

KONTINUIRANA EDUKACIJA

D-DIMER

Klinički značaj i metode određivanja

PREDAVAČ

MESUDA ČENGIĆ, lab. teh.

MENTOR

Mr. ph. Nejra Hafizović

HEMOSTAZA

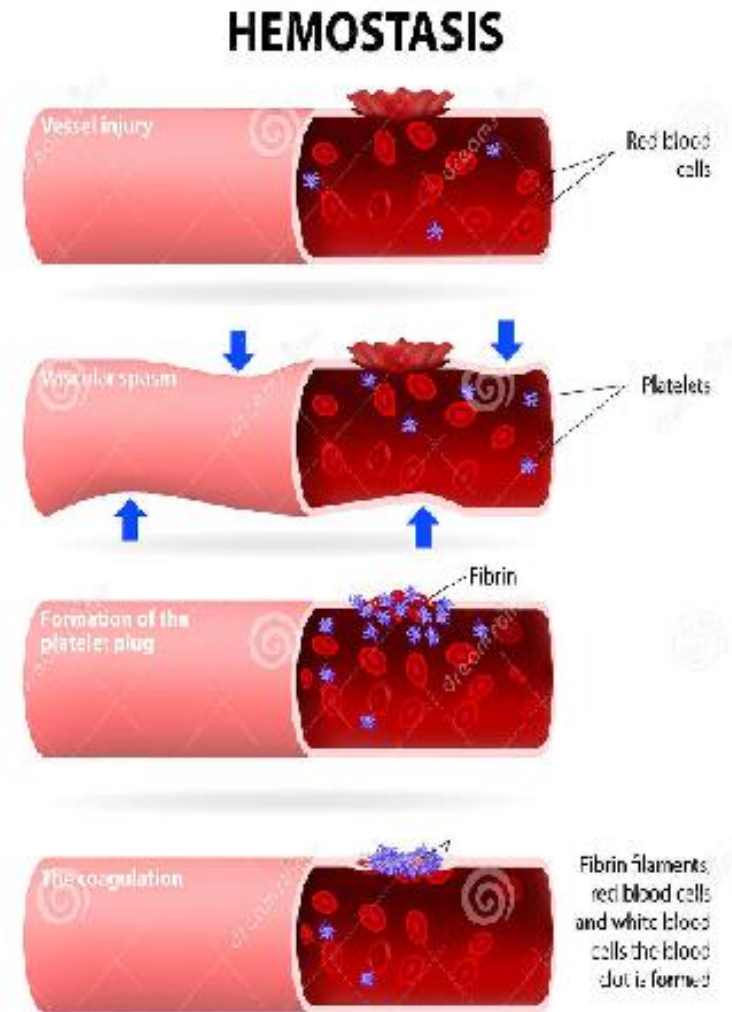
Hemostaza predstavlja složeni fiziološki proces neophodan za normalno funkcionisanje organizma. Adekvatna cirkulacija krvi je preduslov za održavanje stalnih uslova oko ćelije tkiva i omogućavanje normalnih fizioloških procesa u njima. Krv se održava u tečnom stanju zahvaljujući interakcijama koje postoje između krvnih sudova, trombocita, faktora koagulacije, fibrinolize i njihovih inhibitora.

Zadatak hemostaze :

1. Sprečavanje gubljenja krvi iz nepovrijeđenog krvnog suda.
2. Zaustavljanje krvarenja iz povrijeđenog krvnog suda. To obuhvata više procesa:
 - Sužavanje krvnog suda
 - Stvaranje trombocitnog čepa
 - Formiranje krvnog ugruška (koagulacija)
 - Stabilizaciju krvnog ugruška ili njegovo razlaganje.

Poslije oštećenja krvnog suda odmah dolazi do :

- njegovog sužavanja
- trombociti se akumuliraju, dolazi do njihovog povezivanja u vidu čepa - primarna faza hemostaze
- veća povreda krvnog suda aktivira treću fazu hemostaze - zgrušavanje krvi.



ZGRUŠAVANJE KRVI

Jedan od procesa hemostaze je i zgrušavanje krvi.

To je proces stvaranja krvnog ugruška (koaguluma), kojim se zaustavlja krvarenje iz krvnog suda. U ovom procesu učestvuje veliki broj supstanci. Da li će doći do zgrušavanja zavisi od ravnoteže prokoagulanasa i antikoagulanasa.

Prokoagulansi su supstance koje izazivaju zgrušavanje, a supstance koje sprečavaju zgrušavanje su antikoagulansi.

