

ХЕМОСТАЗНИ ТЕСТОВЕ ЗА ОЦЕНКА НА ТРОМБОЗА

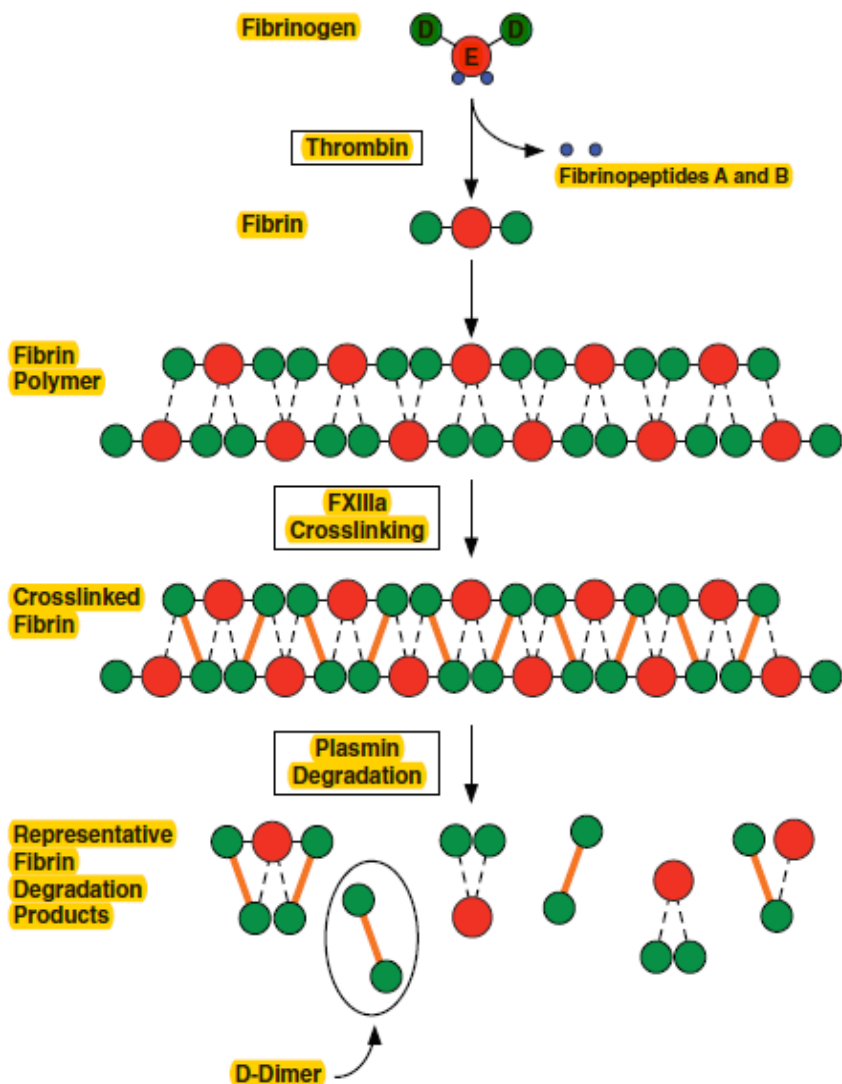
Д-р Евелина Дончева

НКБ

DD - ВЪВЕДЕНИЕ

- DD е биомаркер на образуването/деградацията на фибрин, който може да бъде измерен в пълна кръв или плазма
- При здрави индивиди се установяват ниски нива на циркулиращ DD, докато увеличени нива се наблюдават при състояния, свързани с тромбоза
- DD е интегрална част от валидирани алгоритми за диагнозата на ДВТ и БТЕ
- Оценен и при определяне на оптималната продължителност на АК терапия
- Диагноза и мониториране на ДИК
- Несигурна роля при:
 - Предсказване на риска от инсулт при пациенти с ПМ
 - Идентифициране на пациенти с КАБ и риск от ССС
 - Изключване на остра дисекация на аортата

КАКВО Е D-DIMER?



- Специфичен продукт на деградацията на фибриновия съсирек, която е резултат от действието на 3 ензима:
 1. **Тромбин:** генериран от активираната коагулационна с-ма; конвертира Fib в нековалентни фибринови мономери
 2. **FXIIIa:** стабилизира фибриновия съсирек посредством образуване на ковалентни връзки м/у 2 γ - или 2 α -вериги
 3. **Плазмин:** най-важният ензим на фибринолизата, който разцепва неразтворимия фибрин

УВЕЛИЧЕНИ СТОЙНОСТИ НА DD

Състояния, които не са свързани с патология:

- Бременност и пуерпериум
- Възраст: физиологично малки количества фибриноген се превръщат във фибрин, DD нарастват с възрастта
- Етнос (афро-американци)
- Скорошна травма
- Постоперативен период
- Тютюнопушене

Състояния, свързани с патология:

- Кървене
- Тромбоза – венозна/артериална¹
- ДИК
- Сърдечно-съдови заболявания: ПМ, ЗСН, ЛК аневризма, остра дисекация на аортата
- Бъбречни/чернодробни заболявания
- Малигнени заболявания
- Инфекции/хронично възпаление

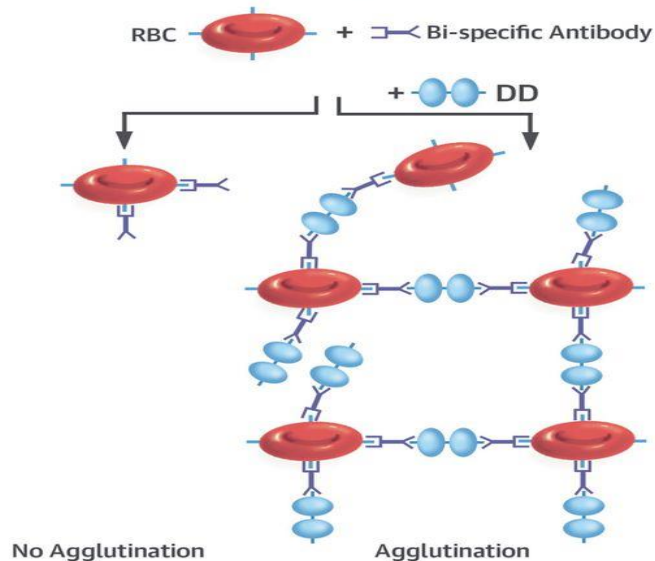
1. При индивиди с дефицит на FXIII, нивото на DD остава ниско, дори и при наличие на масивен тромб!

