

Bartłomiej Walczak¹, Urszula Demkow¹, Anna Fijałkowska²

¹Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik: prof. dr hab. n. med. M. Wąsik

²Klinika Chorób Wewnętrznych Klatki Piersiowej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. A. Torbicki

Metody oznaczania stężenia D-dimerów przydatne w diagnostyce żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej

Methods of estimating concentration of the D-dimers used in venous thromboembolism diagnosis

Abstract

D-dimers (DD) are final products of stabilized fibrin degradation process. Elevated level of DD indicates parallel activation of both coagulation and fibrinolysis. D-dimers play important role in the diagnosis of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. All diagnostic methods detecting DD are based on monoclonal antibodies. There are three basic techniques used to measure DD: latex agglutination, full blood agglutination and immunoenzymatic methods. Nowadays new methods based on in vivo detection of DD using antibodies labeled with technetium are under clinical evaluation.

Key words: D-dimers, laboratory diagnosis, pulmonary embolism, deep vein thrombosis

Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 264–270

Streszczenie

D-dimery (DD) to produkty degradacji stabilnej fibryny. Podwyższone stężenie DD wskazuje na wzmożoną aktywację procesów krzepnięcia i fibrylizacji. Jako parametr diagnostyczny znalazły zastosowanie między innymi w diagnostyce zakrzepicy żył głębokich oraz zatorowości płucnej. Wszystkie metody oznaczania DD bazują na wykorzystaniu przeciwciał przeciwko D-dimerom. Można wyróżnić trzy podstawowe zasady oznaczania, które opierają się na: metodach lateksowych, metodach aglutynacji pełnej krwi, oraz najpowszechniej stosowanych metodach immunoenzymatycznych. Obecnie w fazie badań jest metoda posługująca się D-dimerami w diagnostyce *in vivo*, wykorzystująca przeciwciała przeciwko D-dimerom znakowane izotopem technetu.

Słowa kluczowe: D-dimery, diagnostyka laboratoryjna, zator tętnicy płucnej, zakrzepica żył głębokich

Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 264–270

D-dimery — definicja i droga powstawania

D-dimery są to produkty rozpadu fibryny składające się z dwóch fragmentów D połączonych podwójnym kowalencyjnym wiązaniem (D=D). Zwiększona zawartość D-dimerów w osoczu świadczy o równoczesnej aktywacji krzepnięcia i fibrylizacji, natomiast nie stanowi bezpośredniego dowodu na toczący się proces zakrzepowo-zatorowy.

Krzepnięcie

W prawidłowo funkcjonującym organizmie istnieje dynamiczna równowaga pomiędzy procesami krzepnięcia i fibrylizacji. Aktywacja krzepnięcia krwi i jej następstwa — odkładanie złożeń fibryny — jest niezbędnym warunkiem sprawnej hemostazy, czyli hamowania krwawień po przerwaniu ciągłości naczyń krwionośnych. Pierwszą

Adres do korespondencji: dr hab. n. med. Urszula Demkow, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Praca wpłynęła do Redakcji: 27.03.2008 r.