U normalnom fiziološkom stanju preovladavaju antikoagulansi.

Proces koagulacije je serija međusobno povezanih reakcija koje inaktivne aktiviraju u aktivne faktore. Proces koagulacije se može podijeliti u tri faze.

• **Prva faza koagulacije ima vanjski** (posredovan tkivnim faktorom) i **unutrašnji** (iniciran sistemom kontakta) put koagulacije.

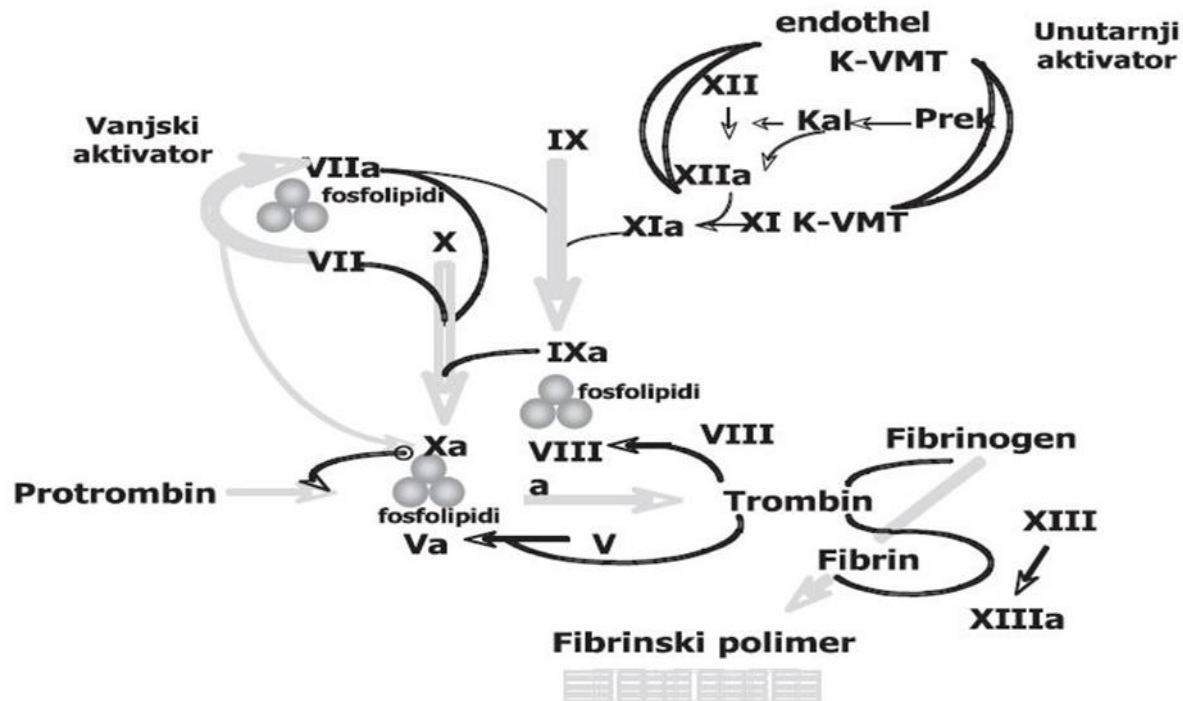
- **Vanjski put koagulacija** se aktivira povredom krvnog zida iz kojeg se oslobađa tkivni tromboplastin (faktor III). On se sastoji od fosfolipida tkivnih membrana i lipoproteinskog kompleksa. Lipoproteinski kompleks tkivnog faktora se vezuje sa faktorom VII i aktivira u prisustvu sa jonima kalcijuma (faktor IV) faktor X. Kompleks faktora III i VII aktiviraju još i faktor IX, koji spada i u unutrašnji put koagulacije.
- **Unutrašnji put koagulacije** se aktivira kontaktom krvi sa kolagenom ili u kontaktu sa stranom površinom. Pri tome se aktivira faktor XII (Hagemanov faktor) i dolazi do oslobađanja fosfolipida iz povrijeđenih krvnih pločica. Aktivirani faktor XII djeluje enzimski na faktor XI i aktivira ga. Aktivirani faktor XI djeluje zajedno sa faktorom VIII i oslobođenim fosfolipidima iz trombocita na faktor X i aktiviraju ga.

Ova dva puta se udružuju i postaju zajednički put sa aktivacijom faktora X.

