После окончания курса лечения антикоагулянтами непрямого действия (АНД) у пациентов (в том числе пожилых) количественное определение уровня D-димера дает ценную информацию для оценки индивидуального риска ВТЭ. При использовании статистических методов были определены зависимые от возраста пороговые уровни (cut-off) D-димера в отношении риска ВТЭ, составляющие при использовании различных тест-систем 250-700 мкг/л (при измерении концентрации в FEU) для пациентов <70 лет и 450-1000 мкг/л (FEU) – >70 лет (рис. 4).

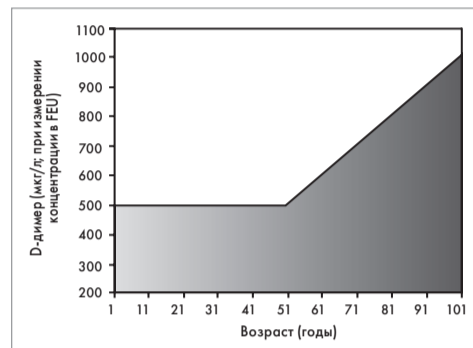


Рис. 4. Пороговые уровни D-димера в зависимости от возраста

Через 30 дней после отмены варфарина нормальный уровень D-димера имел очень высокую отрицательную прогностическую ценность в отношении рецидива ВТЭ, особенно у пациентов с врожденной тромбофилией или впервые развившимся спонтанным тромбозом, а повышенные уровни D-димера соответствовали более высокому риску ВТЭ.

При этом отрицательный результат теста на D-димер через 2 нед после окончания 3-месячного курса лечения варфарином был связан с 3,5%, а положительный – с 8,9% риском повторного ВТЭ в течение года. Эти данные свидетельствуют о важной роли D-димера в определении оптимальной длительности курса лечения АНД для профилактики рекуррентных венозных тромбозов.

Гепаринотерапия

Эффективность гепаринотерапии определяется изменением уровня D-димера в динамике. Снижение концентрации D-димера свидетельствует о правильно подобранной дозе гепарина у пациентов с активацией гемостаза любой этиологии. Тест также информативен при лечении низкомолекулярными гепаринами. Введение эноксапарина в течение 2-3 нед сопровождалось снижением уровня D-димера в 1,5-2 раза, а 10-дневное применение – на 23%.

Сердечно-сосудистая система

Концентрация D-димера возрастает у пациентов с острыми ишемическими событиями, включая инфаркт миокарда и нестабильную стенокардию. У пациентов с болью в области грудины повышенный уровень D-димера является ранним маркером ишемии коронарных артерий и независимым прогностическим маркером инфаркта миокарда.

В исследовании, изучавшем 18 биомаркеров ишемической болезни сердца, в когорте из более чем 27 тыс. женщин в период менопаузы только уровень D-димера был значительно увеличен и являлся независимым фактором риска.

В работе R. Mancusi и соавт. было показано, что концентрация D-димера достоверно выше при хронической сердечной недостаточности (ХСН) IV ФК по сравнению с таковой на фоне ХСН II-III ФК. В данном исследовании с участием 214 пациентов с ХСН II-IV ФК убедительно доказано, что повышение содержания D-димера является

значимым предиктором неблагоприятного исхода (смертности) при ХСН.

Уровень D-димера при беременности

У беременных женщин даже в норме наблюдается активация синтеза плазменных факторов свертывания в печени. К моменту родов уровень D-димера может превышать исходный в 3-4 раза (табл. 3).

Изменения гемостаза максимально выражены в 3-м триместре беременности, что имеет физиологическое значение и направлено на уменьшение кровопотери в родах. Положительные результаты теста на определение D-димера в поздние сроки беременности значительно затрудняют оценку риска и диагностику ТГВ и особенно ТЭЛА. Значительное (в 5-10 раз) повышение уровня D-димера наблюдается при патологиях беременности (привычное невынашивание, гестоз, преждевременная отслойка плаценты), что предусматривает назначение дополнительных диагностических процедур. В таких случаях особое значение приобретает сочетание проведения ультразвукового обследования и анализ на D-димер. Пороговый уровень D-димера в отношении риска ВТЭ у беременных женщин в 3-м триместре является существенно более высоким.

Оценка риска ВТЭ при других заболеваниях

Повышение уровня D-димера отмечается при таких заболеваниях, как доброкачественные и злокачественные опухоли, инфекции, травмы, ишемия, кровотечения или тромбозы. Исследователи пытались использовать D-димер в качестве диагностического и прогностического маркера: например, уровни D-димера изучали как факторы неблагоприятного прогноза и/или риска у пациентов со злокачественными опухолями, желудочно-кишечными кровотечениями и некрозом, внутримозговым кровоизлиянием, серповидноклеточной анемией, мигренью, травмой головного мозга, туберкулезом, болезнью Кушинга, астмой и др.

В целом риск ВТЭ у пациентов с онкопатологией оценивают в среднем в 7%, что связано с непосредственным протромботическим эффектом злокачественных новообразований и дополнительными факторами риска (иммобилизация, действие лекарственных препаратов и хирургическое вмешательство). В то же время повышенный уровень D-димера у пациентов с опухолями имеет ограниченную диагностическую ценность при отсутствии данных других исследований.

Многочисленные наблюдения продемонстрировали неблагоприятное прогностическое значение увеличения концентрации D-димера в плазме при раке грудной железы, толстого кишечника, легких, яичников, предстательной железы и других органов.

D-димер – надежный и чувствительный маркер тромбообразования, увеличение содержания которого в плазме крови указывает на наличие тромбов. В клинической практике D-димер используется как маркер гиперкоагуляции и эндогенного фибринолиза. Положительный результат теста на D-димер имеет негативное прогностическое значение у больных с ТГВ и ТЭЛА.

Определение указанного параметра используется с целью мониторинга эффективности антикоагулянтной терапии и диагностики ДВС-синдрома. Целесообразно рекомендовать определение D-димера во время беременности для исключения ТГВ, а также с целью выявления и мониторинга состояний, связанных с тромбозом.

Список литературы находится в редакции. 3

Категории пациентов, у которых тест не применяется	Категории пациентов, у которых тест используется с осторожностью
Пациенты с симптомами ВТЭ >14 дней	Пациенты с рецидивирующим ВТЭ
Пациенты, принимающие гепарин или пероральные антикоагулянты	Больные в возрасте >50 лет
	Госпитализированные пациенты
	Беременные женщины
	Больные, перенесшие оперативное вмешательство в предшествующие 30 дней
	Пациенты с заболеваниями крови, сахарным диабетом

Единицы измерения	Не беременные	1-й триместр	2-й триместр	3-й триместр
нг/мл	<500	50-950	320-1290	130-1700