

16+

ISSN 2078-1008

ТРОМБОЗ ГЕМОСТАЗ И РЕОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ



EMLTD

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN LEAGUE
AGAINST THROMBOTIC DISEASES IS ASSOCIATED
WITH RUSSIAN NATIONAL ASSOCIATION
ON THROMBOSIS AND HEMOSTASIS

№ 3
2018



www.hemostas.ru

Скрининговый тест выявления тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии

М. О. Егорова¹, О. Н. Старцева², Е. Ю. Власенко¹

¹ООО «ОМБ», Москва; ²ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург; Россия

Введение. Учитывая распространенность тромбозов, а каждый год в большинстве стран тромбоз глубоких вен (ТВГ) или тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) развивается у 80–120 человек на 100 тысяч населения, актуальным является использование скрининговых параметров гемостаза и оценка предрасположенности к тромбозам. Важным лабораторным маркером тромбоза и тромбоэмболии является Д-димер. Представляет интерес сравнение тестов различной чувствительности, имеющих признанное клиническое применение, для принятия решения о возможности их использования в ходе амбулаторного скрининга пациентов.

Материалы и методы. Исследованы цитратные пробы крови 101 пациента (средний возраст — $41 \pm 9,1$ лет), среди которых были сформированы 3 группы: 69 человек, проходивших диспансерное обследование; 8 пациентов отделения интенсивной терапии; 24 пациента с подтвержденным сердечно-сосудистым заболеванием. Исследование содержания Д-димера в пробах цитратной плазмы выполняли одновременно 2 методами: иммунотурбодиметрическим (ИТД) и иммунохемилюминесцентным (ИХЛ).

Результаты. Получены результаты сравнения 2 методов исследования Д-димера. Коэффициент корреляции в разных группах пациентов составил 0,74–0,99 в зависимости от патологии, что свидетельствует о высокой степени соответствия результатов измерения Д-димера и возможности применения как метода ИТД, так и метода ИХЛ в скрининге пациентов с целью исключения ТВГ и ТЭЛА.

Заключение. Проведенные исследования позволяют рассматривать метод ИХЛ для исследования содержания Д-димера на анализаторе Immulite 2000 XPI как скрининговый для амбулаторного догоспитального обследования пациентов.

Ключевые слова: Д-димер, тромбоз глубоких вен, тромбоэмболия легочной артерии, иммунотурбодиметрия, иммунохемилюминесценция, лабораторный скрининг.

DOI: 10.25555/THR.2018.3.0855

Screening test for detection of deep vein thrombosis and pulmonary embolism

Marina O. Egorova¹, Olga N. Startseva², Elena Yu. Vlasenko¹

¹OMB Ltd., Moscow; ²All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine named after A. M. Nikiforov, Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters; Saint Petersburg; Russia

Introduction. Every year in most countries deep vein thrombosis (DVT) or pulmonary embolism (PE) develops in 80–120 people per 100 thousand population so screening of hemostatic parameters and assessment of predisposition to thrombosis is very actual problem. D-dimer is the important laboratory marker of thrombosis and thromboembolism. It is of interest to compare common clinical tests with different sensitivities to determine whether they can be used during outpatient screening.

Materials and methods. We examined citrate blood samples of 101 patients (mean age — 41 ± 9.1 years) who were divided into 3 groups: 69 persons passed the outpatient examination; 8 patients were in intensive care unit; 24 patients had confirmed cardiovascular disease. Measurement of D-dimer content in citrate plasma samples was carried out simultaneously by 2 methods: immunoturbidimetry (ITD) and immunochemiluminescence (ICL).

Results. We obtained the results of D-dimer levels that were measured by 2 methods and calculated their relationships. The correlation coefficient in different patient groups was 0.74–0.99 depending on their pathology. This fact shows a high degree of compliance of D-dimer results and the possibility of using both methods (ITD and ICL) in screening patients for excluding DVT and PE.

Conclusion. Our researches allow to consider the ICL method for studying D-dimer content by Immulite 2000 XPI analyzer as a screening method for outpatient pre-hospital examination.

Key words: D-dimer, deep vein thrombosis, pulmonary embolism, immunoturbidimetry, immunochemiluminescence, laboratory screening.

DOI: 10.25555/THR.2018.3.0855

ВВЕДЕНИЕ

Предотвращение заболевания является важным аспектом здравоохранения работоспособного населения. В связи с этим необходимо обследование с учетом возрастных особенностей и профпатологии, в том числе и лабораторное.