- **Druga faza** - djelovanjem aktivnog tromboplastina, protrombin se pretvara u trombin. Aktivirani faktor X, zajedno sa fosfolipidima iz tkivnog faktora i faktorom V, gradi kompleks koji aktivira neaktivni protrombin u trombin.
- **Treća faza**, - djelovanjem trombina, rastvorljivi fibrinogen pretvara se u nerastvorljivi fibrin.

Krajnji rezultat procesa koagulacije je produkcija fibrina.

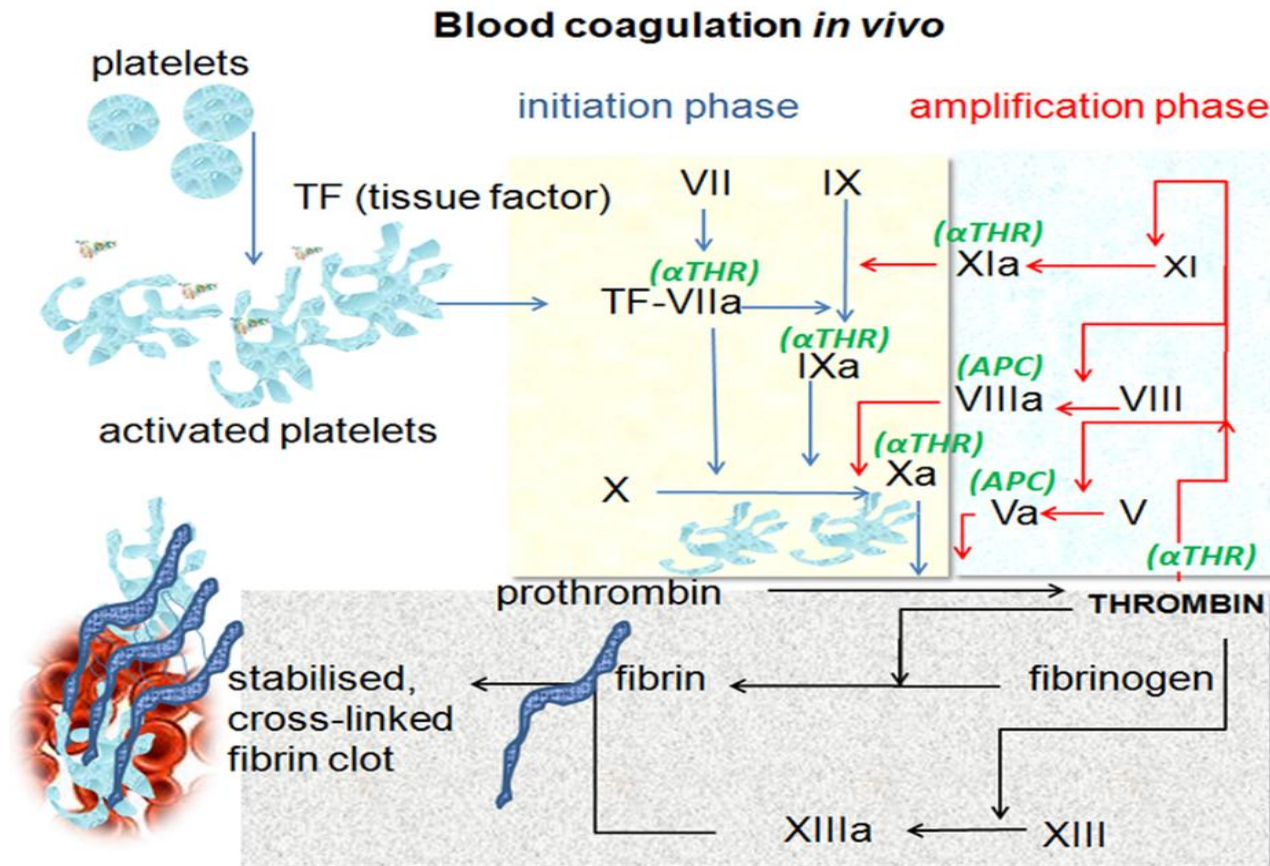
Prema međunarodnoj nomenklaturi faktori koagulacije se obilježavaju rimskim brojevima od I do XIII u neaktivnom stanju, a kada su u aktivnom, dodaje se malo slovo „a“ iza rimskog broja.



FIBRINOGEN

Fibrinogen je protein krvne plazme koji se sintetise u jetri. Po hemijskom sastavu spada u globuline. Cirkulira u krvi i aktivira se djelovanjem trombina..

Trombin razlaže molekulu fibrinogena na 4 peptida (monomera). Monomeri fibrina spontano se nakupljaju u fibrin i unakrsno su povezni faktorom XIII. Tako se stvara fibrinski ugrušak.