Copyright © 2009 Via Medica

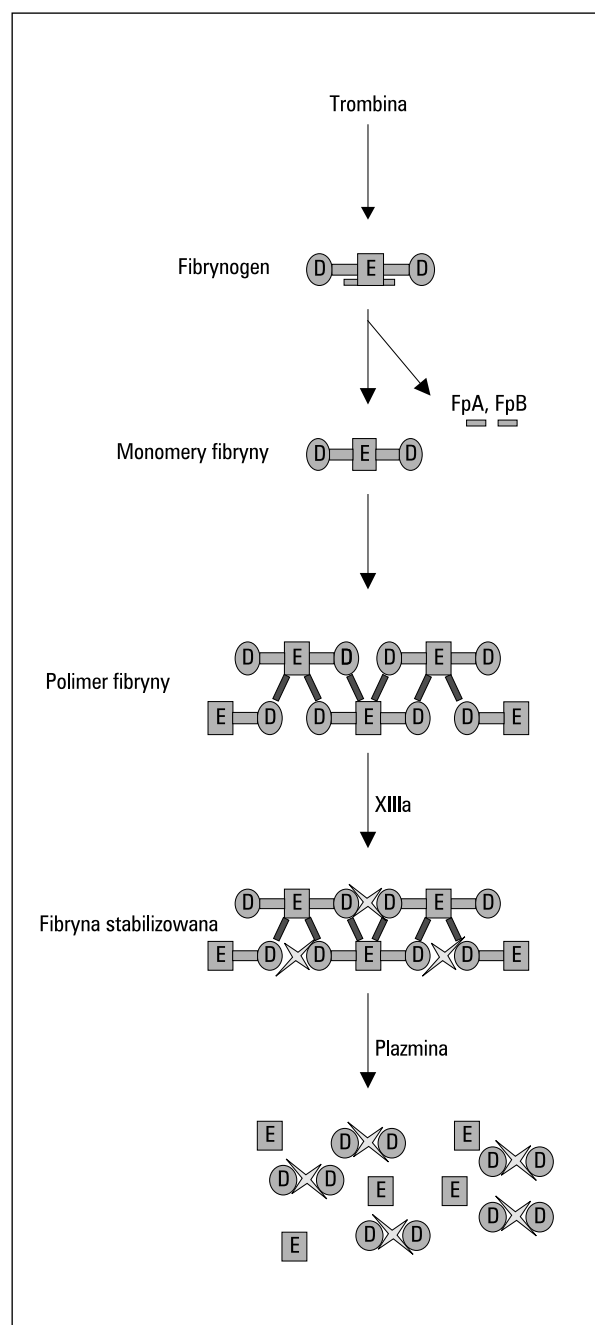
ISSN 0867–7077

fazą w przebiegu krzepnięcia krwi jest kaskadowa aktywacja osoczowych czynników krzepnięcia krwi szlakiem wewnątrzpochodnym i/lub zewnątrzpochodnym (zależnym od aktywacji czynnika VII przez czynnik tkankowy), a następnie dochodzi do przekształcenia fibrynogenu w fibrynę, która wzmacnia czop płytkowy [1]. Ostatnim etapem hemostazy jest retrakcja skrzepu. Stabilizacja skrzepu polega na wytworzeniu krzyżowych wiązań kowalencyjnych łączących ze sobą sąsiadujące łańcuchy fibryny [1]. Skrzep ustabilizowany charakteryzuje się większą wytrzymałością na odkształcanie mechaniczne oraz jest bardziej oporny na działanie fibrynolityczne [2–4].

Fibrynoliza

Po wytworzeniu skrzepu i wypełnieniu jego funkcji (zahamowanie krwawienia) dochodzi do aktywacji fibrynolizy [2–4] (ryc. 1). Fibrynoliza prowadzi do rozpuszczenia złożeń fibryny powstałych wewnątrznaczyniowo lub wskutek uszkodzenia naczynia. Proces fibrynolizy rozpoczyna się od przekształcenia pod wpływem aktywatorów nieaktywnego plazminogenu w aktywną plazminę. Pod wpływem działania plazminy na fibrynogen lub fibrynę powstają różnej wielkości cząsteczki białkowe, zwane produktami rozpadu fibrynogenu/fibryny (FDP, *fibrinogen/fibrin degradation products*). W pierwszym etapie działania plazminy na fibrynogen lub fibrynę następuje odszczepienie niewielkich peptydów z C-końcowych odcinków łańcucha α i większego fragmentu z końca N łańcucha β . Powstała w taki sposób cząsteczka X ma masę około 240–260 kD i jest nadal podatna na działanie plazminy. Następnie dochodzi do przecięcia trzech łańcuchów polipeptydowych w pierwszej podjednostce cząsteczki X i powstaje fragment Y o masie cząsteczkowej 150 kD oraz fragment D. Pod wpływem działania plazminy na fibrynogen powstaje pojedynczy fragment D (monomer), natomiast gdy plazmina działa na fibrynę ustabilizowaną, wówczas fragment otrzymany po degradacji cząsteczki X ma charakter dimeru, zwanego D-dimerem. Dalsze działanie plazminy na fragment Y powoduje ponowne przecięcie trzech łańcuchów polipeptydowych w drugiej podjednostce, w wyniku czego powstaje fragment D (w przypadku fibrynogenu) lub cząsteczka D-dimeru (gdy plazmina działa na fibrynę) oraz fragment E o masie cząsteczkowej 30–50 kD [5].

