



Comitato Italiano
per la Standardizzazione
dei Metodi Ematologici
e di Laboratorio.

CISMEL

Linee guida sull'impiego clinico del D-Dimero

C. Legnani^a, G. Palareti^a, D. Prisco^b

^a U.O. di Angiologia e Malattie della Coagulazione, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna

^b Dip. di Area Critica Medico-chirurgica, Centro Trombosi, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi, Firenze

per il Sottocomitato Emostasi del CISMEL

P.M. Mannucci (Milano), Coordinatore; A. Tripodi (Milano), Segretario; N. Ciavarella (Bari)

G. Lippi (Verona); C. Manotti (Parma); G. Palareti (Bologna); D. Prisco (Firenze); F. Rodeghiero (Vicenza)

Fisiopatologia del D-dimero

Il D-dimero è un prodotto di degradazione della fibrina stabilizzata da legami crociati covalenti. La sua presenza nel sangue dipende dall'attivazione della coagulazione con formazione di fibrina, sua stabilizzazione per azione del fattore XIII (attivato dalla trombina) e successiva proteolisi da parte del sistema fibrinolitico¹⁻³. Ha un peso molecolare di circa 180000 dalton e un'emivita in vivo di circa 4-6 ore⁴. Il D-dimero è rilevabile in bassa concentrazione nel sangue di soggetti sani, il che indica l'esistenza di uno stato di equilibrio fra la formazione di fibrina e la sua lisi anche in condizioni fisiologiche. La concentrazione del D-dimero aumenta in tutte le circostanze, specifiche o aspecifiche, associate o caratterizzate da fibrino-formazione e fibrinolisi. La concentrazione di D-dimero in vivo riflette lo stato di equilibrio della bilancia emostatica ed è quindi caratterizzata da spiccata variabilità intraindividuale, sia in soggetti sani che in pazienti affetti da patologie di vario genere. I principali determinanti della concentrazione plasmatica del D-dimero sono: l'entità della formazione e deposizione di fibrina stabilizzata, l'entità dell'attivazione del sistema fibrinolitico con formazione e azione della plasmina e infine la clearance dei prodotti di degradazione della fibrina.

Intervallo di riferimento e livello decisionale

Poiché è possibile rilevare la presenza di D-dimero anche nel plasma di soggetti sani, per ogni sistema di misurazione esiste un intervallo di riferimento o range di normalità. Ma non è questo quello più utile in clinica. L'uso più consolidato al momento del test in diagnostica è infatti la diagnosi di esclusione di trombosi venosa profonda o embolia polmonare (tromboembolia venosa, TEV). In tale situazione non interessa al clinico sapere se un valore è normale o patologico riferendosi ad una popolazione sana,

come per altri test, bensì se si può escludere che il paziente abbia una TEV. A questo scopo sono stati identificati livelli decisionali per ogni sistema diagnostico, che permettono di identificare pazienti con alta probabilità di essere indenni da patologia trombotica. I due tipi di cut-off (limite superiore dell'intervallo di riferimento e livello decisionale per TEV) vengono calcolati su popolazioni diverse (soggetti sani vs soggetti con sospetta TEV) e possono perciò non coincidere. Inoltre, mentre il primo ha un significato fisiopatologico, l'altro ha un importante valore decisionale in ambito clinico.

Sia l'intervallo di riferimento che il livello decisionale per TEV sono strettamente dipendenti dalla metodica e dal kit utilizzato. Mentre il limite inferiore di normalità è intorno a 0, quello superiore oscilla fra 50 e 500 ng/ml. È da precisare che il valore di 500 ng/ml sia come cut-off per la diagnosi di TEV che come limite superiore normale è comune a diversi kit del commercio⁵. È noto che non è possibile paragonare valori ottenuti con sistemi diversi poiché esistono differenze anche molto marcate tra i diversi kit commerciali, da cui derivano diversi intervalli di riferimento e diversi limiti decisionali. Questo non esclude ovviamente che ci possano essere concordanze nel significato clinico dei risultati ottenuti in un paziente con diversi kit⁵⁻⁷.