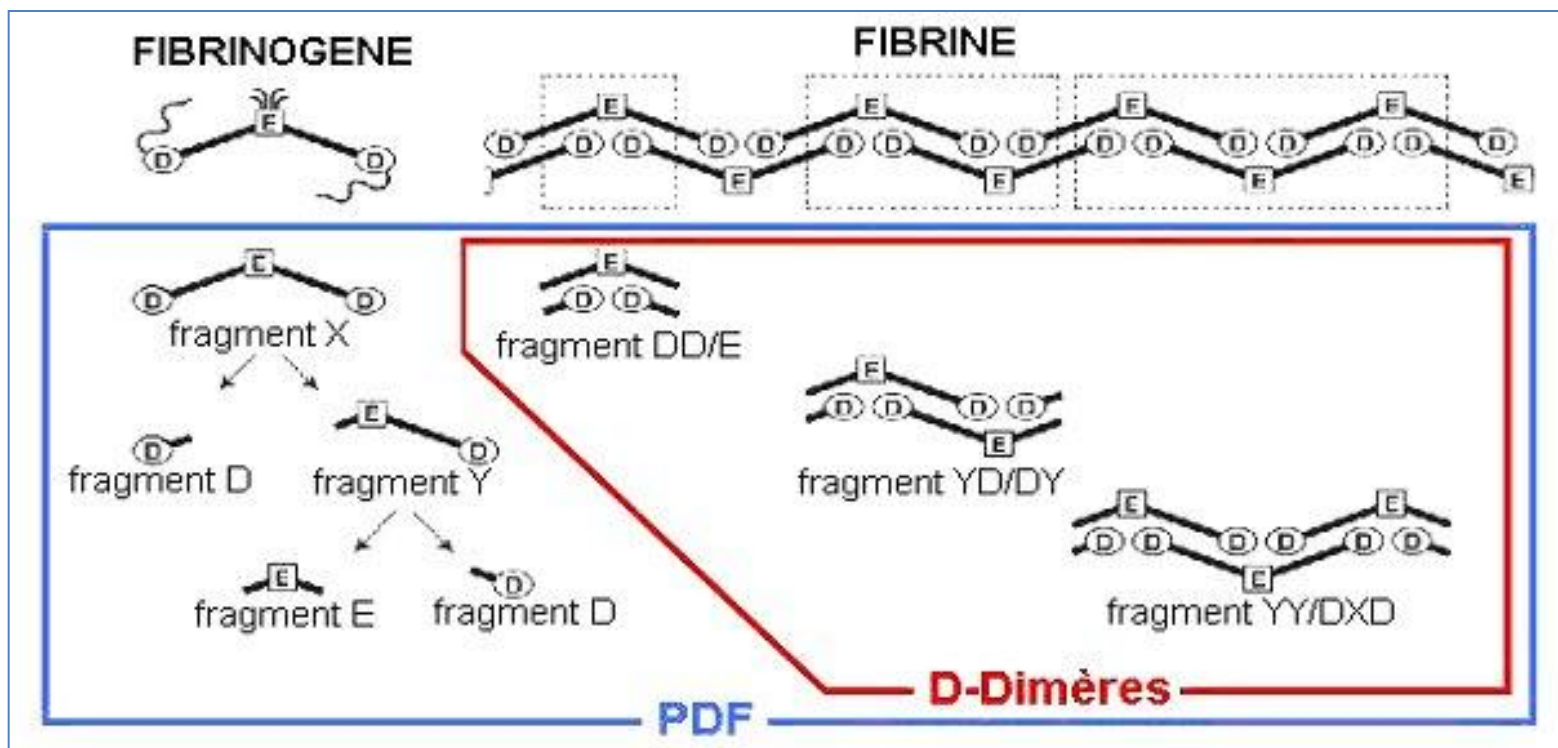
NASTANAK D-DIMERA

Organizam raspolaže sistemom (fibrinolitički sistem) za razgradnju krvnog ugruška. Stvorene fibrinske niti vezuju tkivni plazminogen i uzrokuju njegovo pretvaranje u plazmin. On razgrađuje stvoreni fibrinogen i fibrin.

Razgradnjom fibrinogena i fibrina djelovanjem plazmina nastaju fragmenti

Fibrin degradacioni proizvodi (FDP).