ПРИНЦИП НА АНАЛИТИЧНИТЕ МЕТОДИ

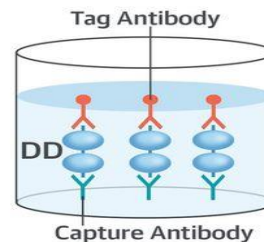
- Определянето на DD се извършва посредством моноклонални антитела, които разпознават епитоп върху напречно свързания DD, който липсва в D домейна на Fib и несвързаните напречно фибринови мономери
- 3 основни принципа в аналитичните методи:
 - Методи, базиращи се на аглутинация на пълна кръв
 - Ензимносвързан имуносорбетен или имунофлуоресцентен анализ (ELISA, ELFA)
 - Латексова аглутинация

CENTRAL ILLUSTRATION: Diagnostic Assays for D-Dimer Quantification

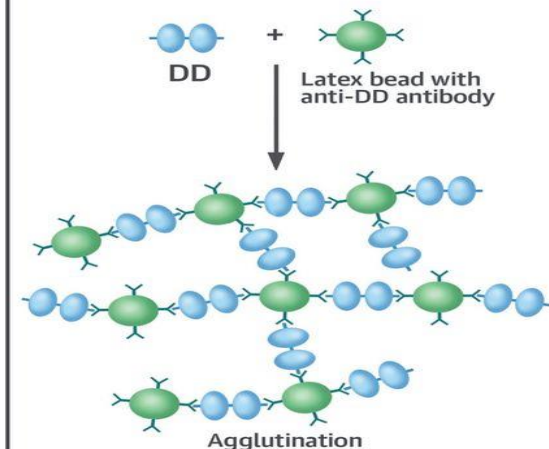
A. Whole Blood Agglutination Assay



B. ELISA or ELFA



C. Latex Agglutination Assay



АНАЛИТИЧНИ МЕТОДИ

	ELISA	ELFA	Латекс-усилена турбидиметрия	РОС Пълна кръв
Описание	Количествен	Количествен	Количествен	Качествен
Turnaround time	2 – 4 ч.	35 мин.	15 мин.	2 – 5 мин.
Чувствителност (95% CI)	94% (86-97)	96% (89-98)	93% (89-95)	83% (67-93)
Специфичност (95% CI)	53% (38-68)	46% (31-61)	53% (46-61)	71% (57-61)
Предимства	Висока чувствителност	Висока чувствителност; Напълно автоматизиран	Чувствителност, сравнима с ELISA; Напълно автоматизиран	Може да се извърши при леглото на болния; По-висока специфичност
Недостатъци	Трудоемкост; Време до р-т Умерена специфичност	Умерена специфичност	Умерена специфичност	По-ниска чувствителност Зависим от опита на персонала

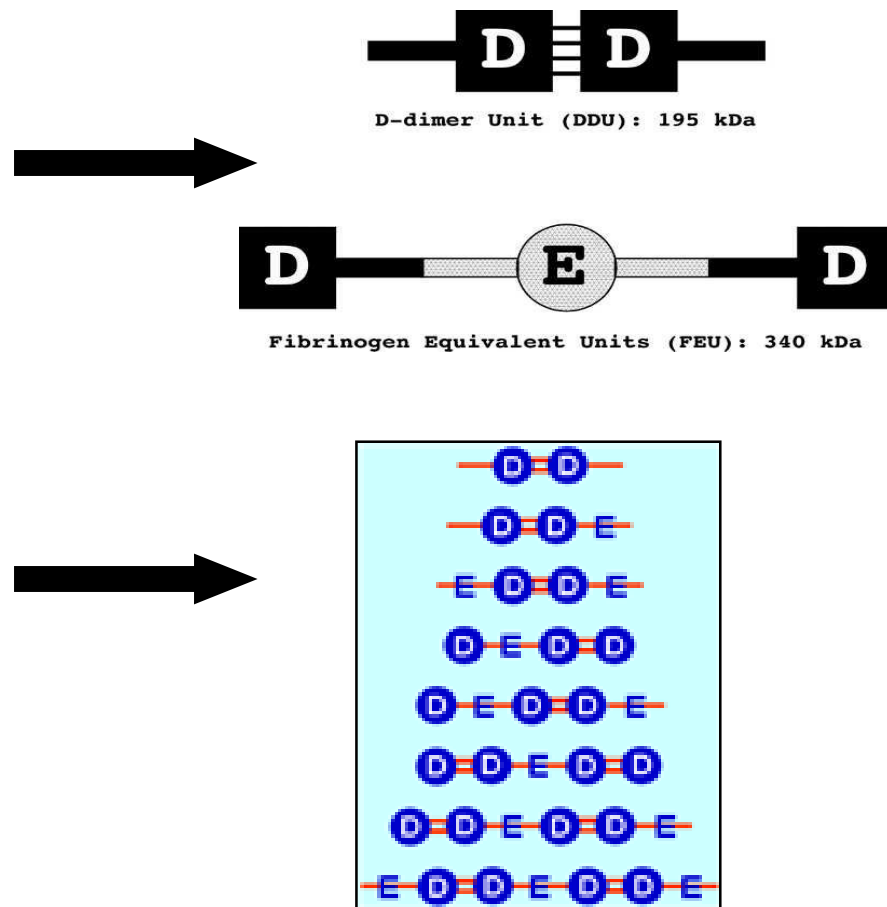
ДИАГНОСТИЧНА ЕФЕКТИВНОСТ

Проучване	Аналитичен метод	Пациенти n	Честота на БТЕ %	БТЕ изключен DD и клиничната вероятност n (%)	3-месечен TE риск % (95% CI)
Carrier, 2009 метаанализ	Vidas Exclusion	5622	22	2246 (40)	0.1 (0.0-0.4)
Kearon, 2006; Wells 2001	SimpliRed	2056	12	797 (39)	0.0 (0.0-0.5)
Leclercq, 2003; ten Wolde, 2004; van Belle, 2006	Tinaquant	3508	21	1123 (32)	0.4 (0.0-1.0)

*Authors/Task Force Members, Konstantinides S, Torbicki A, et al. 2014 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) * Endorsed by the European Respiratory Society (ERS). European Heart Journal, August 2014.*

ПРОБЛЕМИ ОТ ГЛЕДНА ТОЧКА НА ЛАБОРАТОРИЯТА

- Липса на стандартизирана мерна единица: FEU се базира на масата на Fib (340 kDa) и е почти 2 пъти масата на DDU:
500 ng/mL FEU = 250 ng/mL DDU
- Магнитуд на мерната единица: варира м/у лабораториите при един и същ аналитичен метод (ng/mL, µg/mL, µg/L)
- DD антигенът е с хетерогенна структура и представлява смес от компоненти, съдържащи D и E фрагменти с различно молекулно тегло
- Използване на моноклонални антитела с различна специфичност в търговските реагенти
- Липса на стандартизирани, международно сертифицирани калибратори и контролни материали



МЕЖДУЛАБОРАТОРНИ ВАРИАЦИИ

- 30 различни аналитични метода, използващи 20 моноклонални антитела

- Различия по отношение на:
 - ✓ Таргетен епитоп на DD
 - ✓ Метод на улавяне и детекция
 - ✓ Използван инструментариум
 - ✓ Калибрационен стандарт

СЪОБРАЖЕНИЯ ПРИ ИЗБОР НА МЕТОД

Съображения при избор на метод

Валидирана в клинични проучвания
разграничителна стойност

Висока диагностична чувствителност
(висока отрицателна предсказваща
стойност)

Приемлива диагностична специфичност

Лесен за изпълнение с възможност за
бърз резултат (до 30 мин.)