Condizioni fisiologiche che si associano ad aumento del D-dimero

Il livello di D-dimero può essere aumentato in numerose condizioni fisiologiche e patologiche (vedi Tabella I). I livelli di D-dimero in soggetti sani sono stati recentemente oggetto di specifica valutazione⁸. Non sono state descritte differenze in base al sesso, se si esclude il periodo gestazionale (vedi oltre). Il D-dimero è spesso elevato nei soggetti anziani, presumibilmente in rapporto alla minore mobilità e all'aterosclerosi. Tuttavia, si tratta di un aumento che

si rileva dopo i 65 anni mentre non è sicuro un aumento progressivo con l'età nei giovani. Recentemente è stato riferito, in una popolazione anziana multi-etnica, che la razza nera presenta livelli aumentati di D-dimero⁹. È da ricordare che nell'età neonatale i livelli di D-dimero sono aumentati. Nell'ambito di uno stesso individuo sono state poi riportate modeste variazioni circadiane⁸.

In gravidanza l'aumento progressivo del D-dimero esprime uno stato di ipercoagulabilità fisiologico in tale condizione. Al terzo trimestre si possono osservare livelli fino a 5 volte superiori rispetto ai valori pre-gestazionali¹⁰ e livelli alterati persistono frequentemente per alcune settimane dopo il parto.

Infine va considerato il caso di aumento del D-dimero in soggetti clinicamente sani senza la presenza di condizioni note per associarsi ad aumentati livelli¹¹. Questo fenomeno può essere più rilevante con i test al lattice di tipo classico ed è dovuto a interferenze nel sistema da parte di proteine plasmatiche, anticorpi nei confronti di antigeni animali, emolisi, sostanze cross-reagenti, farmaci e loro metaboliti¹².

Fattori di variabilità del livello di D-dimero

Oltre al tipo di test impiegato, anche altre variabili condizionano il livello di D-dimero misurabile in un paziente con un processo trombotico in atto. Le principali sono: le dimensioni del trombo, l'età del trombo, il potenziale fibrinolitico, l'eventuale terapia anticoagulante e l'esistenza di altri depositi di fibrina. È ovvio che più grande è un trombo, maggiore è la deposizione e conseguente lisi della fibrina. Tuttavia questo è valido per un trombo attivo mentre con il passare dei giorni il fenomeno di nuova deposizione e lisi di fibrina può rallentare, condizionando una minore formazione di D-dimero¹³. Come già accennato, anche uno "stato ipofibrinolitico" può ridurre la produzione di D-dimero a parità di altre condizioni¹⁴. La terapia anticoagulante, sia con eparina che con anticoagulanti orali (vedi oltre), riduce la formazione e deposizione di fibrina e dunque anche i livelli di D-dimero¹⁵. Infine depositi di fibrina sia intravascolare (in particolare aneurismi ma anche lesioni aterosclerotiche) che extravascolare (ad esempio neoplasie) possono essere fonte di prodotti di degradazione della fibrina¹⁶⁻¹⁸. Fra le varie condizioni elencate nella Tabella I alcune meritano un breve commento. Interventi chirurgici e traumatismi maggiori si accompagnano usualmente ad aumentati livelli di D-dimero. In queste condizioni, durante le quali generalmente viene eseguita una profilassi antitrombotica, la misurazione del D-dimero per eventuali sospetti diagnostici di TEV o CID raramente è utile, in quanto i livelli sono già di base solitamente aumentati.

Metodi per il dosaggio del D-dimero

Problemi nella standardizzazione dei metodi

Recentemente si sono resi disponibili numerosi metodi per il dosaggio del D-dimero. Uno dei problemi principali di questo dosaggio è rappresentato dalla

Tabella I. Condizioni in cui è stato osservato un aumento del D-dimero nel plasma