- Odvaja se fragment X.
- Djelovanjem plazmina na fragment X nastaju fragmenti Y i D.
- Iz Y fragmenta daljim cijepanjem nastaju **konačni proizvodi razgradnje fibrina i fibrinogena - fragmenti D i E.**

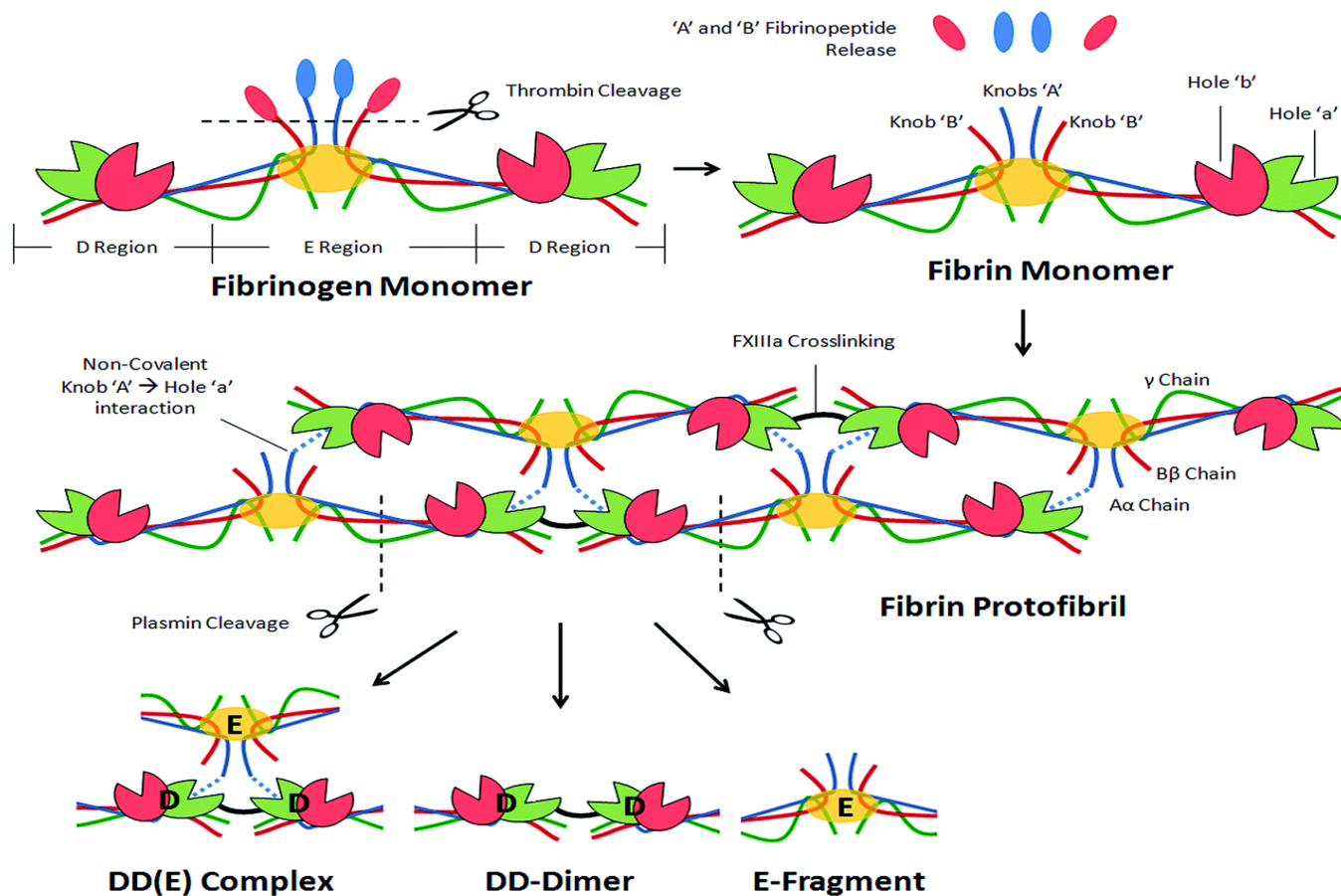


Konačni raspadni produkt fibrina je kompleks D- dimer nastao vezivanjem dva D fragmenta, a zatim se formira kompleks D-dimera i E-fragmenta.

Tipični D-dimer sadrži dvije D domene i jednu E domenu originalnog fibrinogena molekule.

D-dimeri nisu prisutni u ljudskoj krvi, tj. plazmi.

Poluvijek D-dimera iznosi otprilike 8 sati.