Добра възпроизводимост в областта
около разграничителната стойност

Количествен метод

- Референтният интервал и разграничителната стойност могат да са различни в рамките на един и същ метод
- ✓ РИ: 95-ти перцентил на разпределението на резултатите от здрави индивиди. Тази стойност се интерпретира при оценка на **ДИК**
- ✓ Cut off: определя се като концентрация на DD, която предоставя най-добрата диагностична чувствителност (отрицателна предсказваща стойност NPV) при **диагноза на ВТЕ**
- ✓ В идеалния случай РИ/cut off се установяват в съответната лаборатория. Ако се използват по литературни данни, стойността се определя със същата методология, за предпочитане от същия производител

СТРАТЕГИИ ЗА ПОДОБРЯВАНЕ НА ДИАГНОСТИЧНАТА ЕФЕКТИВНОСТ НА DD

- Измерване на DD за изключване на ВТЕ: само пациентите със стойности >cut off подлежат на образно изследване. Несигурен подход, риск от недиагностициране на пациенти с ВТЕ (остават без АК терапия)
- Измерване на DD след извършване на образното изследване. Този подход е възприет при пациенти с изолирана тромбоза на подбедрицата, неразпознаваема при доплер, която е възможно да прогресира в следствие и да обхване проксималните вени. Изисква множество ненужни инструментални изследвания
- **Комбиниране на DD с правила за клинична оценка за вероятност на ВТЕ.** Най-често използваният алгоритъм за изключване на ВТЕ, който е широко проучен и валидиран в множество проучвания

ВТЕ: ЕТАПИ НА ДИАГНОСТИЧНИЯ ПРОЦЕС

- **1-ви етап:**
 - **Оценка на клиничната вероятност по утвърдени модели: Wells score (Geneva score)**

- **2-ри етап:**
 - **Изследване на DD: задължителен елемент в диагностичния алгоритъм!**

- **3-ти етап:**
 - **Валидиращо образно изследване:**
 - ✓ **КТ пулмоангиография**
 - ✓ **Вентилационно/перфузионна сцинтиграфия**
 - ✓ **МР пулмоангиография**
 - ✓ **Флебография**
 - ✓ **Доплер**



ОЦЕНКА НА КЛИНИЧНАТА ВЕРОЯТНОСТ ЗА ВТЕ (МОДИФИЦИРАНА WELLS СКАЛА)

Клинична оценка на ДВТ	Точки
Активно онкологично заболяване	1
Пареза/парализа/скорошна имобилизация на долен крайник	1
Постелен режим ≥ 3 дни или хирургия < 12 седмици	1
Чувствителност/болка по хода на дълбоките вени	1
Оток на целия крак	1
Оток на прасеца > 3 см. спрямо здравия крак	1
Едностранен едем с остатъчна ямка след палпация	1
Колатерални суперфициални вени (неварикозни)	1
Предходна ДВТ	1
Алтернативна диагноза със симптоми, близки до ДВТ	-2