Obecność D-dimerów jest bardzo dobrym, swoistym wskaźnikiem powstawania w organizmie stabilnej fibryny. D-dimery nie tworzą się w procesie rozkładu fibrynogenu ani monomerów fibryny,



Rycina 1. Powstawanie D-dimerów. FpA — fibrynopeptyd A, FpB — fibrynopeptyd B

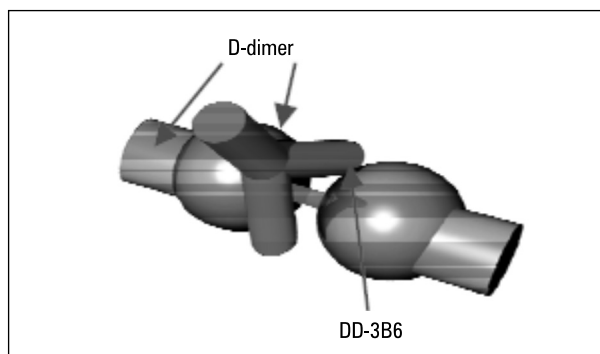
Figure 1. The D-dimers creation process

ny, ponieważ w obu tych strukturach brakuje podwójnego wiązania wytworzonego pod wpływem czynnika XIII pomiędzy fragmentami D. Właśnie obecność podwójnego wiązania między fragmentami D została wykorzystana przy opracowaniu metod oznaczania D-dimerów, które nie dają wyników fałszywie dodatnich, nawet gdy w osoczu znajduje się duża ilość pojedynczych fragmentów D pochodzących z rozpadu fibrynogenu bądź fibryny niestabilnej [6–10].

Metody oznaczania

Obecnie na rynku dostępnych jest bardzo wiele różnych testów do oznaczania stężenia D-dimerów. Niektóre z nich są testami półilościowymi, inne testami ilościowymi. Różnią się one między sobą metodą wykonania, sposobem odczytu wyniku, rodzajem materiału wykorzystywanego do badania. Oznaczanie D-dimerów jest możliwe przy użyciu przeciwciał monoklonalnych przeciwko D-dimerom. Wykorzystanie tych przeciwciał jest wspólną cechą wszystkich testów służących do oznaczania D-dimerów. W 1979 roku Gaffney twierdził, że test specyficzny dla D-dimerów mógłby posłużyć jako wskaźnik degradacji stabilnej fibryny [11]. Początkowo w testach wykorzystywano przeciwciała poliklonalne. Testy te, pomimo że były szybkie i powszechne w użyciu, nie były specyficzne dla produktów rozkładu fibryny, a jedynie dla produktów rozkładu fibrynogenu. W 1983 roku Rylatt wykorzystał przeciwciała monoklonalne DD-3B6/22 skierowane przeciwko D-dimerom (ryc. 2) [11].

Przeciwciała monoklonalne otrzymuje się przez immunizację zwierząt, najczęściej myszy, D-dimerami [7]. Początkowo należy wyizolować czystą frakcję D-dimerów, która będzie służyć jako antygen do immunizacji. Izolacja D-dimerów bazuje na technice wykorzystującej żelową filtrację w połączeniu z chromatografią jonowymienną, w czego wyniku fibrynogen, fragmenty E i pojedyncze fragmenty D zostają usunięte, natomiast otrzymuje się oczyszczoną frakcję D-dimerów. Utrudnieniem jest fakt, że oczyszczone D-dimery łatwo ulegają degradacji. Przygotowuje się więc z nich ekstrakt, który wstrzykuje się zwierzętom doświad-



Rycina 2. Miejsce przyłączenia się przeciwciał anti-D-dimer do cząsteczki D-dimeru (Źródło: http://www.agenix.com/index.php/agx/content/download/258/1149/version/3/file/AGM+slides_21+Nov+06_nl_FINAL.pdf)

Figure 2. Point of the association the anti-D-dimer antibodies with the D-dimer molecule

czalnym — myszom lub szczurom. Po kilku dniach izoluje się śledzionowe krwinki białe myszy, głównie limfocyty. Otrzymane tak komórki są sprzęgane z komórkami mysiego szpiczaka mnogiego. W ten sposób otrzymuje się nieśmiertelne hybrydy produkujące monoklonalne przeciwciała, w tym wypadku przeciwko D-dimerom [12]. Materiałem do badań jest osocze krwi uzyskane po pobraniu na cytrynian sodu (lub pełna krew w przypadku szybkich metod przyłóżkowych).

Warunkiem uzyskania prawidłowych wyników jest przestrzeganie zasad przechowywania materiału badanego:

- w temperaturze 2–8°C osocze może być przechowywane przez 24 h;
- w temperaturze około –25°C można przechowywać osocze przez około 2 miesiące. Osocze musi być zamrożone natychmiast po oddzieleniu od elementów morfotycznych krwi. Przed badaniem należy je szybko rozmrozić w temperaturze 37°C, a oznaczenia należy przeprowadzić natychmiast po rozmrożeniu.