PRINCIP I METODA ODREĐIVANJA D-DIMERA

- Kada laboratorija preuzima D-dimer test ,za prvi korak u dijagnostici , važno je da se odabere test sa visokom osjetljivošću i niskim koeficijentom varijacije (CV) graničnih vrijednosti da bi se što više smanjili lažno negativni rezultati.
- Trenutno je na tržištu dostupno 30 komercijalnih testova.
- Na Institutu za kliničku hemiju i biohemiju KCUS pretraga D-dimer se radi na analizatoru BCS XP, proizvođač Siemens.
- Imunoturbidimetrija je metoda koja se koristi za određivanja D-dimera.
- Imunoturbidimetrija je imunohemijska metoda koja se izvodi u tekućem mediju.

PRINCIP I METODA ODREĐIVANJA D-DIMER

- Prva reakcija jeste ona između antigena i antitijela gdje nastaje zamućenje zbog nastalih kompleksa Ag-At.
- Maksimalna koncentracija kompleksa Ag-At naziva se metoda krajnje tačke
- (End-point method).
- Kod imunoturbidimetrije, nakon inkubacije, se mjeri apsorpcija svjetla.
- Standardna krivulja apsorpcije svjetlosti dobije se mjerenjem poznatih koncentracija antigena.
- Kod ovih tehnika može se mjeriti i brzina stvaranja kompleksa Ag-At, i to unutar prvih nekoliko minuta reakcije, jer se tada dobiju najveće promjene inteziteta apsorpcije s obzirom na vrijeme (Fixed-time method).

Određivanje D-dimera na Siemensovom analizatoru BCS XP

To je imunoturbidimetrijski test na mikročesticama polistirena koje su kovalentno prekrivene monoklonalnim antitijelima koja se mješaju sa uzorcima koja sadrže D-dimer.

Veživanjem antitijela i D-dimera iz uzorka dolazi do agregacijske reakcije, što za posljedicu ima povećanje zamućenosti koje se mjeri turbidimetrijski. BCS XP radi na fotometrijskom/turbidimetrijskom načelu.

Fotometar sadrži :

- izvor svjetlosti
- filtere za odabir željene valne dužine
- vodilice svjetlosti
- referentni kanal
- detektore za mjerenje.

Određivanje D-dimera na Siemensovom analizatoru BCS XP

Kao izvor svjetlosti u fotometru koristi se ksenonska lampa sa širokopojasnom emisijom. U zraku izvora svjetlosti zakreće se interferentni filter s odgovarajućom glavnom valnom dužinom da bi se dobila svjetlost željene valne dužine. Tako uskopojasno svjetlo usmjerava se na ulaz dvokanalne svjetlosti.

Svjetlost se u jednakim dijelovima kanalizira u kanal za mjerenje i u referentni kanal.

Sistem leća u kanalu za mjerenje podešava put svjetla tako da svjetlo koje se emitira iz vodilice svjetlosti gotovo paralelno prolazi kroz volumen za mjerenje u kivetu.

Prilikom prolaska kroz kivetu ,svjetlosna zraka slabi zbog raspršivanja česticama ili apsorpcije u otopinu (preparat).