Вероятна ДВТ ≥ 2 точки

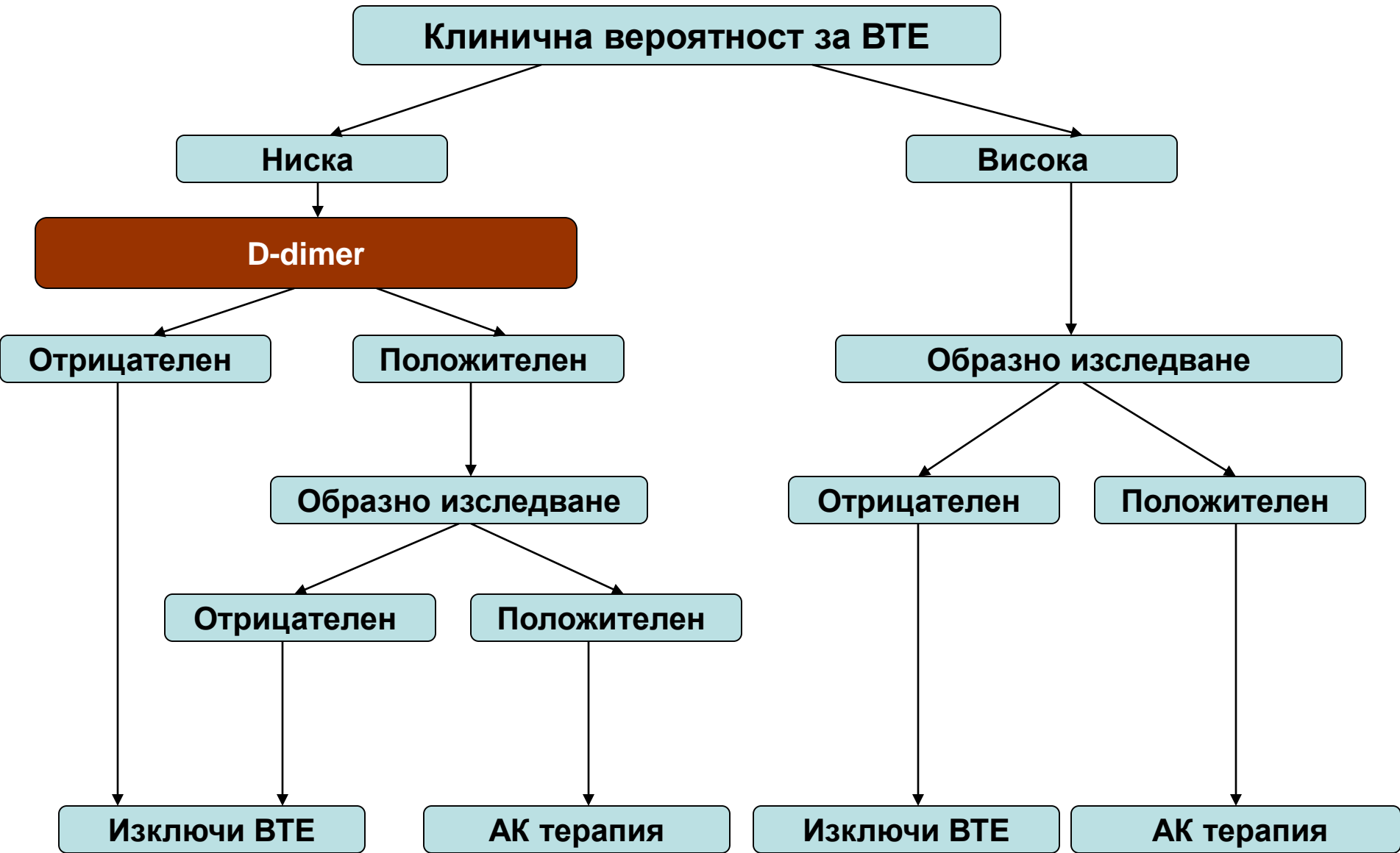
Малко вероятна ДВТ ≤ 1 точка

Клинична оценка на БТЕ	Точки
Симптоми на ДВТ	3
Алтернативна диагноза, по-малко вероятна за БТЕ	3
СЧ > 100 удара/мин.	1.5
Имобилизация > 3 дни/ хирургия < 4 седмици	1.5
Предходен ВТЕ	1.5
Хемоптиза	1
Активно онкологично заболяване	1

Вероятен БТЕ > 4 точки

Малко вероятен БТЕ ≤ 4 точки

ДИАГНОСТИЧЕН АЛГОРИТЪМ ПРИ ВТЕ



ФАКТОРИ, КОИТО ПОВЛИЯВАТ СТОЙНОСТИТЕ НА DD ПРИ ПАЦИЕНТИ С ВТЕ

- Тромботичната тежест (clot burden)
 - Времето на изследване
 - Начало на лечение
- По-високи стойности на DD при пациенти с потвърден БТЕ и голям ембол (обхващащ >50% от обема на белия дроб) спрямо пациенти с по-малки тромбози¹
 - По-високи стойности на DD при пациенти с проксимална спрямо дистална ДВТ²
 - Най-високи нива на DD се наблюдават на 2-ри ден от клиничната изява³
 - Редукция с 25% в стойностите на DD на 24-ти час от началото на АК терапия (намалява диагностичната чувствителност на метода)⁴

1. De Monye W, et al. Embolus location affects the sensitivity of a rapid quantitative D-dimer assay in the diagnosis of pulmonary embolism. Am J Respir Crit Care Med. 2002;165:345-348.

2. Chapman CS, et al. The use of D-Dimer assay by enzyme immunoassay and latex agglutination techniques in the diagnosis of deep vein thrombosis. Clin Lab Haematol. 1990;12:37-42.

3. Wada H, et al. Elevated levels of soluble fibrin or D-dimer indicate high risk of thrombosis. J Thromb Haemost 2006;4:1253-8.

4. Couturaud F, et al. Decrease in sensitivity of D-dimer for acute venous thromboembolism after starting anticoagulant therapy. Blood Coagul Fibrinolysis 2002;13:241-246

D-DIMER И ОБРАЗНИ МЕТОДИ: ЗАЩО РЕЗУЛТАТИТЕ НЕ СЪВПАДАТ?

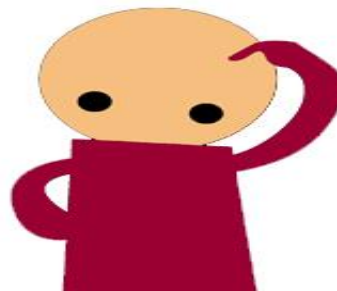
Въпроси, на които да си
отговорим:

Фалшиво отрицателни
резултати?

- Давност на тромбозата
- Време на изява на симптомите
- Големина на съсирека
- Локализация на тромбозата
- Провеждане на АК терапия преди извършване на теста

Фалшиво положителни
резултати?

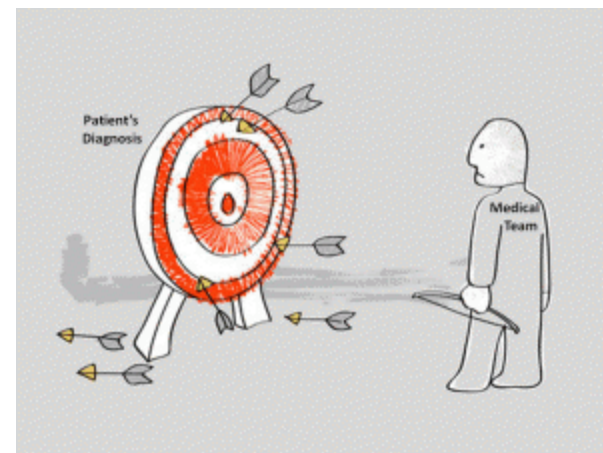
- Възраст
- Наличие на тумор
- Предходна тромбоза
- Бременност
- Хоспитализация



ДИАГНОСТИЧНА НАДЕЖДНОСТ НА DD ПРИ ПАЦИЕНТИ С ВТЕ

Диагностичната надеждност на DD е най-висока, когато изследването се извършва при пациенти с:

- По-голяма тромботична тежест
- Клинична изява < 7 дни
- Преди началото на АК терапия



ЗАЩО НЕ БИВА ДА ИЗСЛЕДВАМЕ DD ПРИ ПАЦИЕНТИ С ВИСОКА КЛИНИЧНА ВЕРОЯТНОСТ?