Лабораторное обследование может быть скрининговым — для выявления клинически неясной патологии, срочным — для пациентов отделения интенсивной терапии и плановым — для пациентов стационара с целью диагностики и контроля терапии.

Учитывая распространенность тромбозов, а каждый год в большинстве стран тромбоз глубоких вен (ТГВ) или тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) развиваются у 80–120 человек на 100 тысяч населения [1], актуальным является скрининговое исследование параметров гемостаза для оценки предрасположенности к тромбозам.

Причинами возникновения тромбоза могут быть нарушение кровообращения, повреждение эндотелия сосудистой стенки и патология компонентов системы гемостаза, т. е. триада Вирхова. Начинается процесс с активации тромбоцитов и последующего образования первичного сгустка. Нестабильный первичный тромб уплотняется фибрином. Тромб не может оставаться в кровотоке, и для его разрушения существует система фибринолиза. Именно в ходе фибринолиза в крови появляется компонент фибрина — Д-димер.

Следовательно, что может свидетельствовать о массивном тромбозе в организме пациента? Не только клинические признаки, которые отражают уже необратимые процессы в тканях, но и предвестники — специфические маркеры сыворотки или плазмы.

Одной из важных характеристик происходящего в организме разрушения тромба (фибринолиза) является количество Д-димера крови. По результатам анализа 26 возможных факторов в группе из 351 обследованных повышенный уровень Д-димера назван одним из факторов риска развития тромбоэмболии [2].

Д-димер — продукт деградации фибрина. В крови здорового человека Д-димер присутствует в незначительных количествах — 100–200 нг/мл [3]. Согласно другим авторам, концентрация Д-димера менее 500 нг/мл FEU (фибрин-эквивалентных единиц) является фактором, исключающим событие тромбоза — ТГВ или ТЭЛА [4]. Важно учитывать, что с возрастом уровень Д-димера в крови повышается. Учитывая влияние возраста, необходимо использовать величину, выше которой будет определяться риск развития тромбоза (cut off), рассчитываемую как концентрация (нг/л) = возраст × 10 мг/л [5].

В современной клинической лабораторной диагностике представлены различные методы определения Д-димера. В 2013 г. Американская ассоциация клинических патологов (American Society for Clinical Pathology — ASCP) представила обзор всех количественных методов исследования Д-димера, используемых в клинике. Основные, одобренные FDA (Food and Drug Administration, США) и приемлемые для контроля фибринолиза в клинической практике, составляют десятку методов [4].

Принцип количественного исследования Д-димера — иммунологический метод взаимодействия антиген-антитело. Комплекс антиген-антитело либо создает мутность в реакционной ячейке, и используется метод турбодиметрии, либо одно из антител комплекса имеет хемиллюминесцентную метку, и оценивается интенсивность хемиллюминесцентного сигнала в пересчете на концентрацию.

Важным отличием методов является состав калибратора или то вещество, к которому получены антитела. В одном случае сенсibiliзирующим антигеном будет служить Д-димер, и единицы измерения реакции будут в нг/мл (Д-димер единицы — DDU). В случае если антитела получены к продуктам деградации фибрина (единицы деградации фибрина — FEU), единицы измерения результата будут именоваться нг/мл FEU. В абсолютных значениях, как следует из вышесказанного, результаты несопоставимы. Представляет интерес оценка соответствия результатов, полученных 2 различными тест-системами, в группах больных с различными нозологиями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследован 101 человек (46 женщин и 55 мужчин), средний возраст — $41,0 \pm 9,1$ лет ($M \pm \sigma$), среди которых сформированы группы: 69 условно здоровых лиц, проходивших диспансерное обследование; 8 пациентов отделения интенсивной терапии с осложнением хронических заболеваний (ишемическая болезнь сердца, расслоение аорты, онкологические заболевания); 24 пациента стационара, находившиеся на лечении с диагнозами: артериальная гипертония, расслоение аорты, деструктивные изменения позвоночника, осложнения онкологических заболеваний.