Siemensov analizator BCS XP



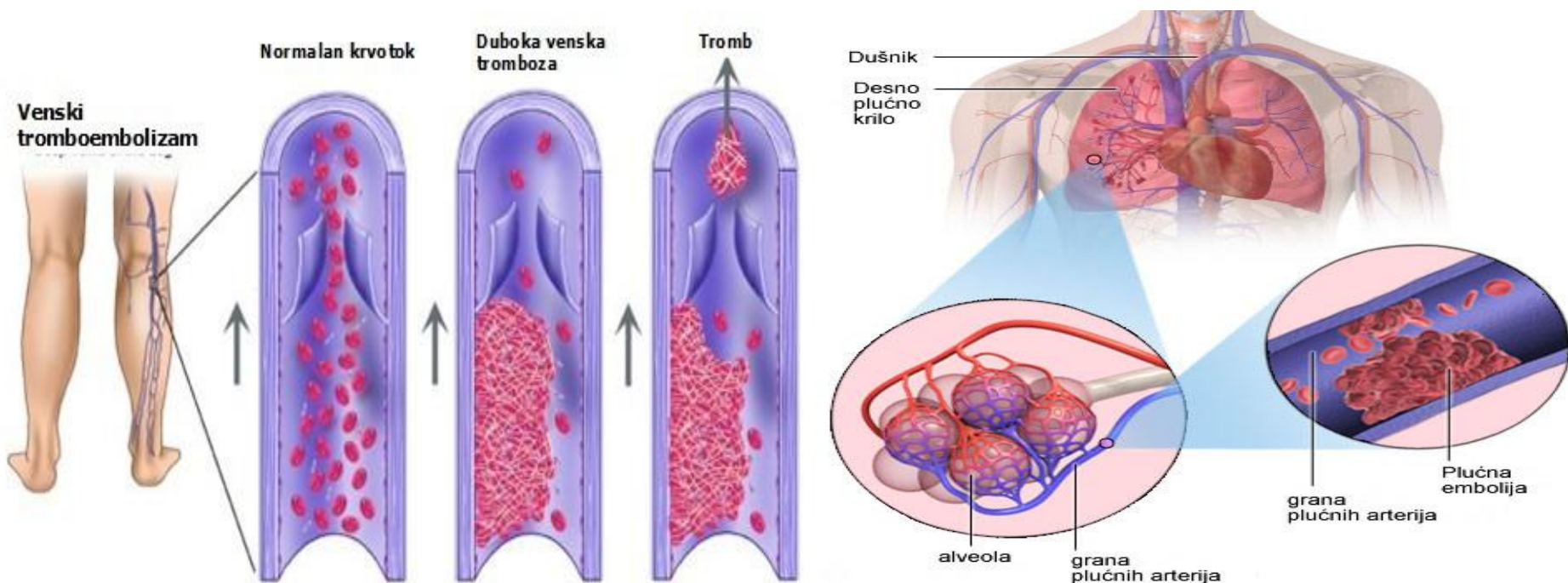
TROMBOZA

Tromboza je patološko formiranje koaguluma u odsustvu krvarenja.

Može biti arterijska i venska.

- Arterijski tromb –Bijeli tromb
- Venski tromb –Crveni tromb

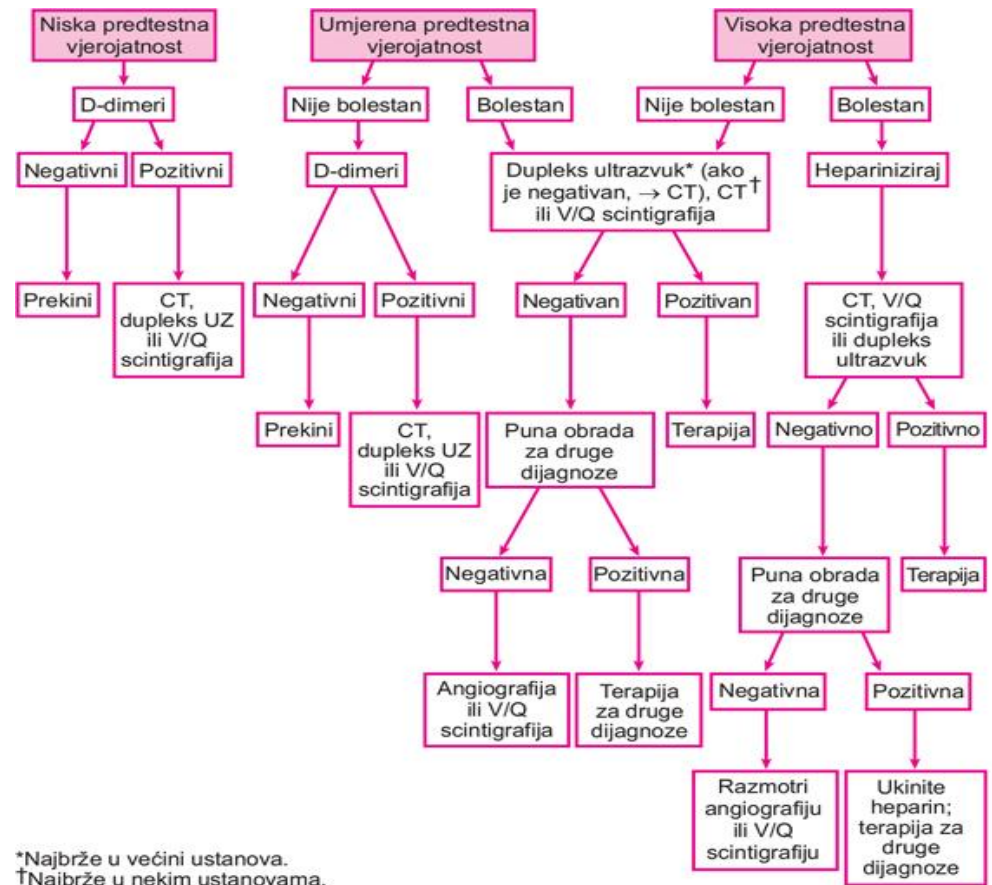
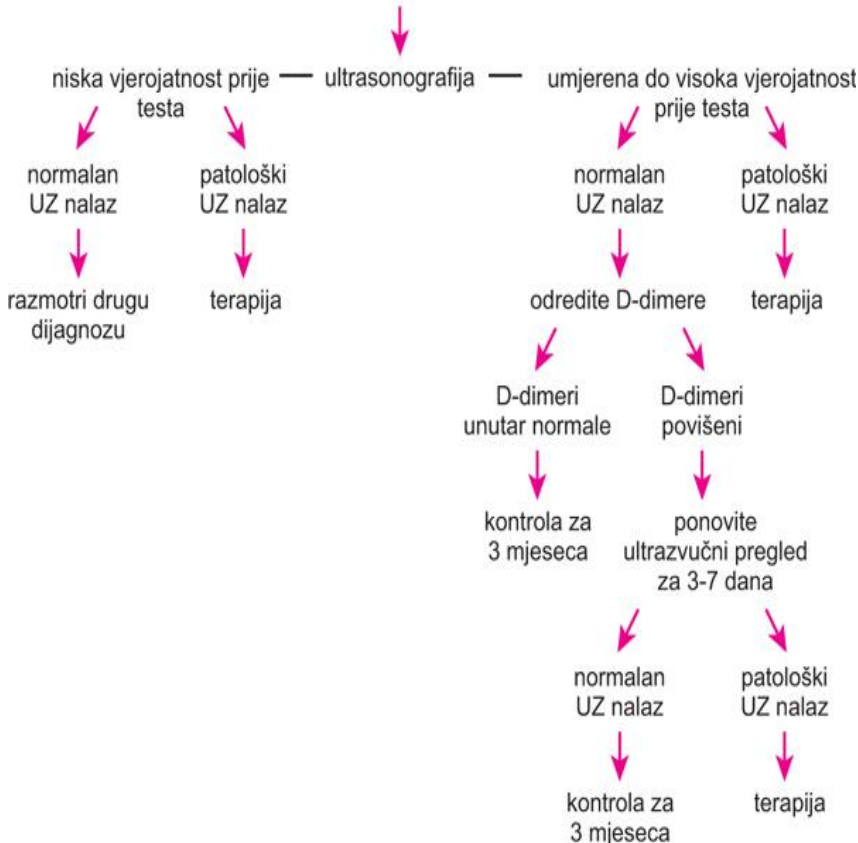
Venski tromboembolizam obuhvata trombozu dubokih vena(TDV) i plućnu emboliju (PE).