20% честота

	ДВТ+	ДВТ-	Общо
+ DD	17	42	59
- DD	3	38	41
Общо	20	80	100

PPV $17/59=28.8\%$
NPV $38/41=92.7\%$

50% честота

	ДВТ+	ДВТ-	Общо
+ DD	43	26	69
- DD	7	24	31
Общо	50	50	100

PPV $43/69=62.3\%$
NPV $24/31=77.4\%$

80% честота

	ДВТ+	ДВТ-	Общо
+ DD	69	10	79
- DD	11	10	21
Общо	80	20	100

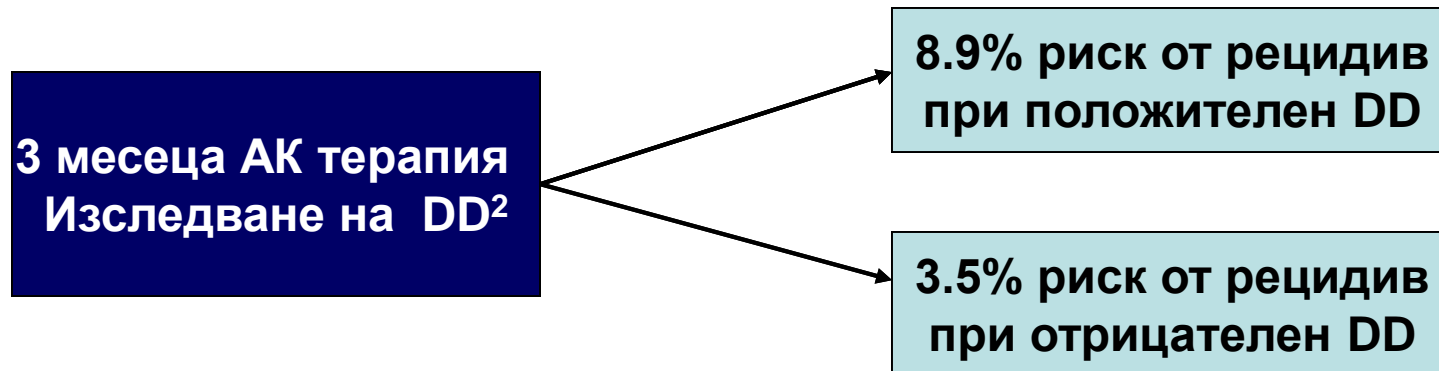
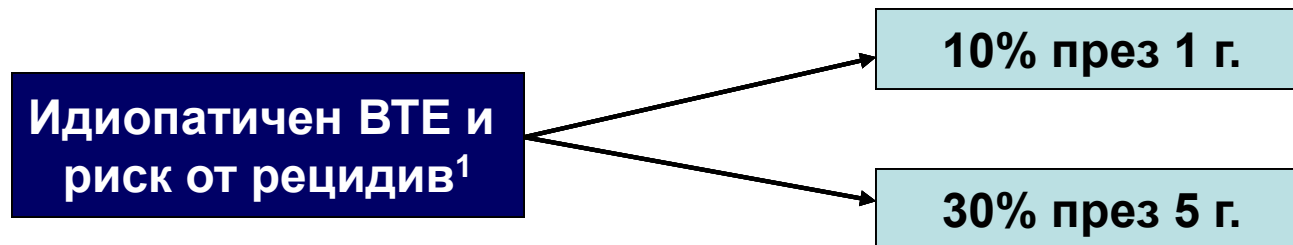
PPV $69/79=87.3\%$
NPV $10/21=47.6\%$

NPV намалява с нарастване на честотата на ВТЕ (~60% при пациенти с висок Wells score)

Дори и в отсъствие на ВТЕ е малко вероятно DD да е отрицателен (рисковите ф-ри за ВТЕ също водят до повишение на DD – травма, хирургия, малигнено заболяване)

Положителният резултат на DD изисква по-нататъшно диагностициране с образни изследвания

DD И ПРОГНОЗА НА РИСК



1. Kearon C. Long-term management of patients after venous thromboembolism. *Circulation*. 2004;110:110-118.
2. Verhovsek M, et al. Systematic review: D-dimer to predict recurrent disease after stopping anticoagulant therapy for unprovoked venous thromboembolism. *Ann Intern Med*. 2008;149:481-490.

DD И ПРОГНОЗА НА РИСК - ПРЕПОРЪКИ

При първи епизод на непровокиран ВТЕ (проксимална ДВТ/БТЕ) и нисък/умерен риск от кървене, се препоръчва дългосрочна АК терапия след терапия за срок от 3 месеца (клас 2В)

CHEST 2016; 149(2):315-352

- Решението се базира на комбинация от 2 критерия: пол и DD (изследван 1 м. след преустановяване на лечението)
- 1. При жени с отрицателен DD рискът от рецидив е сравним с този при пациентите с провокиран ВТЕ (15% за 5г.), или аргументът за дългосрочна терапия е слаб.
Негативният DD е критерий за спиране на лечението!
- 2. При мъже с негативен DD рискът от рецидив е подобен на риска при пациентите с непровокиран ВТЕ (25% спрямо 30% за 5г.), или аргументът за дългосрочна терапия е силен, независимо от стойностите на DD.
Негативният DD не е критерий за спиране на лечението!

DD И ПРОГНОЗА НА РИСК – ИНТЕГРИРАНЕ В КЛИНИЧНИТЕ МОДЕЛИ

DASH скала: **D**-dimer, **A**ge, **S**ex, **H**ormonal therapy

Предиктори n=1818 с ВТЕ	β coefficient	P-value	Точки
1. Положителен DD след спиране на АК	0.96	<0.0001	+2
2. Възраст < 50 г.	0.43	0.002	+1
3. Мъжки пол	0.58	<0.0001	+1
4. Хормонална терапия	-1.05	0.002	-2
DASH предиктивен модел			
DASH score	≤ 1.0	2.0	≥ 3.0
Годишен риск от рецидив	3.1%	6.4%	12.3%

ЕФЕКТ НА ВЪЗРАСТТА ВЪРХУ DD

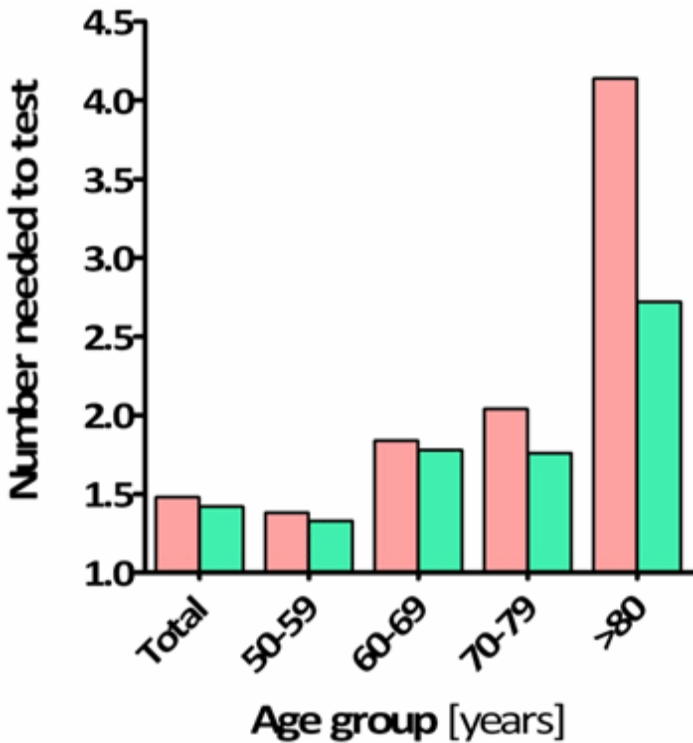
- При възрастни пациенти честотата на ВТЕ нараства¹
- Същевременно се наблюдава неспецифично повишение на DD, поради²:
 - ✓ По-високи концентрации на Fib
 - ✓ Намалена бъбречна елиминация
 - ✓ (Окултни) малигнени заболявания
 - ✓ Хроничен възпалителен процес
- В резултат специфичността на DD за изключване на остър ВТЕ намалява и води до увеличаване на фалшиво положителните резултати³
- Отрицателен DD изключва остър БТЕ при 60% от пациентите < 40 г., и само при 5% от пациентите > 80 г.¹ (свързано с допълнителни инструментални изследвания)
- Предложена е формула за изчисляване на cut off според възрастта при пациенти > 50 г.⁴

Възраст в години x 10 µg/L = cut off
60 години x 10 µg/L = 600 µg/L

1. Righini M., et al. Effects of age on the performance of common diagnostic tests for pulmonary embolism. *Am J Med* 2000; 109 (5): 357-361.
2. Der Sahakian G., et al. Accuracy of D-Dimers to Rule Out Venous Thromboembolism Events across Age Categories. *Emerg Med Int* 2010; 2010 185453.
3. Tardy B., et al. Evaluation of D-dimer ELISA test in elderly patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1998; 79 (1): 38-41.
4. Righini M, Van Es J, Den Exter PL, et al. Age-adjusted D-dimer cutoff levels to rule out pulmonary embolism: the ADJUST-PE study. *JAMA*. 2014;311:1117-1124.