Co prawda na wynik pomiaru D-dimerów nie ma znaczącego wpływu stężenie bilirubiny, hemoliza czy lipemia, jednak niewskazane jest wykonanie oznaczenia w próbce krwi wykazującej znaczną hemolizę lub z wyraźną lipemią. Natomiast interferencje mogą wystąpić, jeżeli w krwi badanej osoby znajdują się przeciwciała skierowane przeciwko składnikom wchodzącym w skład zestawu odczynników.

Otrzymanie monoklonalnych przeciwciał przyczyniło się do znacznego rozwoju metod oznaczania D-dimerów. Obecnie wszystkie dostępne na rynku testy wykorzystują monoklonalne przeciwciała przeciwko D-dimerom. W zależności od metody wykonania można podzielić je na:

Metody lateksowe

Metody lateksowe można podzielić na: (a) standardowe, (b) testy immunoturbidymetryczne i (c) testy immunofiltracyjne [7].

a) Testy standardowe

Standardowe metody lateksowe wykorzystują mikrocząsteczki lateksu opłaszczane monoklonalnymi przeciwciałami specyficznymi dla D-dimerów. Tak opłaszczane cząsteczki lateksu inkubuje się z osoczem badanym. Jeżeli zawiera ono D-dimery, dochodzi do powstania widocznej makroskopowo aglutynacji. Czulość testów lateksowych jest określana na około 1 µg/ml. Mimo że standardowe testy lateksowe są niedrogie i szybkie, jednak ich stosunkowo niska czulość ogranicza możliwość ich wykorzystania, szczególnie w diagnostyce zatoru tętnicy płucnej oraz w ostrej zakrzepicy żył głębokich [10, 13].

b) Testy immunoturbidymetryczne

Metoda ta jest stosunkowo niedroga, o krótkim czasie wykonania.

Test opiera się na reakcji monoklonalnych przeciwciał anti-D-dimer z D-dimerami znajdującymi się w osoczu. Przeciwciała opłaszczają powierzchnie mikrocząstek lateksowych. Połączenie między przeciwciałami a cząsteczkami lateksu ma charakter wiązań kowalencyjnych. Gdy osocze zawierające D-dimery zostanie dodane do zawiesiny cząstek lateksu opłaszczonych przeciwciałami, nastąpi aglutynacja objawiająca się zmętnieniem. Pomiar dokonywany jest metodą fotometryczną przy długości fali 540 nm i polega na pomiarze promienia światła monochromatycznego przechodzącego przez badany roztwór. Powstałe aglutynaty mają większą średnicę niż częstotliwość fali, przy której dokonywany jest pomiar. Powoduje to wzrost absorpcji światła proporcjonalny do zawartości D-dimerów w próbce. Obecność w próbce cząstek lateksu niezwiązanych D-dimerami nie wpływa znacząco na wynik oznaczenia, ponieważ cząsteczki lateksu opłaszczone przeciwciałami i niepołączone z antygenem mają mniejszą średnicę niż częstotliwość fali, przy której dokonywany jest pomiar [7].

Testami bazującymi na tej zasadzie są:

- Bio-Ksel System D-Dimery producent: Bio-Ksel aparat: Coag Chrom 3003, Chrom-7;
- D-dimer producent Instrumentation Laboratory/Comesa aparat: ACL 7000/8000/9000/10000;
- D-Dimer PLUS, Advanced D-Dimer PLUS producent: Dade Behring aparat: BCS[®], BCT[®] (Dade Behring); CA[®] (Sysmex Corp.);
- STA LIATEST[®] D-DIMER producent: DIAGNOSTICA STAGO aparat: STA[®] Compact (Roche/STAGO);
- Tina-quant[®] producent: Roche Diagnostics aparat: Hitachi, Modular, Cobas Integra (Roche Diagnostics);
- Turbiquant[®] D-Dimer producent: Dade Behring aparat: TurbiTimer[®] System (Dade Behring).

c) Test immunofiltracyjny

W testach tego typu przeciwciała monoklonalne wbudowane są w cienką porowatą membranę [7].

Metody aglutynacji pełnej krwi

Metoda ta opiera się na wykorzystaniu przeciwciała bispecyficznego dla D-dimerów oraz antygenów krwinek czerwonych [7]. Krew pełna dodana do roztworu przeciwciał w obecności D-dimerów powoduje widoczną aglutynację krwinek czerwonych [10]. Jednym z testów bazujących na tej zasadzie jest test SimpliRED[®] D-dimer. Jest szybkim jakościowym testem. Służy do wykrywania D-dimerów w pełnej krwi. Ze względu na łatwe i szyb-

kie wykonanie test ten może być wykorzystywany jako tak zwany przyłózkowy test do półilościowego oznaczania stężenia D-dimerów. Do wykonania tego testu potrzeba niewielkiej ilości krwi. Odczyt wyniku odbywa się w sposób wizualny [14].