- Età avanzata
- Periodo neonatale
- Gravidanza fisiologica e patologica (incluso il puerperio)
- Pazienti ospedalizzati
- Pazienti con disabilità funzionale
- Infezioni (in particolare sepsi da Gram negativi)
- Neoplasie
- Interventi chirurgici
- Traumi
- Ustioni
- CID
- Tromboembolia venosa
- Cardiopatia ischemica
- Stroke
- Arteriopatia periferica
- Aneurismi
- Scompenso cardiaco congestizio
- Crisi emolitiche nell'anemia falciforme
- Emorragie subaracnoidee ed ematomi sottodurali
- Altre emorragie
- ARDS
- Malattie epatiche
- Malattie renali
- Malattie infiammatorie intestinali
- Malattie infiammatorie croniche (es. LES, artrite reumatoide)
- Terapia trombolitica

difficoltà della standardizzazione dei diversi metodi. Nonostante i numerosi tentativi fatti, una possibilità di standardizzazione sembra essere ancora lontana^{19,20}. Ne consegue che la comparazione dei risultati ottenuti con metodi diversi è impossibile e che ogni risultato è del tutto "metodo-specifico".

La difficoltà di raggiungere una standardizzazione dei diversi metodi disponibili dipende da parecchie cause. Uno dei problemi principali è l'eterogeneità dell'analita stesso. Il D-dimero isolato è presente in realtà in quantità piuttosto piccola nell'ambito dei prodotti di degradazione della fibrina misurabili in circolo; la maggior parte del D-dimero è infatti contenuta in frammenti più grandi (DD/E, YD/DY, YY/DXD), all'interno dei quali il D-dimero è variamente rappresentato anche dal punto di vista dei siti antigenici. Inoltre questi frammenti frequentemente si aggregano in complessi che possono limitare l'accessibilità agli epitopi verso i quali gli anticorpi monoclonali sono diretti. La composizione di questa miscela di prodotti di degradazione non solo è diversa da un paziente all'altro, ma può anche variare nel tempo nello stesso paziente. In sostanza, lo stesso anticorpo può avere diversa immunoreattività verso D-dimeri presenti all'interno di prodotti di degradazione differenti.

Un secondo problema riguarda la scelta del calibratore, che è ovviamente molto difficile dato che nessun calibratore potrà riflettere l'eterogeneità della miscela di prodotti di degradazione della fibrina pre-

senti nel plasma. In generale vengono utilizzati due diversi tipi di calibratori: D-dimero purificato o prodotti di degradazione della fibrina ottenuti tramite digestione plasminica. Nel primo caso i risultati sono espressi in unità di D-dimero e nel secondo in unità fibrinogeno-equivalenti (FEU); una unità FEU corrisponde grossolanamente a due unità di D-dimero. Anche se poco rappresentativo della eterogeneità della miscela di prodotti di degradazione presente nei campioni di plasma, il primo tipo di calibratore dovrebbe consentire una migliore comparabilità dei risultati tra metodi diversi, visto che la molecola è molto meglio definita. Questo però può non essere sempre vero perché delle differenze nella immunoreattività possono verificarsi durante i processi di purificazione. Il secondo tipo di calibratore è largamente usato in quanto è più simile alla miscela di D-dimero presente nel plasma. La sua preparazione è però piuttosto complessa e le operazioni di digestione con plasmina devono essere strettamente standardizzate per ottenere una buona comparabilità tra lotti diversi. In conclusione la scelta del tipo di calibratore e le modalità di preparazione sono un fattore di variabilità tra sistemi di misura diversi.

Un terzo problema riguarda il tipo di anticorpi monoclonali utilizzati. La diversa reattività nei riguardi dei prodotti di digestione della fibrina presenti in circolo dei differenti anticorpi monoclonali può generare differenze importanti. Anticorpi differenti possono infatti reagire in modo diverso con lo stesso prodotto di degradazione.

