

# Методы определения D-димера при диагностике тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии

### **Арон Леонидович Берковский**

директор, кандидат биологических наук,

### **Елена Владимировна Сергеева**

руководитель отдела производства,

### **Анна Леоновна Мелкумян**

научный сотрудник, кандидат медицинских наук,

### **Сергей Витальевич Бабенко**

руководитель отдела маркетинга, кандидат медицинских наук,

### **Александр Владимирович Суворов**

научный сотрудник, кандидат биологических наук,

НПО «Ренам» Межрегиональной благотворительной общественной организации инвалидов «Общество больных гемофилией»

Существующие в настоящее время для диагностики тромбоза глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) объективные методы – контрастная венография, ультразвуковая доплерография с дуплексным сканированием; ангиография, сцинтиграфия легких и другие, – имеют ряд ограничений. Указанные методы не всегда доступны для клинической практики, требуют определенного времени и присутствия квалифицированного персонала. Некоторые из перечисленных методов имеют высокую стоимость и инвазивную природу, что определяет целесообразность применения дополнительных методов диагностики, основанных на результатах оценки состояния системы гемостаза [2].

D-димеры, продукты деградации поперечносшитого фибрина, являются специфическими маркерами активации свертывания крови и фибринолиза, связанного с тромбозом. Активный фермент фибринолитической системы плазмин расщепляет фибрин(оген) с образованием так называемых продуктов деградации фибрин/фибриногена, однако не способен разорвать ковалентную связь между D-доменами, что приводит к появлению D-димеров.

Определение D-димера имеет высокую диагностическую значимость. Повышенная концентрация D-димера свидетельствует о таких клинических состояниях, как ДВС-синдром, тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), системный тромболизис (тромболитическая терапия) и др. D-димеры являются высоко значимыми маркерами гиперкоагуляции при сердечной недостаточности и других состояниях. Наиболее широко определение D-димера в диагностических целях используют для исключения ТГВ и ТЭЛА [2, 7].

D-димер имеет длительный период полусуществования и может быть определен в образцах крови и цитратной плазмы. На результаты определения D-димера практически не влияют техника взятия крови и примесь тромбоцитов, что и определило значимость оценки данного маркера в клинической практике для диагностики тромбоза. Диагностическое значение метода основывается на его высокой чувствительности и, следовательно, способности исключать ТГВ и ТЭЛА, если концентрация D-димера в плазме меньше определенной пороговой величины. У здоровых людей концентрация D-димера не превышает 240 нг/500 FEU (фибриноген эквивалентных единиц)/мл [2, 4, 5].

В настоящее время существует более 30 различных методов для измерения D-димера, основанных на реакции моноклональных антител, специфичных к эпитопам D-димера, которые находятся на поверхности молекул продуктов деградации фибрина, без перекрестного реагирования с фибриногеном. Все методы для определения D-димера имеют различную чувствительность, специфичность, диагностическую значимость (положительную и отрицательную), стоимость и доступность.

Методы могут быть количественными и качественными, выполняться вручную или полностью автоматически, работать на плазме или цельной крови. Каждый из методов

нашел свое место в клинической и лабораторной медицине, каждый из них имеет свои преимущества и недостатки (или неудобства) в выполнении [4, 11, 15, 16, 17].

Целью настоящей работы является краткий сравнительный анализ характеристик этих методов на основе клинико-диагностических исследований и результатов собственных разработок.

## **D-димер в клинической диагностике**

Многие заболевания или клинические ситуации могут приводить к повышению уровня D-димера. Именно поэтому высокий уровень D-димера в крови не может служить убедительным доказательством наличия у пациентов ТГВ или ТЭЛА, и следовательно, D-димер имеет низкую специфичность (низкое положительное прогностическое значение) для венозной тромбоэмболии [2]. При ТГВ и ТЭЛА значительно более информативной для исключения диагноза тромбоза является отрицательная диагностическая значимость теста: **нет повышения D-димера – нет тромбоза** [9].

В зависимости от используемого метода отрицательная диагностическая значимость теста для определения уровня D-димера колеблется от 78 до 100 процентов, и она повышается при увеличении чувствительности метода [2]. Ложно-отрицательные результаты при тромбозе (менее 2%) потенциально возможны при малом размере тромбов, запоздалом исследовании (если после появления симптомов венозного тромбоза прошло более 7–10 дней), ошибках на преаналитическом этапе (хранение образцов плазмы более 6 ч и др.), приеме антитромботических препаратов, резком снижении фибринолитической активности [6, 16].

Тест для определения уровня D-димера имеет и экономическое значение. Так, диагностическая «умная» стратегия, основанная на совместном использовании шкал претестовой оценки клинической вероятности и уровня D-димера, позволяет снизить количество дорогостоящих и небезопасных для здоровья пациентов процедур (например, УЗ-обследований или венографии – на 30%) [1, 3, 8, 13].

