

Л.Б. ШАЙКЕНОВА

ассистент кафедры лабораторной диагностики  
и молекулярной медицины КазНМУ им Асфендиярова С.Ж., Алматы

## МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ D-ДИМЕРА

D-димер – продукт деградации фибрина. Который используется в клинике как маркер тромбозов. В статье представлены основные методы которыми проводятся лабораторные исследования D-димера.

**Ключевые слова:** D-димер, микрولатексная агглютинация, ИФА с использованием моноклональных антител, иммунохроматография

D-димер – белковый продукт распада фибринового сгустка. Под действием плазмина расщепляется как фибрин, так и фибриноген, но D-димер образуется только при ферментативном расщеплении фибрина, являясь наиболее специфичным маркером деградации фибриновых сгустков.



В клинической практике D-димер может быть использован как маркер способности организма к гиперкоагуляции и эндогенного фибринолиза, повышенные уровни которых характерны для тромбозов. Так, данный положительный тест имеет негативное прогностическое значение для больных с глубоким тромбозом вен нижних конечностей и тромбозом легочной артерии. У амбулаторных больных данный тест является дополнительным средством, включенным в большинство алгоритмов обследования для исключения диагноза глубоких тромбозов вен. Целесообразно назначать определение D-димера и во время беременности, при которой плазменный уровень D-димера постепенно возрастает и обладает слабым прогностическим моментом для исключения диагноза тромбоза глубоких вен после 20 недель беременности. В период родов уровень D-димера обычно сильно возрастает, а затем быстро снижается на 3-й день после родов, и возвращается к нормальным значениям постепенно примерно через 4 недели. D-димер является чувствительным маркером для определения синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания (ДВС-синдром), а также для оценки потенциального риска у больных с имеющимся ДВС-синдромом и для мониторинга в динамике начатой терапии. Установлено, что D-димер является независимым фактором риска сердечно-сосудистой смертности, а также вместе с другими тромботическими факторами может играть роль потенциальных факторов риска развития ишемической болезни сердца (ИБС).

В норме содержание D-димера в плазме не должно превышать 250 нг/мл. Нормальный уровень D-димера с очень высокой степенью достоверности говорит об отсутствии тромбоза и риска его развития, так с достоверностью 92% можно говорить об отсутствии ТГВ, если уровень D-димера в норме. К группе риска относятся пациенты со значением D-димера от 400 до 600 нг/мл, а концентрация выше 600 нг/мл говорит о наличии патологии.

Для лабораторной диагностики уровня D-димера в настоящее время используется три метода: микрولатексной агглютинации, ИФА и иммунохроматографии.

Широкое распространение получила технология микрولатексной агглютинации с фотометрической регистрацией реакции (иммунотурбидиметрия). Суть метода заключается в том, что при добавлении плазмы пациента, содержащей D-димер, к реагенту происходит увеличение оптической плотности реагента, представляющего собой взвесь микрولатексных частиц, покрытых антителами против D-димера. При этом измеряемое увеличение оптической плотности пропорционально концентрации D-димера в исследуемом образце.

Иммунотурбидиметрический метод легко автоматизируется, данная технология реализована у части автоматических биохимических анализаторов. Однако следует помнить, что в структуре организации клинико-диагностической лаборатории отдел биохимических исследований, даже оснащенный соответствующим образом, занимается в первую очередь оценкой биохимических показателей. Как правило, поток исследований и список выполняемых тестов в подразделении биохимии КДЛ достаточно объемны. Определение концентрации D-димера обычно проводится в комплексе с другими показателями системы гемостаза и, несомненно, его удобнее выполнять на коагулометрах. Для этих целей требуются коагулометры с оптическим способом регистрации. Именно такие модели

приборов имеют специальную схему измерения оптической плотности, пригодную для проведения оценки проб с микролатексагглютинацией. Кроме того, с помощью программного обеспечения оптического коагулометра проводятся построение необходимого калибровочного графика, расчет результата и, что немаловажно, внутрिलाбораторный контроль качества исследований. Правильный выбор коагулометра с надежной оптической схемой позволит выполнять оценку концентрации Д-димера с высокой точностью, методически просто и быстро.