Tipi di metodi per il dosaggio del D-dimero

1) Metodi ELISA

I metodi ELISA classici su micropiastra sono stati utilizzati dai primi studi clinici che hanno valutato il valore del dosaggio del D-dimero nella diagnosi di TEV. Questi metodi hanno dimostrato una sensibilità e un valore predittivo negativo sufficientemente elevati per l'impiego del D-dimero nelle differenti strategie diagnostiche per la TEV. Sfortunatamente, questi metodi non possono essere usati per campioni singoli e non si adattano quindi ad essere impiegati in situazioni d'emergenza. Successivamente, sono stati messi a punti due diversi formati di metodi ELISA che possono essere utilizzati per campioni singoli e possono essere disponibili in qualsiasi momento. Il primo è il metodo VIDAS (bioMérieux) che fornisce risultati in circa 35 min ed è semi-automatico; l'unico inconveniente è che la sua esecuzione richiede uno strumento dedicato. Il secondo è un metodo di immunofiltrazione, in cui gli anticorpi sono adsorbiti su una membrana permeabile (Nycocard, Nycomed). La lettura può essere visiva ma anche oggettiva attraverso l'impiego di un lettore dedicato; quest'ultima è ovviamente da preferirsi in quanto elimina la variabilità tra osservatori generata dalla lettura visiva.

2) Metodi di agglutinazione semiquantitativi

Sono i sistemi più semplici ed economicamente convenienti; sono rapidi e non richiedono strumentazio-

ne. Poiché però la lettura è visiva, è inevitabile una certa variabilità tra osservatori nel valutare la presenza di agglutinazione.

3) Metodi di agglutinazione quantitativi

Sono metodi fotometrici o turbidimetrici di più recente introduzione [Tinaquant (Boehringer Mannheim), Sta Liatest (Diagnostica Stago), IL test (Instrumentation Laboratory), BC D-Dimer (Dade Behring), Turbiquant (Dade Behring), MDA (Organon Teknika)]. Sono stati disegnati per essere utilizzati su coagulometri o analizzatori di biochimica clinica e non richiedono strumenti dedicati. Normalmente i risultati sono disponibili in circa 5-10 min. Il principale vantaggio dell'impiego di questi metodi consiste nel fatto che il risultato è osservatore-indipendente e che, nella maggior parte dei casi, essendo completamente automatici, si riducono altre fonti di variabilità. Una certa cautela deve comunque esserci per quanto riguarda la sensibilità analitica e il limite di rilevamento. La curva di calibrazione generalmente copre un range molto ampio, ma il limite superiore del range di normalità e il cut-off (o livello decisionale) per l'esclusione di TEV si trovano spesso nella parte bassa della curva dove il segnale è più debole. Dato che il coefficiente di variazione è di solito più elevato alle basse concentrazioni, la riproducibilità per valori prossimi al cut-off deve essere verificata accuratamente.

4) Metodi che impiegano sangue in toto

Ne esistono di vario tipo, alcuni anche di recentissima introduzione. Hanno il vantaggio che possono essere eseguiti al letto del paziente (point of care testing) senza l'ausilio del laboratorio. Il primo ad essere introdotto sul mercato è stato il SimpliRED (Agen) che è un metodo di agglutinazione di emazie. Il test è molto rapido ma la lettura della agglutinazione è visiva e quindi è stata riportata una certa variabilità inter-osservatore²¹⁻²⁴. Più recentemente si è reso disponibile il metodo Cardiac D-Dimer (Roche Diagnostics) nel quale la lettura si esegue con l'ausilio di uno strumento portatile dedicato (Cardiac Reader, Roche Diagnostics). In teoria, questo metodo ha grosse potenzialità in quanto il risultato non è soggettivo; purtroppo i dati disponibili riguardo l'accuratezza di questo metodo nell'esclusione di TEV sono ancora pochi. L'ultimo metodo proposto è invece un metodo immunocromatografico qualitativo (Simplify D-Dimer, Agen); non necessita di strumentazione avendo un endpoint visivo. Anche in questo caso i risultati circa il suo impiego nelle strategie diagnostiche di TEV sono ancora scarsi. Malgrado l'interpretazione visiva possa far prevedere una certa variabilità inter-osservatore, i dati attualmente disponibili dimostrano una buona riproducibilità del metodo²⁵.