Для сбора крови использовали вакуумные пробирки с 3,2% цитратом натрия (Greiner Bio-One, Австрия). Пробы крови центрифугировали 15 минут на центрифуге Rotixa 50 RS (Hettich LAB Technology, Германия) при 1600 г. В полученной цитратной плазме определяли содержание Д-димера посредством 2 аналитических систем: система ACL TOP 500 CTS (Instrumentation Laboratory, США), использующая иммунотурбодиметрический метод (ИТДМ), и система Immulite 2000 XPi (Siemens Healthcare Diagnostics, США), использующая иммунохемиллюминесцентный анализ (ИХЛА). Для исследования использовали оригинальные наборы реагентов: Hemosil D-Dimer HS (для ACL TOP 500 CTS) и D-Dimer (для Immulite 2000 XPi).

Для контроля работы аналитических тест-систем использовали контрольный материал Low D-D HS500 Control и High D-D HS500 Control (Instrumentation Laboratory, США) и Immulite® D-Dimer Control Module (трехуровневый контроль с диапазоном значений от 300 до 10000 нг/мл).

Статистические расчеты выполнены в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Так как количественные данные не подчинялись нормальному распределению, корреляционный анализ был проведен непараме-

трическим методом с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень Д-димера исследовали одновременно 2 методами (ИТДМ и ИХЛА) в аликвотах цитратной плазмы крови обследованных: у 69 условно здоровых лиц, проходивших диспансерное обследование; у 24 пациентов с подтвержденной сердечно-сосудистой патологией; у 8 пациентов отделения интенсивной терапии с обострением хронических заболеваний.

Анализируя полученные при исследовании проб крови результаты, мы не сопоставляли абсолютные значения, учитывая различные методы и различные единицы измерения значений Д-димера. Доказано, что чувствительность определения Д-димера посредством ИТДМ (ACL TOP 500 CTS) для исключения ТГВ и ТЭЛА увеличивается при использовании возраст-специфичного порога и составляет до 97,4% [6, 7]; поэтому представляло интерес выяснение корреляционной зависимости и соответствие значений Д-димера, полученных различными методами из одной и той же пробы цитратной плазмы.

На **рисунке 1** представлена корреляционная зависимость значений Д-димера, определенных 2 методами, в общей когорте ($n = 101$) обследованных пациентов. Рассчитанный непараметрическим методом коэффициент корреляции (r) значений, определенных посредством ИТДМ и ИХЛА, составил 0,9487, что свидетельствует о высокой степени взаимосвязи и, соответственно, чувствительности метода ИХЛА для выявления тромбоза.

На **рисунке 2** представлено графическое отражение корреляционной зависимости результатов исследования концентрации Д-димера, определенной 2 методами, в группе пациентов ($n = 64$), проходивших амбулатор-

ное обследование ($r = 0,73683$). Высокая степень корреляционной зависимости ($r = 0,95384$) отмечена и в группе пациентов ($n = 24$) с патологией сердечно-сосудистой системы (**рис. 3**), в которой прогноз тромбообразования и контроль фибринолиза является важной особенностью терапии.

На **рисунке 4** представлена корреляционная зависимость результатов сопоставления содержания Д-димера, измеренного 2 методами, у 8 пациентов отделения интенсивной терапии с обострением хронических заболеваний ($r = 0,99105$).

Исследование концентрации Д-димера выполняется с целью исключения тромбоза и тромбоэмболии, поскольку его уровень в крови отражает активность системы фибринолиза [8]. Подтверждением эффективности исключения тромбоза при выявлении содержания Д-димера ниже cut-off (величина диагностически значимой концентрации) являются многочисленные исследования, начиная с 1980 г., когда метод только был разработан. Так, чувствительность теста Д-димер для выявления тромбоза оценивается как 96,6% [9]. В тоже время результаты теста Д-димер не рассматриваются изолированно при выявлении значений выше cut-off. Специфичность теста указывается разными авторами от 50 до 70%, и пациент направляется на дополнительные исследования, например, ультразвуковое исследование сосудов для подтверждения тромбоза.

В задачи нашего исследования не входило изучение динамики значений Д-димера и оценка чувствительности теста: проводили сопоставление результатов исследования Д-димера по назначению лечащего врача у пациентов стационара разными методами (ИТДМ и ИХЛА).