КОРИГИРАНА ЗА ВЪЗРАСТТА РАЗГРАНИЧИТЕЛНА СТОЙНОСТ

Ретроспективно, суспектен БТЕ, n=1033



■ not age adjusted (<0.5 mg/l)
■ age adjusted (Age x 0.01 mg/l)

	Стандартен cut off <0.5 mg/L	Възрастово коригиран cut off
Възраст 50-59 г. DD (-)	73%	76%
Възраст >80г. DD (-)	24%	32%
Възраст 50-59 г. Инструментално изследване	1.4%	1.3%
Възраст >80г. Инструментално изследване	4.1%	2.7%

КОРИГИРАНА ЗА ВЪЗРАСТТА РАЗГРАНИЧИТЕЛНА СТОЙНОСТ

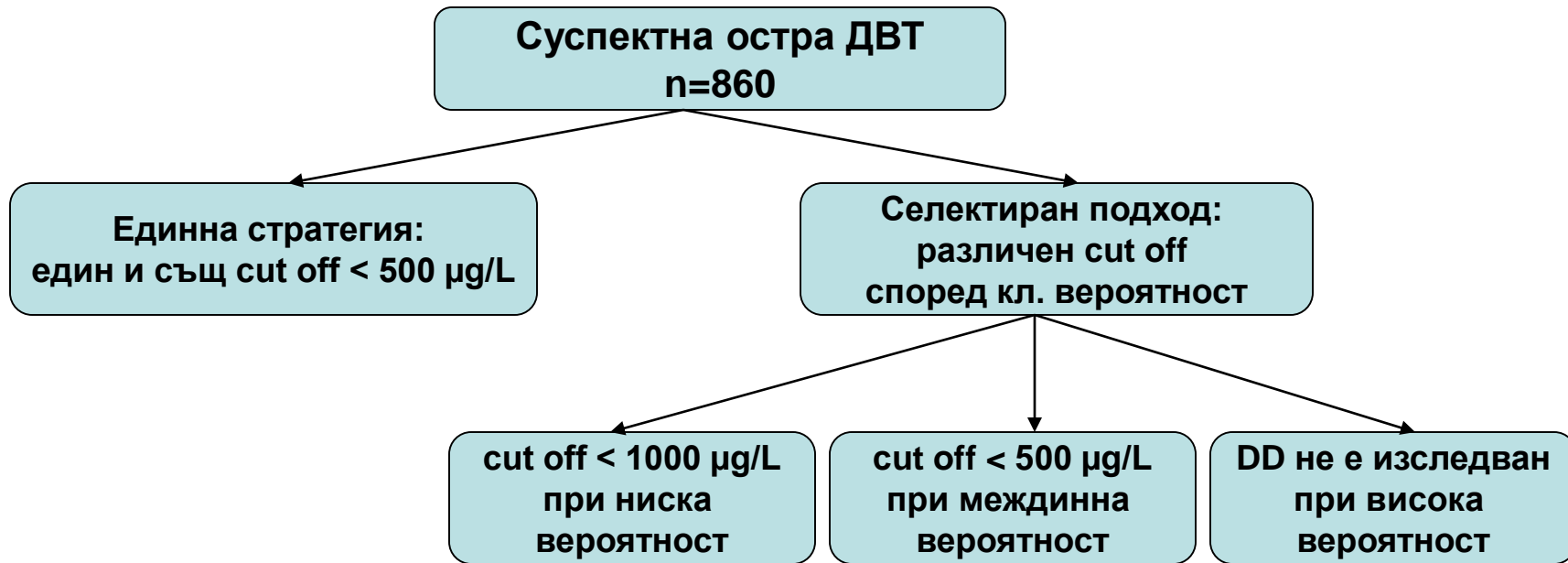
Age-Adjusted D-dimer Cutoff Levels to Rule Out Pulmonary Embolism: The ADJUST-PE Study. *Righini et al, JAMA 2014*

Възраст < 50 г. БТЕ е изключен при DD < 500µg/L
 ≥ 50 г. БТЕ е изключен при DD < възрастта x 10

Table 3. Study Results According to D-Dimer Assays

D-Dimer Assay	Low/Intermediate or Unlikely Clinical Probability, No. of Patients	D-Dimer <500 µg/L	3-mo Thromboembolism Risk		D-Dimer ≥500 µg/L and <Age-Adjusted Cutoff	3-mo Thromboembolism Risk	
			No. of Events/ Total Patients	% (95% CI)		No. of Events/ Total Patients	% (95% CI)
VIDAS D-Dimer Exclusion	1345	423	0/417	0.0 (0.0-0.9)	130	0/127	0.0 (0.0-2.9)
Innovance D-Dimer	838	202	1/202	0.5 (0.1-2.8)	103	1/103	1.0 (0.2-5.3)
STA-Liatest D-Dimer	389	132	0/132	0.0 (0.0-2.8)	49	0/47	0.0 (0.0-7.6)
D-Dimer HS 500	185	32	0/31	0.0 (0.0-11.0)	23	0/23	0.0 (0.0-14.3)
Second-generation Tina-quant	128	26	0/26	0.0 (0.0-12.9)	32	0/31	0.0 (0.0-11.0)
Cobas h 232	13	2	0/2	0.0 (0.0-65.8)	0		
Total	2898	817	1/8	0.1 (0.0-0.7)	337	1/331	0.3 (0.1-1.7)

АДАПТИРАНА СПОРЕД КЛИНИЧНАТА ВЕРОЯТНОСТ РАЗГРАНИЧИТЕЛНА СТОЙНОСТ



Честота на ВТЕ на 3-ти месец в двете рамена: 0.5%

При селектирания подход:

22% редукция на пациентите, изследвани за DD;