D-dimero e strategie diagnostiche per la tromboembolia venosa

La TEV, termine che include sia la trombosi venosa profonda (TVP) che l'embolia polmonare (EP), è

una condizione potenzialmente fatale e frequente sia in pazienti ambulatoriali che in quelli ospedalizzati. La TVP consiste in un'occlusione completa o parziale di un tratto del sistema venoso profondo, più spesso quello degli arti inferiori. Frequenti sono le complicanze emboliche che ne possono derivare (embolie polmonari anche nel 50% dei casi nell'arco di 3 mesi in assenza di un adeguato trattamento). L'incidenza annuale nella popolazione generale di nuovi casi di TVP è stimata tra 1 e 2 casi per ogni 1000 abitanti^{26,27}. Superata la fase acuta, compare con estrema frequenza la cosiddetta "sindrome post-trombotica" (o "post-flebitica"), condizione talvolta altamente invalidante, caratterizzata da dolore, edema cronico, distrofia e discromia cutanea e dalla frequente insorgenza di ulcere trofiche croniche. La TVP ha tendenza a recidivare, con episodi di riacutizzazione che comportano un ulteriore rischio di EP ed aggravano la sindrome post-trombotica.

L'EP costituisce un'evenienza clinica a rischio vitale ed è sicuramente molto più frequente di quanto non sia diagnosticata. Secondo un gruppo italiano, l'incidenza di EP nelle nostre regioni si aggira intorno a 100 nuovi casi per 100.000 abitanti²⁸. Essa è la causa principale di morte nel 10% dei decessi intra-ospedalieri e contribuisce all'esito negativo per un altro 10% dei casi²⁹. Sebbene non vi siano certezze a questo proposito, si stima che la mortalità raggiunga il 30% qualora l'EP non sia trattata; mentre, una volta che la terapia sia applicata tempestivamente, la mortalità è molto bassa (2.5%)³⁰.

L'iter diagnostico di tromboembolia venosa

I sintomi e segni clinici che fanno sorgere il sospetto di TVP sono rappresentati da: dolore a riposo e/o alla deambulazione, dolore alla dorsiflessione del piede (segno di Homans), edema, iperestesia cutanea, arrossamento ed altre alterazioni del colorito cutaneo, presenza di un reticolo venoso cutaneo. Va però precisato che questi segni e sintomi non sono affatto specifici e pertanto il sospetto su base clinica di TVP deve essere sempre confermato da risultati di test diagnostici oggettivi. Occorre infatti considerare che i soggetti che presentano sintomi e segni compatibili con una TVP sono molto numerosi (4-5 per ogni 1000 abitanti), ma solo pochi (in genere 1 su 5) hanno effettivamente una TVP, mentre gli altri sono affetti da altre alterazioni (più sovente muscolo-scheletriche o cutanee), i cui sintomi sono sovrapponibili a quelli della TVP. Ciò crea un evidente problema di accuratezza diagnostica, al fine di trattare appropriatamente solo quelli che hanno effettivamente la trombosi. Per questi motivi è indispensabile adottare una procedura diagnostica standardizzata, che utilizzi metodi obiettivi e sensibili, e che consenta di confermare o escludere la presenza di TVP³¹.

In un paziente con sintomi e segni riferibili a TVP di un arto inferiore è indicato utilizzare mezzi diagnostici non invasivi e tra questi la ultrasonografia per

compressione (CUS) ha dimostrato alta sensibilità (97-100%) e specificità (97-100%) per la TVP prossimale (dalla vena poplitea inclusa in su), ma è risultata molto meno sensibile per le vene del polpaccio e pertanto non può escludere con certezza la presenza di trombosi distali isolate (cioè limitate alle vene profonde del polpaccio: tibiali anteriori, tibiali posteriori e peroniere)³². Le TVP distali isolate possono, anche se più raramente, essere fonte di emboli; il loro rischio embolico aumenta però fortemente quando il processo trombotico si estende, fino ad interessare le vene profonde prossimali. Studi relativi alla storia naturale delle TVP distali hanno dimostrato che l'estensione prossimale accade solo nel 20-30% dei casi ed in genere avviene entro 7 giorni dalla comparsa dei primi sintomi; nei rimanenti casi, la TVP distale o va incontro a risoluzione spontanea (20-30%) o persiste più a lungo. Per questi motivi l'immediata anticoagulazione è da considerare indispensabile nelle TVP prossimali, ma non nel sospetto di TVP distale. In quest'ultimo caso, l'approccio diagnostico consigliato e validato nella letteratura scientifica è quello di riesaminare dopo qualche giorno (in genere da 5 a 7) i pazienti per i quali sia stata esclusa una TVP prossimale, ma nei quali non è possibile escludere una TVP distale. Lo scopo della rivalutazione di questi pazienti è poter diagnosticare tempestivamente l'eventuale propagazione prossimale del trombo e quindi iniziare il trattamento anticoagulante. In alcuni studi clinici^{33,34}, che hanno adottato questa strategia diagnostica coinvolgendo oltre 2000 pazienti, l'incidenza di complicanze nei mesi successivi è risultata estremamente bassa (0.7%; 95% LC 0.3-1.2). In questi studi è stato però necessario ripetere l'indagine CUS in un numero rilevante di casi (mediamente 0.8 per paziente), comportando un notevole carico di lavoro e di disagio per numerosi pazienti. Per limitare questo sovraccarico di lavoro, riducendo il numero di pazienti da riesaminare, sono state proposte e validate alcune strategie diagnostiche basate sia sulla valutazione della probabilità clinica pre-test³⁵ che sulla misurazione del D-dimero, sfruttando l'alto valore predittivo negativo del test³⁶.