Сопоставление результатов измерения содержания Д-димера в разных группах пациентов выявило высокие коэффициенты корреляции: 0,9487 в общей когорте обследованных; 0,73683 в группе пациентов при дис-

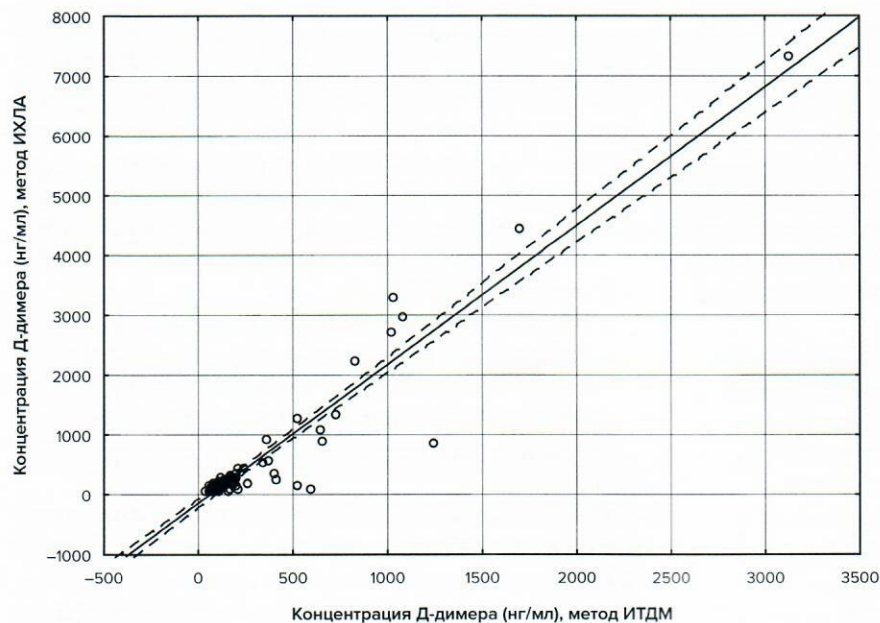


Рис. 1. Результаты корреляционного сравнения 2 методов измерения концентрации Д-димера в когорте обследованных пациентов ($n = 101$).

Результаты оценивали в пределах 95% доверительного интервала, $r = 0,94870$.

Fig. 1. Results of correlation comparison of D-dimer concentration measured by 2 methods in all examined patients ($n = 101$).

Results were evaluated within 95% confidence interval, $r = 0.94870$.

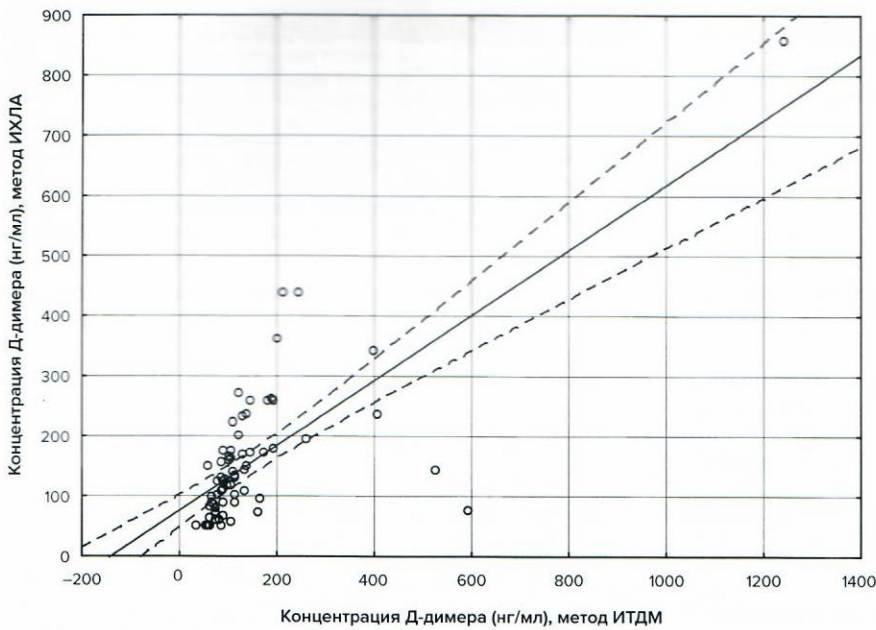


Рис. 2. Результаты корреляционного сравнения 2 методов измерения концентрации Д-димера в группе пациентов, проходивших диспансерное обследование (n=69).

Результаты оценивали в пределах 95% доверительного интервала, $r=0,73683$.

Fig. 2. Results of correlation comparison of D-dimer concentration measured by 2 methods in 69 persons who passed the outpatient examination.

Results were evaluated within 95% confidence interval, $r=0.73683$.