При выборе реагентов для определения концентрации Д-димера необходимо учитывать стабильность латекс-реагента после вскрытия, наличие калибровочного и контрольного материалов, удобство в использовании, специфичность и чувствительность теста, пределы линейности измерений. Недостатком метода является его низкая чувствительность.

Наиболее чувствительный метод ИФА (порог чувствительности: ниже 60 нг/мл) проводится с использованием моноклональных антител и используется в клинике для исключения тромбоза и для мониторинга антитромботической терапии. Для определения Д-димеров разработаны антитела к неоантигенным эпитопам на них. Это моноклональные антитела ДД-3В6, DD5, MA8D3, MA8-8G, 54H9 к эпитопам гамма-связей в Д-доменах молекул фибрина.

Указанные антитела связываются с Д-димерами, содержащими Д-Д-ковалентные связи, но не вступают в реакцию с фибриногеном и растворимыми фибрин-мономерами. Определение Д-димера при помощи таких антител показывает, что в процессе фибринолиза расщепляется именно фибрин, а не фибриноген и фибрин-мономеры. На определение Д-димера практически не оказывают влияния техника взятия крови, наличие примеси тромбоцитов, не требуется использование ингибиторов для подавления других факторов. Концентрация Д-димера пропорциональна активности фибринолиза и количеству лизируемого фибрина. Этот тест позволяет судить об интенсивности процессов образования и разрушения фибриновых сгустков. Д-димеры достаточно долго циркулируют в крови; время их полувыведения составляет более 24 ч. Повышенная концентрация Д-димера может сохраняться в течение нескольких недель после острого тромбоза.

Применение иммуноферментного анализа (ИФА) для измерения концентрации Д-димера показало высокую стоимость единичных исследований, учитывая существенные затраты на специальное оборудование. Кроме того, ИФА достаточно длителен по времени и обычно проводится не индивидуально, а на серии образцов.

Иммунохроматографическая экспресс-диагностика (ИХЭД) – новый высокотехнологичный метод, позволяющий вне лабораторных условий и в течение 5-20 минут не только точно диагностировать большой спектр самых серьезных патологий (инфаркт миокарда, опасные инфекции, воспалительные процессы, онкозаболевания, гормональные нарушения и др.), но и оценивать степень их тяжести. Широкое применение ИХЭД позволяет обнаруживать заболевания на ранней стадии и предотвращать их развитие. Экспресс-метод иммунохроматографии для определения уровня Д-димера сочетает скорость проведения анализа (от 2 минут) с высокой чувствительностью (пороговое значение: от 60 нг/мл). В настоящее время отмечена особая диагностическая ценность иммунохроматографического метода (например, NусоCard D-dimer) при тромбозе глубоких вен. Оперативность проведения анализа требуется при тяжелых тромботических осложнениях, когда концентрация Д-димера может значительно изменяться в течение одного часа. От точности и своевременности результатов анализа зависят меры предупреждения тромбоза и инфаркта.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гильманов А.Ж. Д-димер: что? Как? У кого? С какой целью? // Клинико-лабораторный консилиум. 2009. № 6 (31). С. 38-46.
2. Клиническая лабораторная аналитика / Под ред. Меньшикова В.В. М.: Лабпресс, 2000. С. 157.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. СПб.: Формат, 2006. С. 51-53.
4. В.А. Герасименко, Н.А. Оганесян, Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией. Оценка концентрации Д-димера в клинико-лабораторной практике 2011. – С.75-77.

**Түйін:** D-димер – фибриннің деградациясының өнімі. Ол тромбоздардың маркері ретінде қолданылады. Мақалада D-димерді зертханалық зерттеудің негізгі жолдары көрсетілген.

**Resume:** D-dimer – product from degradation of fibrin. Which is used in medicine as marker of thrombosis. In article presented are introduced general laboratorial methods which are used to do researches about D-dimer.