Per quanto riguarda la diagnosi di EP, la sua presenza è difficile da escludere a meno che la scintigrafia polmonare e/o la TAC spirale non risultino negative. Un risultato di questo genere non è affatto frequente, in quanto nei pazienti spesso si associano altre alterazioni cardio-respiratorie che producono quadri simili a quelli dell'EP. Anche per questa diagnostica, la misurazione del D-dimero è emersa come il più utile marker di laboratorio. Applicati alla diagnostica delle tromboembolie venose, i metodi per il dosaggio del D-dimero hanno un'elevata sensibilità, ma bassa specificità e sono utilizzati per il loro alto valore predittivo negativo, cioè servono solo per escludere (in caso di risultato normale), ma non per confermare (in caso di risultato alterato) una diagnosi di TEV.

Requisiti necessari dei metodi per il dosaggio D-dimero per l'impiego nelle strategie diagnostiche di tromboembolia venosa

Nella Tabella II sono riportati i valori (media ponderata e range) di sensibilità, specificità, valori predittivo negativo (VPN) e positivo dei metodi attualmente disponibili per il dosaggio del D-dimero impiegati per l'esclusione di TEV in pazienti ambulatoriali. In questa rassegna sono state escluse tutte le pubblicazioni in

cui erano stati arruolati pazienti ricoverati, nei quali il livello del D-dimero è frequentemente aumentato per cause diverse dalla presenza di TEV. Negli studi dove sono stati arruolati anche o solo pazienti ospedalizzati, i valori di sensibilità sono soddisfacenti, ma la specificità è molto più bassa rispetto a quella ottenuta in pazienti ambulatoriali. Quindi l'impiego del D-dimero in pazienti ricoverati ha valore molto limitato a causa dell'elevato numero di falsi positivi³⁷.

Tabella II. Valori (media ponderata e range) di sensibilità (SE), specificità (SP), predittivo negativo (VPN) e predittivo positivo (VPP) per la presenza di TEV di diversi metodi per il dosaggio del D-dimero. Sono stati considerati solo i lavori in cui sono stati arruolati pazienti ambulatoriali. LD = valore minimo/massimo del livello decisionale utilizzato