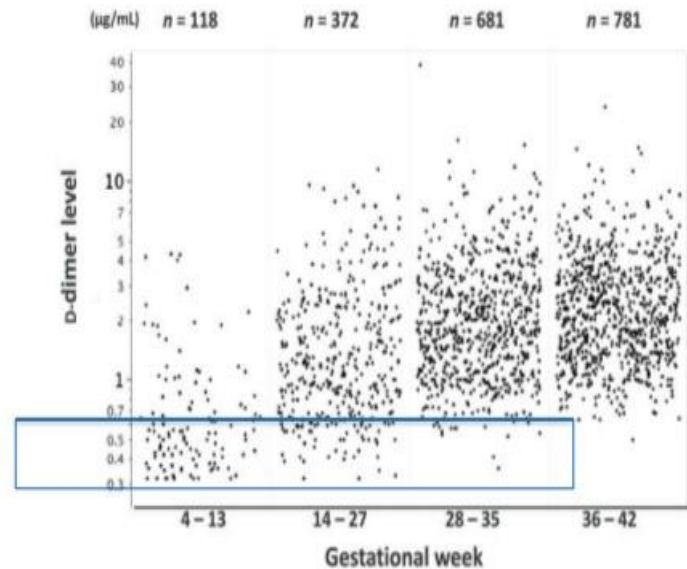
8% редукция на УЗДИ

DD И БРЕМЕННОСТ

- Повишава се прогресивно през бременността (трудност при избор на подходящ cut off)¹
- Висока NPV (проспективно проучена)²
- ДВТ може сигурно да бъде изключена, ако DD е отрицателен при негативна дуплексултрасонография:
 - 149 бременни, 13 с диагноза ДВТ
 - DD е бил + при всички; проучването демонстрира 100% чувствителност, 100% NPV и 60% специфичност³
- DD е с по-ниска специфичност през бременността
- Не е валидиран проспективно при suspekten БТЕ

D-Dimer in “normal” pregnancy(Japan)

Kawaguchi S, Yamada T, Takeda M, Nishida R, Yamada T, Morikawa M, et al. Changes in d-dimer levels in pregnant women according to gestational week. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health*. 2013 Jul;3(3):172-7.



1. Morse M. *J Thromb Haemost*. 2004;7:1202-4
2. Kovac M. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010;1:27-30
3. Chan WS. *Ann Intern Med*. 2007;3:165-70

DD И ДИК

- **Комплексен синдром, характеризира с консумативна коагулопатия в резултат на повишена тромбинова генерация и увеличена фибринолиза**
- **Може да бъде усложнение на редица нарушения**
- **Пациентите могат да се представят с:**
 - **Кървене**
 - **Тромбоза**
 - **И двете в зависимост от причината и степента на коагулопатия**
- **Диагнозата изисква клинична и лабораторна оценка**
- **DD подпомага диагнозата на ДИК поради високата си чувствителност (нормалните стойности изключват)**

Нарушения, свързани с ДИК
Сепсис
Масивна травма/изгаряне
Онкологично заболяване
Акушерски усложнения: Амниотична емболия, плацента превия, абрупция
Съдови нарушения: Кавернозен хемангиом, аортна аневризма
Токсини: Змийска отрова, медикаменти
Имунологични нарушения: Пострансфузионни реакции

ДИК: ДИАГНОСТИЧЕН АЛГОРИТЪМ (ISTH)

ЛАБОРАТОРЕН ТЕСТ	РЕЗУЛТАТ	ТОЧКИ
Брой тромбоцити (10 ⁹ /L)	> 100	0
	50 – 100	1
	< 50	2
FDP/DD	Отрицателен	0
	Умерено увеличен	2
	Силно увеличен	3
Удължено PT	< 3 sec	0
	3 – 5.9 sec	1
	> 6 sec	2
FIB	>1g/L	0
	< 1g/L	1

>5 точки: разгърнат ДИК, повтори изследванията ежедневно

<5 точки: суспектен ДИК; повтори изследванията веднъж на 1 или 2 дни

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- DD е с висока отрицателна предсказваща стойност за диагностициране на ВТЕ, когато се използва в комбинация с валидирана скала за оценка на клиничната вероятност
- Диагностичната надеждност е по-висока при по-млади пациенти без съпътстващи заболявания и анамнеза за предходен ВТЕ с кратка продължителност на симптомите
- Подпомага избягване на ненужни инструментални изследвания, свързани с риск за пациента и предоставя ефективна стратегия за намаляване на медицинските разходи
- Изследването има потенциал при оценка риска от рецидиви и оптималната продължителност на АК терапия



ТЕСТ ЗА ТРОМБИНОВА ГЕНЕРАЦИЯ - ВЪВЕДЕНИЕ

- **Оценката на способността за генерация на тромбин корелира както с риска от кървене, така и с риска от тромбоза**
- **Конвенционалните хемостазни тестове АРТТ и РТ измерват само времето на съсирване, кореспондиращо на фазата на инициация на коагулационния процес. Крайната точка на отчитане възниква след формиране само на 5% от тромбина**
- **Много по-голямо количество се генерира по време на фазите на пропация и амплификация, което води до експоненциално увеличение на тромбин**
- **АРТТ и РТ показват слаба корелация с клиничния фенотип: в Р. И. при пациенти с вроден дефицит на PrC, PrS, AT (образуват по-голямо количество тромбин) и не предоставят информация за риска от тромбоза**
- **Несъответствие между коагулацията, която настъпва *in vivo*, и оценката ѝ *ex vivo***
- **Разработени са нова генерация глобални коагулационни тестове**