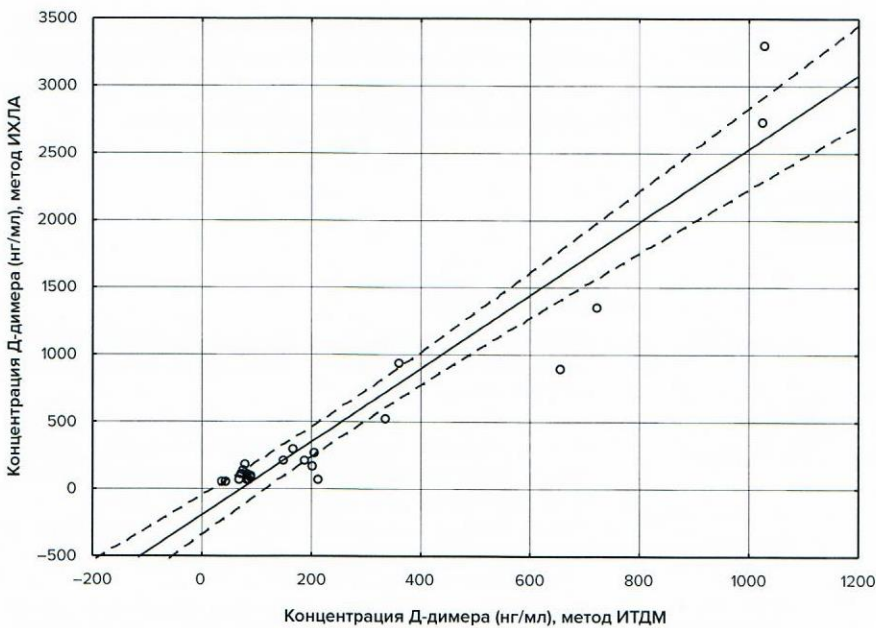


Рис. 3. Результаты корреляционного сравнения 2 методов измерения концентрации Д-димера в группе пациентов с установленной сердечно-сосудистой патологией (n=24).

Результаты оценивали в пределах 95% доверительного интервала, $r=0,95384$.

Fig. 3. Results of correlation comparison of D-dimer concentration measured by 2 methods in 24 patients with confirmed cardiovascular disease.

Results were evaluated within 95% confidence interval, $r=0,95384$.

пансерном обследовании; 0,95384 в группе пациентов с заболеванием сердечно-сосудистой системы; 0,99105 в группе пациентов с хроническими заболеваниями в стадии обострения.

Представленные графики корреляционной взаимосвязи и коэффициенты корреляции свидетельствуют о высокой степени соответствия результатов исследования Д-димера в цитратной плазме 2 различными методами — ИТДМ и ИХЛА. Несмотря на чувствительность метода ИХЛА (Immulite 2000 XPi) от 50 нг/мл и чувствительность ИТДМ (ACL TOP 500 CTS) от 21 нг/мл, можно считать метод ИХЛА Immulite 2000 XPi информативным для скринингового обследования пациентов, предварительного перед окончательной постановкой диагноза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка концентрации Д-димера в настоящее время признана важным тестом для контроля активности фибринолиза [2, 4, 8, 9]. В некоторых странах измерение уровня Д-димера включено в протоколы обследования пациента при подозрении на тромбоз или для исключения тромбоземболии. Лабораторная диагностика располагает различными по чувствительности методами количественной оценки содержания Д-димера, в числе которых ИТДМ и ИХЛА. Тест ИТДМ, согласно инструкции, позволяет однозначно, на основании низких значений Д-димера ниже cut-off выявить пациентов, не имеющих риска развития тромбоза, что подтверждает контроль врача в последующие 3 месяца. Проведенное сопоставление результатов исследования проб крови пациентов в группах