Ograniczenia metody: SimpliRED[®] jest testem półilościowym i dzięki niemu można wykryć podwyższone stężenie D-dimerów powyżej 0,20 mg/l, natomiast nie można na jego podstawie określić całkowitego stężenia D-dimerów we krwi [14]. Ocena testu jest wykonywana wizualnie, co ma duży wpływ na wynik, ponieważ jest zależny od doświadczenia osoby odczytującej. Ograniczeniem metody jest możliwość aglutynacji, niezależnej od stężenia D-dimerów w przypadku obecności zimnych aglutynin w próbce krwi pacjenta [14].

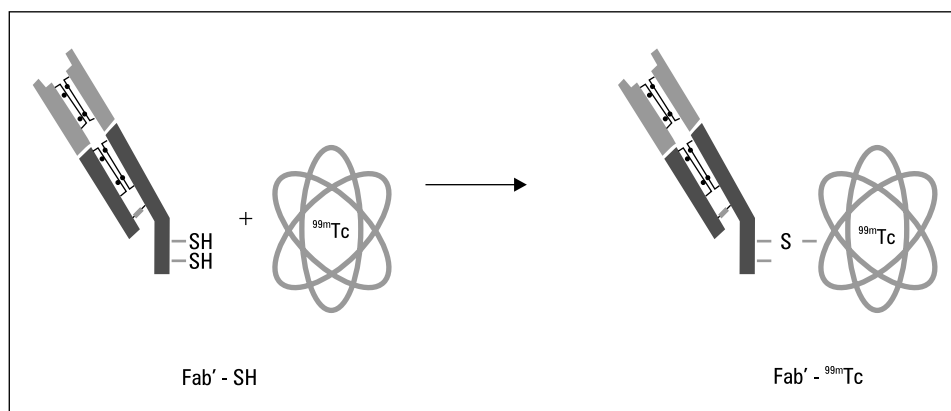
Metody immunoenzymatyczne

Należą do najważniejszych metod wykorzystywanych do ilościowego oznaczenia D-dimerów. Przy oznaczaniu tą metodą znalazły zastosowanie dwa rodzaje przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko D-dimerom. Jedno z nich związane jest ze ścianą naczynia i po dodaniu badanego osocza zawierającego D-dimery wiąże je. Następnym etapem jest odpłukanie niezwiązanych z przeciwciałami D-dimerów oraz innych składników osocza. Po odpłukaniu dodaje się drugi rodzaj przeciwciał połączonych z enzymem. Po czym następuje ponowne płukanie w celu usunięcia nadmiaru przeciwciał. Ostatnim etapem jest dodanie odpowiedniego substratu, który będzie rozkładany przez enzym połączony z przeciwciałem, w wyniku czego będzie powstawał produkt barwny lub wykazujący fluorescencję. Pomiar natężenia barwy lub fluorescencji jest proporcjonalny do zawartości D-dimerów w badanej próbce [7]. Testami bazującym na tej zasadzie są:

- VIDAS[®] D-dimer Exclusion[™];
- CARDIAC D-Dimer;
- AxSYM[®] D-dimer.

VIDAS[®] D-dimer Exclusion[™] należy do najszerszej stosowanych testów zarówno w laboratoriach polskich, jak i za granicą. Został wprowadzony na rynek przez firmę bioMérieux. Jest szybkim testem automatycznym, wynik otrzymuje się w ciągu około 40 minut. Wykonywany jest na aparatach typu miniVIDAS lub VIDAS PC. Oznaczenie wykonywane jest w sposób ilościowy metodą immunoenzymatyczną enzymoimmunofluorescencyjną (ELFA, *enzyme linked fluorescent assay*).

Zakres pomiarowy testu VIDAS[®] D-dimer Exclusion[™] wynosi od 45 ng/ml do 10 000 ng/ml, przy czym wyniki 45–1000 ng/ml są odczytywane na jednej krzywej kalibracyjnej, natomiast wyniki 1000–10 000 ng/ml



Rycina 3. Przyłączenie technetu (Tc^{99m}) do fragmentu Fab monoklonalnych przeciwciał 3B6 przeciwko D-dimerom (Źródło: http://www.genix.com/index.php/agx/content/download/291/1287/version/1/file/Investor+Presentation_17+Apr+07_Final.pdf)

Figure 3. Connection of the technetium with a fragment of Fab D-dimer monoclonal antibodies 3B6

są odczytywane na drugiej krzywej kalibracyjnej [7]. Jeżeli stężenie D-dimerów wynosi powyżej 10 000 ng/ml, wówczas należy rozcieńczyć próbkę badaną za pomocą rozcieńczalnika w stosunku 1:5.