Для клинической диагностики ТГВ нижних конечностей может быть использована одна из систем оценки вероятности наличия ТЭЛА – канадский индекс Wells [18], а для клиниче-

ской диагностики ТЭЛА – тот же индекс Wells и (или) пересмотренный женеvский алгоритм (модифицированная женеvская шкала) [12]. При трехуровневой оценке больные распределяются на группы с низкой, средней (промежуточной) и высокой вероятностью (риском развития) ТЭЛА; при двухуровневой оценке – на группы с вероятной или маловероятной ТЭЛА.

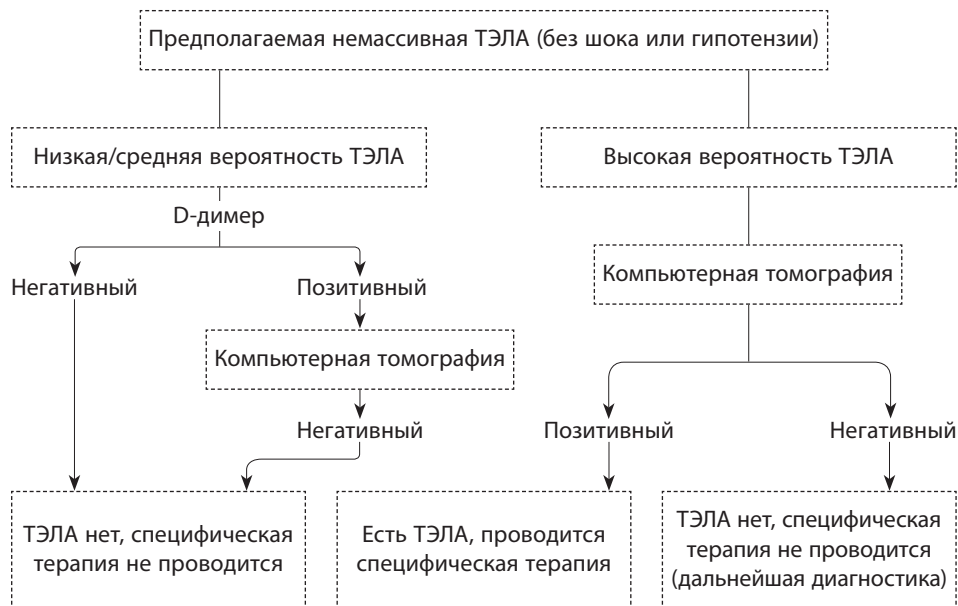
В последней редакции европейских рекомендаций 2014 года предлагается упрощенная версия балльной оценки клинической вероятности ТЭЛА [8]. Независимо от используемой шкалы, доля пациентов с ТЭЛА составляет приблизительно 10 процентов в категории малой вероятности, 30 процентов в категории умеренной вероятности и 65 процентов в категории высокой клинической вероятности [14].

Согласно одному из наиболее часто применяемых алгоритмов (рис.), при высокой клинической вероятности ТГВ или ТЭЛА сразу выполняются инвазивные диагностические процедуры и (или) начинается активная антикоагулянтная и тромболитическая терапия. При средней или низкой вероятности диагноза измеряется уровень D-димера и в зависимости от полученного результата принимается решение о дальнейших действиях. Необходимо учитывать, что концентрация D-димера увеличивается с возрастом, и это следует принимать во внимание при работе с пограничными результатами у пожилых пациентов.

Согласно рекомендациям Европейского кардиологического общества по диагностике и ведению пациентов с острой эмболией системы легочной артерии за 2014 год [3, 8], тест для определения уровня D-димера должен применяться с учетом ряда положений:

1. Уровень D-димера в плазме рекомендуется измерять у амбулаторных/экстренно госпитализированных пациентов с низким или промежуточным риском ТЭЛА (для ТГВ: < 2 по шкале Wells; для ТЭЛА: < 10 по Женевской шкале или < 6 по шкале Wells) для уменьшения потребности в ненужных исследованиях и облучении. Предпочтительно использовать высокочувствительные методы определения уровня D-димера. Класс рекомендаций I, уровень доказательности A.

2. При низком риске ТЭЛА нормальный уровень D-димера, по данным высокочувствительных или умеренно чувствительных методов определения, позволяет исключить ТЭЛА. Класс рекомендаций I, уровень доказательности A.



**Рис.** Алгоритм диагностики ТЭЛА с использованием результатов определения D-димера [18]

3. Дальнейшее тестирование может быть проведено у пациентов с промежуточным риском при нормальном уровне D-димера при помощи умеренно чувствительных методов. Класс рекомендаций IIb, уровень доказательности C.