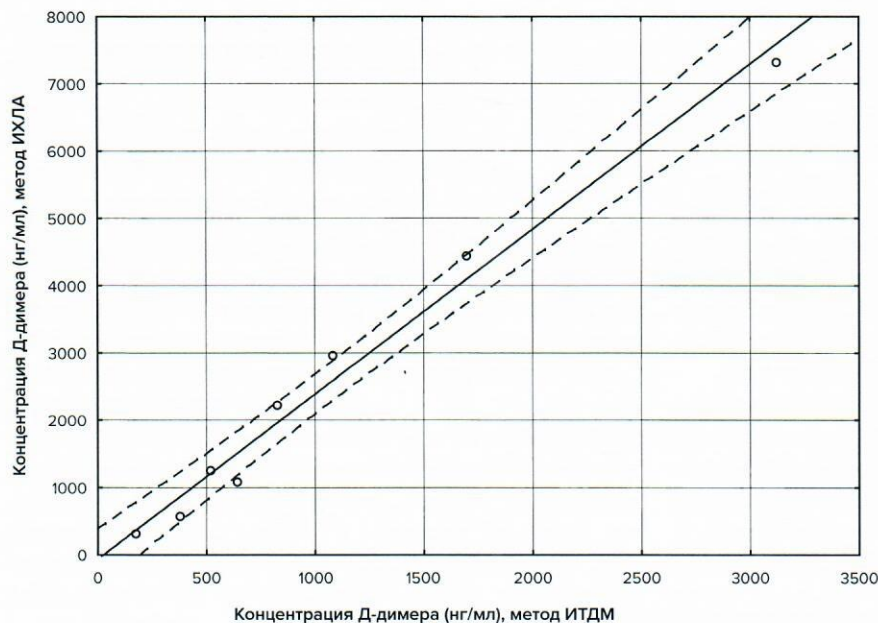


Рис. 4. Результаты корреляционного сравнения 2 методов измерения концентрации Д-димера в группе пациентов отделения интенсивной терапии (n=8).

Результаты оценивали в пределах 95% доверительного интервала, $r = 0,99105$.

Fig. 4. Results of correlation comparison of D-dimer concentration measured by 2 methods in 8 patients from intensive care unit.

Results were evaluated within 95% confidence interval, $r = 0,99105$.

с различными нозологиями показало высокую статистическую степень соответствия результатов ($r = 0,74-0,99$), полученных как методом ИТДМ, так и ИХЛА, что позволяет рекомендовать использование ИХЛА (Immulite 200

XPi) для выявления пациентов (на основании значений Д-димера в крови ниже величины cut-off), требующих дополнительного обследования, в комплексе с анамнезом пациента и заключением лечащего врача.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare there is no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Основы клинической флебологии [Под ред. Ю. Л. Шевченко, Ю. М. Стойко]. М.: Шико. 2013: 336 с.
2. Momot A. P., Bereznyak I. V., Merkulov I. V., Zateev A. V. Prognosis of venous thromboembolic complications after hip replacement on the background of modern thromboprophylaxis. *J Hematol Blood Transfus Disord.* 2017; 4: 013.
3. Lippi G., Bonfanti L., Saccenti C., Cervellini G. Causes of elevated D-dimer in patients admitted to a large urban emergency department. *Eur J Intern Med.* 2014; 25: 45–8.
4. Olson J. D., Cunningham M. T., Higgins R. A. et al. D-dimer: simple test, tough problems. *Arch Pathol Lab Med.* 2013; 137 (8): 1030–8.
5. Schouten H. J., Geersing G. J., Koek H. L. et al. Diagnostic accuracy of conventional or age adjusted D-dimer cut-off values in older patients with suspected venous thromboembolism: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2013; 346: f2492.
6. Gupta A., Raja A. S., Ip I. K., Khorasani R. Assessing 2 D-dimer age-adjustment strategies to optimize computed tomographic use in ED evaluation of pulmonary embolism. *Am J Emerg Med.* 2014; 32 (12): 1499–502.
7. Righini M., Van Es J., Den Exter P. L. et al. Age-adjusted D-dimer cutoff levels to rule out pulmonary embolism: the ADJUST-PE study. *JAMA.* 2014; 311 (11): 1117–24.
8. Чернышева Г. Г., Попова О. А., Тарашук Е. Ю. Д-димер — тест выбора в диагностике нарушений системы гемостаза у больных с ишемической болезнью сердца. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2011; 1: 69–76.
9. Назаренко Г. И., Кунгурцев В. В., Анохин Н. В. и др. Д-димер в диагностике острых тромбозов глубоких вен нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2009; 15 (3): 15–8.