CARDIAC D-Dimer jest testem wprowadzonym do powszechnego użycia przez firmę ROCHE Diagnostic. Należy on do tak zwanych szybkich przyłóżkowych testów, które mają na celu jak najszybsze uzyskanie wyniku badania. W metodzie tej D-dimery oznaczane są w sposób ilościowy. Do badania wykorzystywana jest krew pełna, co znacznie skraca czas oczekiwania na wynik, ponieważ eliminuje etap wirowania próbki. Odczyt wyniku odbywa się w sposób automatyczny za pomocą urządzenia, jakim jest Cardiac Reader [15, 16].

Zakres pomiarowy urządzenia Cardiac Reader mieści się w granicach od 0,1 $\mu\text{g/ml}$ do 4 $\mu\text{g/ml}$, norma dla tego aparatu wynosi 0,5 $\mu\text{g/ml}$ [16].

AxSYM[®] D-dimer jest testem wprowadzonym na rynek przez firmę Abbott. W tym teście wykorzystuje się technikę immunoenzymatyczną z zastosowaniem mikrocząstek. Oznaczenie stężenia D-dimerów za pomocą tego testu przeprowadza się w osoczu pobranym na cytrynian. Czas wykonania badania wynosi około 15 minut. Test ten pozwala na oznaczenie stężenia D-dimerów do 9000 ng/ml bez konieczności rozcieńczania próbki badanej. Negatywna wartość predykcyjna tego testu wynosi ponad 98% [17].

ThromboView[®]

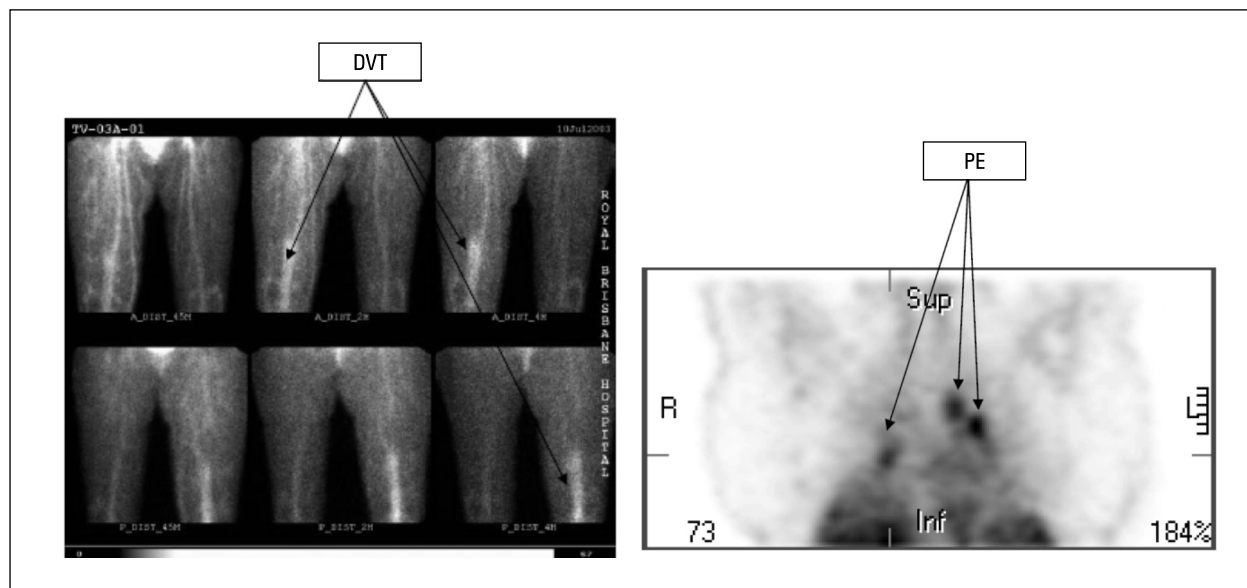
Nowatorską koncepcją wykorzystania oznaczania D-dimerów jest test ThromboView. Bazuje on, podobnie jak wszystkie testy służące do oznaczania D-dimerów, na przeciwciałach monoklonalnych przeciwko D-dimerom. W przeciwieństwie do

innych testów służy do diagnostyki *in vivo* [18]. Został on opracowany i opatentowany przez australijską firmę AGENIX. Obecnie nie jest jeszcze dostępny na rynku. W przyszłości będzie najprawdopodobniej wykorzystywany w medycynie nuklearnej dla rozpoznawania i lokalizacji skrzeplin w organizmie pacjenta [18].