ТЕСТ ЗА ТРОМБИНОВА ГЕНЕРАЦИЯ - TGA

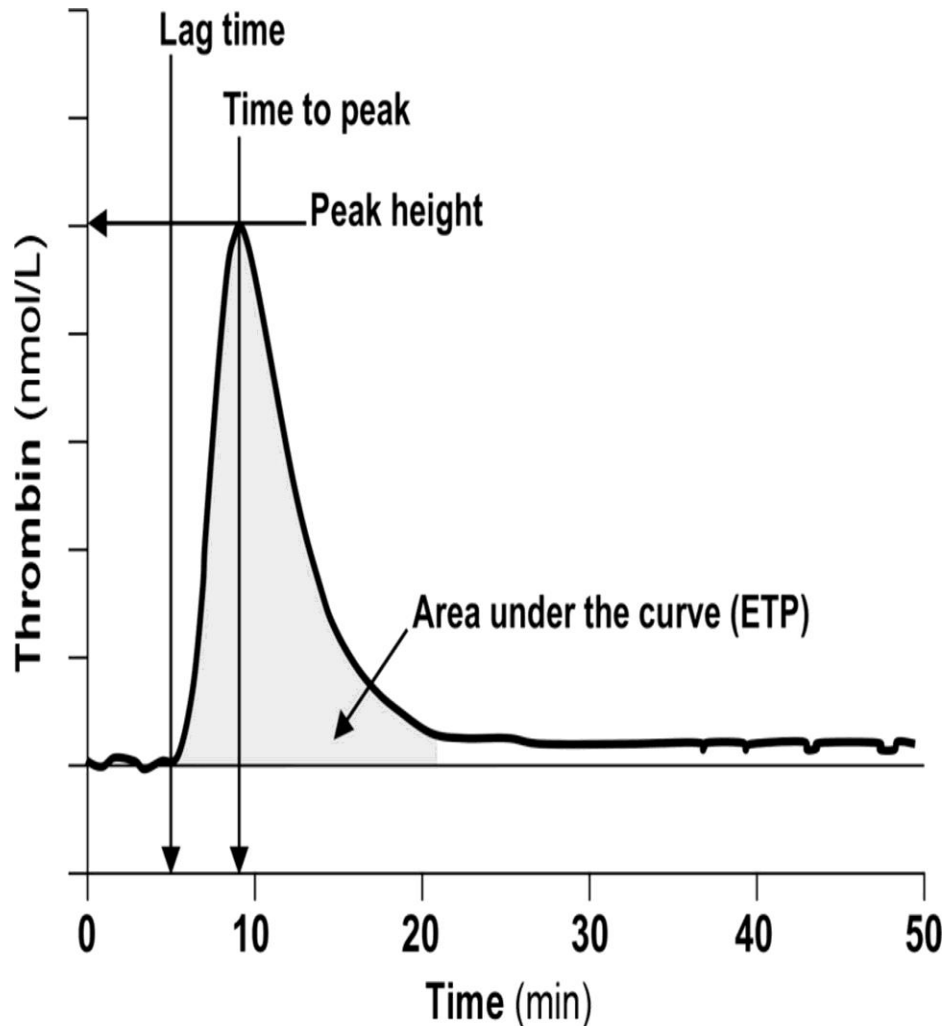
- Тромбинът е ключов компонент в регулацията на хемостазния процес, който притежава едновременно прокоагулантни и антикоагулантни свойства
- In vivo тромбиновата генерация може да бъде оценена чрез измерване на TAT (thrombin – antithrombin complex) и F 1+2 (протромбинов фрагмен 1 и 2)
- Ex vivo TGA отразява ендогенния капацитет на общия хемостазен потенциал и може да бъде индикатор на тромботичен и хеморагичен риск
- **TGA представлява непрекъснато измерване на протеолитичната активност на тромбина, образуван в плазмата, посредством хромогенни или флуорогенни субстрати, след активиране на съсирването и използване на тригериращ агент**
- **Принцип:**
- Синтетичен субстрат, свързан с хромоген (флуорофор), се разцепва селективно от тромбин, освобождавайки хромогена (флуорофора)
- Измереният сигнал е пропорционален на количеството тромбин, участващ в реакциите
- Кинетиката на реакциите включва 2 стадия:
 1. Стадий на инициация, кореспондиращ на времето на съсирване, измерено с рутинните тестове като РТ и АРТТ. Може да бъде инхибирана от TFPI.
 2. Стадий на пропация/амплификация, последвана от фаза на резолюция в резултат на действието на различни инхибитори, съдържащи се в плазмата – Pr C, АТ, алфа 2-макроглобулин



АВТОМАТИЗИРАНИ TGA СИСТЕМИ

МЕТОДИ	TECHNOTHROMBIN	THROMBINOSCOPE	INNOVANCE ETP (BCS)
Търговска компания	Technoclone	Stago	Siemens healthcare
Аналитичен метод	Флуорогенен	Флуорогенен	Хромогенен
Калибрация	Човешки тромбин (1 $\mu\text{mol/L}$) в буфер BSA	Човешки $\alpha_2\text{M}$ -thrombin calibrator (0.5-1.0 $\mu\text{mol/L}$)	INNOVANCE ETP
Активатор	15 mmol/L CaCl_2 10-50 $\mu\text{mol/L}$ TF	0.1 mmol/L CaCl_2 6-30 $\mu\text{mol/L}$ TF	0.25 mmol/L CaCl_2 5.2-7.36 nmol/L TF
Време на сканиране	50-120 min	50-120 min	20 min
Инхибитор на фибрин	Не	Не	Да
Тотален обем на пробата	100 μl	120 μl	260 μl
Спектрометър	Ceveron Alpha TGA	Fluoroskan Ascent	BCS XP System
Технически повторения	3	3	3

ПАРАМЕТРИ НА ТРОМБОГРАМАТА



1. **Lag time (фаза на забавяне):** времето (мин) м/у добавяне на активатор и инициацията на тромбиновата генерация
2. **Тромбинов пик:** най-високата тромбинова концентрация, която може да бъде генерирана
3. **Време до достигане на пик:** отразява скоростта на генериране на тромбин
4. **Velocity index:** комплексен показател, включващ lag time + време до пик
5. **ETP: ендогенен тромбинов потенциал (AUC)** – общото количество тромбин, която изследваната плазма може да генерира под действие на прокоагуланти и антикоагуланти

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Състояние на хипосъсирваемост	Състояние на хиперсъсирваемост
Удължена фаза на забавяне	Скъсена фаза на забавяне
Нисък тромбинов пик	Висок тромбинов пик
Удължено време до пик	Скъсено време до пик
Нисък индекс на скоростта	Висок индекс на скоростта
Нисък ендогенен тромбинов потенциал	Висок ендогенен тромбинов потенциал

ПОТЕНЦИАЛНО ПРИЛОЖЕНИЕ В КЛИНИЧНАТА ПРАКТИКА

АВТОР	ОСНОВНА ЦЕЛ НА ПРОУЧВАНЕТО
Kessels et al., Arachchillage et al., Zabczyk et al.	Мониториране на терапия с ОАК и антитромбоцитни медикаменти
Al Dieri et al.	Оценка на риска от кървене при болест на Вилебранд
Simioni et al., Castoldi et al., Alhenc-Gelas et al.	Хиперсъсирваемост при тромбофилия (FVL, G20210A, PS, AT)
Tripodi et al., Hron et al.	Предсказване на риск от рекурентен ВТЕ
Lewis et al., Matsumoto et al.	Риск от кървене при пациенти с хемофилия и водене на субституираща терапия
Bosch et al.	Коагулационен профил в сърдечната хирургия
Loeffen et al.	Оценка на хиперсъсирваемост при пациенти със стент тромбоза
Barco et al., Honickel et al.	Ефект на РСС при обратимост на действието на ДОАК

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- **TGA предоставя глобална оценка на хемостазата и е информативен за фазите на инициация, амплификация, пропагация и резолюция**
- **Има потенциал за оценка на риска от кървене и тромбоза**
- **Необходима е стандартизация на методите и валидиране за рутинна клинична практика**

БЛАГОДАРЯ!