4. Измерение содержания D-димера не рекомендуется у пациентов с высоким риском ТЭЛА, поскольку нормальный уровень D-димера не в полной мере позволяет исключить ТЭЛА даже при использовании высокочувствительных методов определения уровня D-димера. Класс рекомендаций III, уровень доказательности B. Данных пациентов необходимо сразу направлять на инструментальное обследование без предварительного определения уровня D-димера.

### Характеристика методов определения уровня D-димера

Чувствительность определяет безопасность исключения венозной тромбоэмболии при помощи измерения содержания D-димера и должна быть близка к 100 процентам, чтобы минимизировать число ложноотрицательных результатов. Специфичность определяет клиническую эффективность

анализа в исключении диагноза у пациентов с подозрением на венозную тромбоэмболию.

Чувствительность и специфичность различных методов определения уровня D-димера в крови по данным различных исследований [7, 10, 15] отражены в таблице.

Таблица

**Чувствительность и специфичность различных методов определения уровня D-димера в крови у больных с ТГВ и ТЭЛА**

Метод определения D-димера	ТГВ нижних конечностей		ТЭЛА	
	Чувствительность, %	Специфичность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
ELISA				
~ микропланшет	94 (86–97)	53 (38–68)	95 (84–99)	50 (29–71)
~ мембрана	89 (76–95)	53 (37–68)	91 (73–98)	50 (29–72)
ELFA	96 (89–98)	46 (31–61)	97 (88–99)	43 (23–65)
Латекс				
~ количественный	93 (89–95)	53 (46–61)	95 (88–98)	50 (36–64)
~ полуколичественный	85 (68–93)	68 (53–81)	88 (66–97)	66 (43–83)
~ качественный	69 (27–93)	99 (94–100)	75 (25–96)	99 (92–100)
Определение в цельной крови	83 (67–93)	71 (57–82)	87 (64–96)	69 (48–84)

**Примечание.** В скобках указан доверительный интервал; ELISA – твердофазный иммуноферментный анализ; ELFA – иммунофлуоресцентный анализ.

Метод ELISA и его производные имеют самую высокую диагностическую чувствительность > 95 процентов (высокочувствительные тесты) и могут быть использованы для исключения ТЭЛА у пациентов с низкой или умеренной пре-тестовой вероятностью.

Латексные панели и определение D-димера в цельной крови имеют диагностическую чувствительность < 95 процентов (умеренно чувствительные тесты). Исследования исходов при выполнении этих методов подтвердили безопасность в исключении ТЭЛА у пациентов с низкой ее вероятностью.

Точность выявления венозной тромбоэмболии при определении уровня D-димера прямо пропорциональна чувствительности и специфичности примененного метода. Количественные автоматизированные методы анализа имеют высокую чувствительность с низкой специфичностью,

в то время как ручные методики, основанные на агглютинации эритроцитов цельной крови, имеют более низкую чувствительность, но у них выше специфичность [7]. Наибольшую чувствительность обеспечивают количественные методы ELISA (микропланшетный метод) и ELFA.

### **Количественные методы определения D-димера: автоматизированные методики**

Классический микропланшетный метод ELISA (ИФА, иммуноферментный анализ) считается «золотым стандартом» для измерения концентрации D-димера. Для него характерна наиболее высокая аналитическая чувствительность, что позволяет с 95–99-процентной надежностью исключить диагноз ТГВ и ТЭЛА у больных с низким и промежуточным риском данных заболеваний. Однако длительность и трудоемкость данного метода определения уровня D-димера ограничивает его применение в клинических ситуациях, требующих быстрой постановки диагноза ТГВ или ТЭЛА с необходимостью быстрого назначения антикоагулянтной терапии в случае подтверждения диагноза.

Данный метод достаточно дорог и предназначен для одномоментного определения большого числа образцов, а не единичных исследований, иначе стоимость одного анализа очень высока. Стоимость анализа повышают также существенные затраты на покупку и обслуживание специального оборудования. Недостатки этого высокочувствительного метода определения уровня D-димера делают его проведение нецелесообразным, непрактичным, а зачастую и невозможным во многих клинических ситуациях.

Другим высокочувствительным методом является модифицированный метод ELISA – ELFA (иммунохемилюминесцентный анализ), позволяющий снизить время проведения анализа. Однако время его проведения дольше, чем у качественных и полуколичественных методов определения D-димера. Данная методика, как и «золотой стандарт», требует специальной аппаратуры, высококвалифицированного персонала, одномоментного определения большого числа проб (экономическая целесообразность).