Zasada testu: w strukturze powstającego skrzepu znajdują się fragmenty, z których po rozpuszczeniu skrzepu powstają D-dimery. Przeciwciała zawarte w ThromboView są komplementarnie dopasowane do D-dimerów. Przeciwciała te są znakowane technetem (Tc^{99m}). Mysie monoklonalne przeciwciała (3B6) zostają poddane najpierw deimmunizacji. Następnie przeciwciała pozbawiane są fragmentu Fc, a do pozostałych fragmentów Fab następuje przyłączenie technetu (Tc^{99m}) (ryc. 3) [18].

Odczynnik jest podawany pacjentowi w formie iniekcji i wraz z prądem krwi przeciwciała znakowane technetem rozprowadzane są po całym organizmie. Przeciwciała łączą się z D-dimerami znajdującymi się w strukturze skrzepu (ryc. 4). Znakovanie technetem pozwala na zlokalizowanie miejsca powstania zakrzepu przez detekcję promieniowania emitowanego przez Tc^{99m} . Wykrycia tego można dokonać metodą scyntygraficzną SPECT (tomografia emisyjna pojedynczego fotonu) lub PET (pozytonowa emisyjna tomografia komputerowa).

Pierwszą fazę badań nad ThromboView firma AGENIX rozpoczęła w 2002 roku na terenie Australii i określała bezpieczeństwo stosowania, farmakokinetykę oraz dawkowanie [18]. ThromboView i zawarte w nim przeciwciała są dobrze tolerowane i nie wywołują ostrych reakcji. W drugiej fazie badań nad ThromboView z ustaloną dawką 0,5 mg ThromboView podawano osobom ze stwierdzoną



Rycina 4. Skrzepliny żyłne w kończynach dolnych i w łóżysku tętnicy płucnej (Źródło: http://www.agenix.com/index.php/agx/content/download/291/1287/version/1/file/Investor+Presentation_17+Apr+07_Final.pdf)

Figure 4. Vain thrombus in lower limbs and in the lung artery

zakrzepicą żylną i zatorem tętnicy płucnej, z satysfakcjonującymi wynikami czułości i specyficzności metody. Jeżeli dalsze badania przebiegną pomyślnie, w niedługim czasie test ten powinien zostać wprowadzony na rynek [18].

Najważniejszymi zaletami tej metody jest możliwość potwierdzenia i wykrycia lokalizacji żyłnej choroby zatorowo-zakrzepowej. Metoda ta pozwala wykryć nawet bardzo niewielkie skrzepliny. Z dotychczasowych badań przeprowadzonych przez firmę AGENIX wynika, że przy zastosowaniu metody ThromboView udało się potwierdzić zakrzepicę żył głębokich w 89% przypadków, gdy badanie było wykonane 3 h po podaniu przeciwciał wyznakowanych izotopem technetu. Test ThromboView ma też bardzo wysoką negatywną wartość predykcyjną — u 95% badanych bez zakrzepicy wynik testu ThromboView był negatywny [18].

Największą wadą tej metody jest bardzo wysoki koszt. Aparatura stosowana do detekcji emitowanego przez izotop promieniowania jest bardzo droga. Ośrodek badań zajmujący się tego rodzaju diagnostyką musiałby być wyposażony w cyklotron do produkcji izotopu technetu (ma on krótki czas połowicznego rozpadu), co jeszcze dodatkowo podnosi koszty.

Podsumowanie

Testy służące do oznaczenia stężenia D-dimerów różnią się od siebie, a otrzymane wyniki w mcg/ml

czy ng/ml można odnosić tylko do danej metody oznaczenia. Wyniki otrzymane różnymi metodami nie powinny być porównywane. Ze względu na różnice między testami poszczególnych producentów trudne jest ustalenie jednej, wspólnej dla wszystkich testów wartości odcięcia (*cut-off*). Wynika to także z braku na rynku wspólnego dla różnych testów standardu i kalibratora [7].