KLINIČKI ZNAČAJ D-DIMERA

Glavna dijagnostička primjena testiranja D-dimera jeste isključivanje tromboembolijskih događaja poput duboke venske tromboze i plućne embolije.

SUMNJA NA DUBOKU VENSKU TROMBOZU



*Najbrže u većini ustanova.
†Najbrže u nekim ustanovama.

KLINIČKI ZNAČAJ D-DIMERA

- On je jeftin ,brz i nespecifični marker. Negativan D-dimer test može učinkovito eliminirati potrebu za skupljim i dugotrajnijim dijagnostičkim metodama.
- Povišena vrijednost zahtijeva dodatna ispitivanja koja imaju za cilj potvrdu dijagnoze.
- Vrijednosti više od granične mogu se naći kod :
 - ✓ duboke venske tromboze
 - ✓ plućne embolije
 - ✓ diseminovane intravaskularne koagulacije (d-dimer kao pomoć pri postavljanju dijagnoze i praćenju efikasnosti terapije)
 - ✓ operacija
 - ✓ krvarenja
 - ✓ povreda
 - ✓ hematoma
 - ✓ trudnoće
 - ✓ bolesti jetre
 - ✓ upala
 - ✓ maligniteta.

KLINIČKI ZNAČAJ D-DIMERA

D-dimer se ne smije koristiti kao pomagalo radi isključivanja venske tromboze ili plućne embolije kod bolesnika sa sljedećim stanjima :

- Antikoagulacijska terapija u terapijskim dozama u roku >24 sata
- Fibrinolitička terapija u predhodnih 7 dana
- Trauma ili hirurški zahvat u predhodne 4 sedmice
- Aneurizme aorte
- Ciroza jetre
- Sepsa
- Teška infekcija (uključujući i tešku infekciju kože)
- Upala pluća.

Niske vrijednosti sa vrlo velikom vjerovatnoćom isključuje postojanje ugruška. Otkrivanje D-dimera u bolesnika s akutnim bolovima u prsima može pomoći u diferencijaciji kliničkog stanja bolesnika.