Еще один количественный метод – иммунотурбидиметрия, усиленная латексными частицами. Характеризуется высокой аналитической чувствительностью, быстротой выполнения, при этом необходимы специальная аппаратура и высококвалифицированный персонал.

## Ручные качественные и полуколичественные методы определения D-димера

Данные методы основаны на визуальной детекции наличия или отсутствия агглютинации частиц латекса или эритроцитов. Эти методы обеспечивают очень быстрое тестирование, которое не требует специальных приборов, может проводиться в любой клинической лаборатории. При этом не предполагает экономических затрат, поскольку проводятся даже единичные пробы.

Агглютинация цельной крови может выполняться «у постели больного». Качественный латекс-метод, полуколичественный латекс-метод и определение D-димера в цельной крови – методы легкие и быстровыполнимые, но субъективные в оценке [2, 7, 17].

С учетом перечисленных достоинств таких методов нами был разработан, зарегистрирован и предложен к использованию набор «**РеДимер-латекс тест**» (качественный и (или) полуколичественный тест). Проведенные исследования подтвердили: определение уровня D-димера с помощью набора характеризуется достаточной для исключения венозной тромбоэмболии диагностической чувствительностью и специфичностью. Принимая во внимание минимальную в РФ цену такого исследования, наш набор является действенным инструментом при диагностике ТГВ и ТЭЛА.

## Список использованной литературы

1. Гильманов А.Ж. D-Димер: Что? Как? У кого? С какой целью? / Научно-практический журнал «Клинико-лабораторный консилиум» // 2009. № 6. С. 38–46.
2. Папаян Л.П., Князева Е.С. D-димер в клинической практике. Пособие для врачей // М.: Инсайт полиграфик. 2002. Wakai A., Cleeson A., Writer D. Role of fibrin D-dimer testing in emergency medicine. Emerg Med J // 2003. Vol. 20. P. 319–325.



3. Рекомендации ESC по диагностике и ведению пациентов с острой эмболией системы легочной артерии / Российский кардиологический журнал // 2015. № 8. P. 67–110.
4. Adam S.S., Key N.S., Greenberg C.S. D-dimer antigen: current concepts and future prospects // Blood. 2009. Vol. 113. № 13. P. 2878–2887.
5. Amiral J. Molecular markers in thrombosis and hemostasis. Clin Appl Thrombosis / Hemostasis // 1997. Vol. 3. P. 71–81.
6. De Bastos, De Bastos M.R.D., Bogutchi T. et al. Duration of symptoms and D-dimer testing in the ruling-out of venous thromboembolism / J Thromb Haemost // 2006. Vol. 4. P. 2079–2080.
7. Di Nisio M., Squizzato A., Rutjes A.W.S. et al. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review / J Thromb Haemost // 2007. Vol. 5. P. 296–304.
8. ESC Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: The Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC) // European Heart Journal. 2014. Vol. 35. P. 3033–3073.
9. Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Eur Heart J // 2000. Vol. 21. P. 1301–1336.
10. Heim S.W., Schectman J.M., Siadaty M.S. et al. Philbrick JT. D-dimer testing for deep venous thrombosis: a metaanalysis / Clin Chem // 2004. Vol. 50. P. 1–12.
11. Keeling D.M., Mackie I.J., Moody A. et al. The diagnosis of deep vein thrombosis in symptomatic outpatients and the potential for clinical assessment and D-dimer assays to reduce the need for diagnostic imaging / Br J Haematol // 2004. Vol. 124. P. 15–25.
12. Le Gal G., Righini M., Roy P.M. et al. Prediction of Pulmonary Embolism in the Emergency Department: The Revised Geneva Score / Ann Intern Med // 2006. Vol. 144. P. 165–171.
13. Olson J.D., Adcock D.M., Bush T.A. et al. Quantitative D-Dimer for exclusion venous thromboembolic disease / Approved Guideline // 2011. Vol. 31. P. 1–31.
14. Reissig A., Kroegel C. Therapeutic approaches to acute pulmonary embolism. Internist / 2004. Vol. 45. P. 540–548.
15. Righini M., Perriera A., De Moerloose P. et al. Bounameaux H. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later / J Thromb Haemost // 2008. Vol. 6. P. 1059–1071.
16. Tripodi A. d-Dimer Testing in Laboratory Practice, Clinical Chemistry 2011; 57:9, 1256–1262.
17. Van der Graaf F., van den Borne H., van der Kolk M. et al. Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing – comparison of 13 D-dimer methods in 99 outpatients suspected of deep venous thrombosis using venography as reference standard / Thromb Haemost // 2000. Vol. 83. P. 191–198.
18. Wells P.S., Owen C., Doucette S. et al. Does This Patient Have Deep Vein Thrombosis? / JAMA // 2006. Vol. 295. P. 199–210.