Metodo (Riferimenti bibliografici)	LD (ng/ml)	N° pazienti totali	% di pazienti con TEV	SE%	SP%	VPN%	VPP%
Metodi Elisa							
ELISA Classici (102)	-----	2245	36.5 21.7-67.2	96.8 89.0-100	39.2 6.0-100	94.9 75.0-100	46.7 28.0-100
VIDAS (bioMerieux) (5,52,103-115)	500-750	2824	35.1 20.3-67.4	97.7 89.7-100	41.8 19-81.7	98.2 91.3-100	42.8 29.2-77.6
NycoCard (NycoMed) (5,104,106,116-119)	250-500	743	35.9 23.8-51.9	92.8 86.0-98.0	55.2 31.0-88.2	93.8 88.2-98.0	42.2 35.0-63.5
Metodi di agglutinazione semiquantitativi							
(102)	-----	1097	41.5 18.9-78.1	86.0 (43.0-98.0)	63.6 (22-100)	88.0 (50-95)	60.9 (43-100)
Metodi di agglutinazione quantitativi							
TINAquant (Boehringer Mannheim) (5,105,110,112,118,120)	500-700	890	44.6 20.3-67.4	93.4 83.3-100	50.6 33.0-58.1	93.7 85.2-100	55.9 33.7-76.0
STA Liatest (Roche Diagnostics) (5,109,120-123)	350-500	1673	44.5 29.5-59.5	97.3 88.6-100	38.2 33.0-46.0	93.3 81.5-100	53.3 42.5-68.0
Turbiquant (Dade Behring) (5,110)	99-177	276	35.4 20.3-50.5	94.0 91.7-98.0	39.8 39.7-40.0	94.9 94.9-95.0	40.5 28.0-63.0
MDA (Organon Teknika) (109,124)	500	718	30.2 19.0-41.5	96.0 95.6-98.0	44.1 41.7-44.6	97.5 96.8-97.7	33.1 28.8-54.3
Il Test (Instrumentation Laboratory) (5,114,125,126)	130-400	318	47.9 38.0-72.1	95.3 67.0-100	57.1 33.3-86.0	95.6 88.9-100	70.1 55.0-79.2
BC, su BCT (Dade Behring) (5,108,127)	130-250	510	40.1 30.5-50.5	94.2 83.0-97.4	56.7 45.2-87.0	94.4 83.0-97.4	55.8 43.6-87.0
Metodi che impiegano sangue in toto							
SimpliRed (AGEN) (5,105,107,128-133)	-----	1443	37.7 16.7-67.4	87.7 50.0-100	73.5 58.1-90.0	90.6 39.8-93.0	56.9 39.8-93.0
Cardiac D-Dimer (Roche Diagnostics) (115,120)	400-500	180	44.0 40.0-48.0	93.7 88.6-100	50.0 50.0-50.0	92.3 86.2-100	56.2 55.4-57.1
Simplify D-Dimer (AGEN) (25)	-----	20	29.2	100	52.9	100	46.7

Come si può osservare nella Tabella II, sono attualmente disponibili in commercio metodi rapidi, quantitativi, automatizzabili e utilizzabili su campioni singoli che hanno dimostrato un'accuratezza diagnostica almeno pari a quella dei metodi ELISA classici. È evidente che per utilizzare questi metodi nelle strategie diagnostiche di TEV è necessario stabilire un valore di cut-off specifico (o livello decisionale) per il metodo impiegato. Ciò implica che i risultati ottenuti con un sistema non possono essere trasferiti ad un altro e che ogni metodo deve essere valutato nell'ambito di studi clinici specifici. Come già detto, il livello decisionale può non coincidere con il limite superiore del range di normalità.

La scelta del metodo da utilizzare dipende anche dal ruolo che questo test occupa nella strategia diagnostica scelta. Ad esempio, se il dosaggio del D-dimero è utilizzato senza altre indagini è indispensabile che la sensibilità del metodo sia il più vicino possibile al 100%, onde evitare falsi negativi. Se invece il D-dimero è usato in combinazione con la valutazione della probabilità clinica e/o un'indagine strumentale, allora è possibile utilizzare un metodo con sensibilità inferiore. Un'altra questione importante è la scelta di utilizzare un metodo semiquantitativo di agglutinazione. Ci sono buone evidenze che inducono a sconsigliare l'impiego di tali test, che hanno mostrato una sensibilità troppo bassa per poter escludere con sicurezza la presenza di TEV.

Riteniamo inoltre che dovrebbero essere preferiti metodi oggettivi e quantitativi. I risultati ottenuti in studi clinici con metodi che si basano su una lettura visiva sono infatti difficilmente trasferibili alla realtà quotidiana, dove le condizioni operative sono molto meno rigorose. Se si opta per metodi di agglutinazione quantitativi è infine importante porre molta attenzione alla curva di calibrazione. In questi metodi il valore corrispondente al livello decisionale è spesso posizionato nella parte bassa della curva di calibrazione, vicino al limite di rilevamento, in una zona dove il segnale è più debole e più elevato può quindi essere il coefficiente di variazione. La possibilità di dosare elevati valori di D-dimero senza l'impiego di pre-diluizione non è un elemento determinante nella scelta del metodo da utilizzare per la diagnostica di TEV. Può però essere utile qualora il test venga utilizzato per altri scopi (es. diagnosi di CID).