REFERENCES

1. Fundamentals of clinical phlebology. [Osnovy klinicheskoy flebologii (Pod red. Yu. L. Shevchenko, Yu. M. Stojko). Moskva: Medicina. 2013: 336 s (in Russ.).
2. Momot A. P., Bereznyak I. V., Merkulov I. V., Zateev A. V. Prognosis of venous thromboembolic complications after hip replacement on the background of modern thromboprophylaxis. *J Hematol Blood Transfus Disord.* 2017; 4: 013.
3. Lippi G., Bonfanti L., Saccenti C., Cervellini G. Causes of elevated D-dimer in patients admitted to a large urban emergency department. *Eur J Intern Med.* 2014; 25: 45–8.
4. Olson J. D., Cunningham M. T., Higgins R. A. et al. D-dimer: simple test, tough problems. *Arch Pathol Lab Med.* 2013; 137 (8): 1030–8.
5. Schouten H. J., Geersing G. J., Koek H. L. et al. Diagnostic accuracy of conventional or age adjusted D-dimer cut-off values in older patients with suspected venous thromboembolism: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2013; 346: f2492.
6. Gupta A., Raja A. S., Ip I. K., Khorasani R. Assessing 2 D-dimer age-adjustment strategies to optimize computed tomographic use in ED evaluation of pulmonary embolism. *Am J Emerg Med.* 2014; 32 (12): 1499–502.
7. Righini M., Van Es J., Den Exter P. L. et al. Age-adjusted D-dimer cutoff levels to rule out pulmonary embolism: the ADJUST-PE study. *JAMA.* 2014; 311 (11): 1117–24.
8. Chernysheva G. G., Popova O. A., Tarashchuk E. Yu. D-dimer — choice test in diagnostics of hemostasis disorders in patients with coronary heart diseases. [D-dimer — test vybora v diagnostike narushenij sistemy gemostaza u bol'nyh s ishemicheskoy bolezn'yu serdca]. *Tromboz, gemostaz i reologiya.* 2011; 1: 69–76 (in Russ.).
9. Nazarenko G. I., Kungurtsev V. V., Anokhin N. V. et al. D-dimer in diagnostics of acute deep vein thrombosis of lower extremities. [D-dimer v diagnostike ostryh trombozov glubokih ven nizhnih konechnostej]. *Angiologiya i sosudistaya hirurgiya.* 2009; 15 (3): 15–8 (in Russ.).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Егорова Марина Олеговна — д. м. н., руководитель отдела развития технологий и обучения ООО «ОМБ». Адрес: ул. 4-я Тверская-Ямская, 16, к. 3, Москва, Россия, 125047. E-mail: egorova@omb.ru.

Старцева О. Н. — к. б. н., биолог лаборатории клинической химии отдела лабораторной диагностики ФГБУ «ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова» МЧС России. Адрес: ул. Академика Лебедева, 4/2, Санкт-Петербург, Россия, 194044. E-mail: startceva@mail.ru.

Власенко Е. Ю. — биолог, специалист по продукции отдела развития технологий и обучения ООО «ОМБ». Адрес: ул. 4-я Тверская-Ямская, 16, к. 3, Москва, Россия, 125047. E-mail: vlasenko@OMB.ru.

Для цитирования: Егорова М. О., Старцева О. Н., Власенко Е. Ю. Скрининговый тест выявления тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2018; 3: 72–77

Статья поступила: 11.03.2018; в доработанном виде: 15.06.2018; принята к печати: 31.08.2018.

ABOUT THE AUTHORS:

Marina O. Egorova — MD, Head of Department of Technology Development and Training, OMB Ltd. Address: ul. 4-ya Tverskaya-Yamskaya, 16, k. 3, Moscow, Russia, 125047. E-mail: egorova@omb.ru.

Olga N. Startseva — PhD, biologist, Laboratory of Clinical Chemistry, Department of Laboratory Diagnostics, ARCERM n. a. A. M. Nikiforov, EMERCOM of Russia. Address: ul. Akademika Lebedeva, 4/2, Saint Petersburg, Russia, 194044. E-mail: startceva@mail.ru.

Elena Yu. Vlasenko — biologist, Specialist for Products, Department of Technology Development and Training, OMB Ltd. Address: ul. 4-ya Tverskaya-Yamskaya, 16, k. 3, Moscow, Russia, 125047. E-mail: vlasenko@OMB.ru.

For citation: Egorova M. O., Startseva O. N., Vlasenko E. Yu. Screening test for detection of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. [Skriningovyy test vyyavleniya tromboza glubokih ven i tromboembolii legochnoy arterii]. *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2018; 3: 72–77 (in Russ.).

Received: 11.03.2018; in the revised view: 15.06.2018; accepted: 31.08.2018.