W 2001 roku opublikowano badania *The Fibrin Assay Comparison Trial* (FACT), porównujące 23 testy do oznaczania D-dimerów. Analizy te miały być pomocne dla wytworzenia wspólnego kalibratora D-dimerowego. Dzięki nim udało się wykazać kilka różnic pomiędzy poszczególnymi testami wynikających z [7]:

- specyficzności przeciwciał monoklonalnych stosowanych w oznaczeniach;
- zmian w ekspresji neoepitopów w czasie rozpuszczania fibryny, co jest przyczyną powstawania różnic wyników przy stosowaniu różnych odczynników;
- rodzaju kalibratora, a dokładnie jego czystości i heterogenności;
- wpływu osocza na prezentację epitopów;
- występowania interferencji wynikającej z obecności fibryny niestabilizowanej.

Na podstawie wspomnianych wcześniej badań wyciągnięto wnioski, że wspólny kalibrator dla wszystkich testów do oznaczania D-dimerów powinien być wystandaryzowanym preparatem fibryny i produktów degradacji fibrynogenu podobnych do tych, jakie występują w osoczu badanym.

Szybkie i czułe testy pozwalające określić stężenie D-dimerów znalazły stałe miejsce w przesiewowej diagnostyce zakrzepicy żyłnej i zatorowości płucnej. Pozwalają one z dużym prawdopodobieństwem wykluczyć u osoby badanej obecność epizodów zakrzepowych i przez to oszczędzić dalszych, często kosztownych badań obrazowych. D-dimery mogą również znaleźć wkrótce zastosowanie w diagnostyce i lokalizacji zakrzepicy *in vivo*. Metoda ta wiąże się z wykorzystaniem pierwiastków radioaktywnych, co niestety wpływa na koszt badania.

Szybkość postępu nauki w medycynie pozwala mieć nadzieję, że wkrótce będzie możliwe wykorzystanie D-dimerów w znacznie szerszym zakresie. Będzie też możliwe wyprodukowanie jednego wspólnego kalibratora dla wszystkich testów. W niedalekiej przyszłości należy się spodziewać opracowania jednej metody referencyjnej do oznaczania D-dimerów.

Piśmiennictwo

- Mariańska B., Fabijańska-Mitek J., Windyga J. Badania laboratoryjne w hematologii podręcznik dla słuchaczy studiów medycznych. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2003; 151–223.
- Bomski H. Podstawowe laboratoryjne badania hematologiczne. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 1995; 254–320.
- Dembińska-Kieć A., Nastalski W.J. i wsp. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Urban & Partner, Wrocław 2002; 487–536.
- Maj S., Mariańska B., Seyfriedowa H. Hematologia. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 1996; 16–147.
- Łopaciuk S. Zakrzepy i zatory. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2002; 19–421.
- Constantinescu A.A., Berendes P.B., Levin M.D. Disseminated intravascular coagulation and a negative D-dimer test. Netherlands J. Med. 2007; 65: 398–400.
- Fijałkowska A. D-dimery w żyłnej chorobie zakrzepowo-zatorowej. bioMérieux. Warszawa 2003; 4–24.
- http://eco83.econ.unito.it/dottorato/modelli_biologici/Interpreting%20D-dimer.doc
- <http://intmedweb.wfubmc.edu/download/ddimers.ppt#256,2>, D-Dimers: Clinical Utility in the Diagnosis of PE
- <http://www.pathology.vcu.edu/clinical/coag/D-Dimer.pdf>
- <http://www.clinchem.org/cgi/reprint/33/10/1837.pdf>
- <http://www.wikipatents.com/4758524.html>
- Mukhopadhyay A., Venkatesh S., Goh P.S., Lim T.K. Use of Dimer and lower extremity Doppler ultrasound results to obviate the need for computerised tomographic pulmonary angiography. An. Acad. Med. Singapore. 2006; 35: 858–863.
- <http://www.americandiagnostica.com/800SR.pdf>
- Legnani C., Fariselli S., Cini M. A new rapid bedside assay for quantitative testing of D-Dimer (Cardiac D-Dimer) in the diagnostic work-up for deep vein thrombosis. Thromb. Res. 2003; 111: 149–153.
- Ulotka informacyjna dołączona do testu Cardiac D-dimer firmy ROCHE Diagnostics.
- http://www.abbottdiagnostics.com.au/pubs/2006/AACC_2006_Robertson_AxSYM_D-Dimer.pdf
- Macfarlane D.J., Smart R.C., Tsui W.W., Gerometta M., Eisenberg P.R., Scott A.M. Safety, pharmacokinetic and dosimetry evaluation of the proposed thrombus imaging agent ^{99m}Tc-DIDD-3B6/22-80B3 Fab'. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2006; 33: 648–656.