I requisiti che un metodo per il dosaggio del D-dimero dovrebbe possedere per essere utilizzato ai fini dell'esclusione di TEV possono essere così riassunti:

- validazione clinica
- alta sensibilità e valore predittivo negativo
- specificità sufficientemente elevata da rendere vantaggioso l'impiego del test
- valore del livello decisionale calcolato specificatamente
- tempo di esecuzione < 30 minuti
- risultati affidabili e riproducibili nel range vicino al livello decisionale

- possibilità di eseguire test singoli in qualsiasi momento
- risultati indipendenti dall'operatore

Problemi nell'impiego del D-dimero per la diagnostica della tromboembolia venosa

Come si può osservare nella Tabella II, anche in studi che abbiamo utilizzato lo stesso metodo per il dosaggio del D-dimero sono stati trovati valori di sensibilità, specificità, valore predittivo positivo/negativo molto diversi. Queste differenze sono dovute a varie cause, legate soprattutto alle condizioni sperimentali ed anche alle caratteristiche della popolazione studiata. Il primo problema è che i diversi studi hanno utilizzato metodi diagnostici per la TEV molto diversi (flebografia, CUS, ecc); inoltre la prevalenza della TEV è molto diversa, ed è noto che il valore predittivo negativo è più elevato nel caso in cui la prevalenza sia più bassa.

Anche le caratteristiche dei pazienti sono rilevanti: l'età, la durata dei sintomi, l'estensione del processo trombotico, un'eventuale terapia anticoagulante già iniziata al momento dell'osservazione, sono tutti fattori che possono determinare importanti variazioni. I livelli di D-dimero tendono ad aumentare in modo significativo con l'età³⁸⁻⁴⁰. Ne consegue che la sensibilità dei test tende a rimanere invariata, ma la specificità si riduce considerevolmente⁴¹⁻⁴⁴. È stato dimostrato che i livelli di D-dimero sono anche correlati positivamente con l'estensione del processo trombotico^{45,46}. Nonostante alcune segnalazioni circa la possibilità di utilizzare il D-dimero per il valore predittivo positivo, occorre ribadire che al momento attuale non vi è alcuna indicazione che giustifichi l'uso del test in tal senso: indipendentemente dall'entità dell'incremento del livello del D-dimero non è possibile attribuire a ciò il valore probante della presenza di TEV. Infatti, i livelli di D-dimero aumentano, anche in misura molto rilevante, ogni volta che si formi fibrina in qualsiasi sede e che questa sia degradata dalla plasmina. Pertanto, bisogna attenersi all'utilizzo diagnostico del test per il suo alto valore predittivo negativo. Le situazioni patologiche nelle quali sono presenti livelli aumentati di D-dimero sono numerose. Pertanto la specificità e quindi l'efficienza diagnostica del test nell'escludere una TEV nei pazienti ospedalizzati, è fortemente ridotta a causa dei numerosi falsi positivi.

Possibilità di "falsi negativi"

Nel valutare i risultati del D-dimero per la diagnostica di TEV occorre tener presente la possibilità di incontrare dei "falsi negativi". Il primo motivo per avere falsi negativi risiede nell'impiego di metodi scarsamente sensibili e/o nell'erronea determinazione del valore del livello decisionale. Benchè l'insorgenza di TEV si accompagni all'aumento del D-dimero, è stata dimostrata una relazione inversa tra i livelli di D-dimero e la durata dei sintomi. La concentrazione del D-dimero tende infatti a ridursi se il paziente presenta

sintomi da diversi giorni al momento dell'osservazione⁴⁷, riducendosi ad un quarto del valore iniziale già dopo una o due settimane⁴⁸. Inoltre, il livello di D-dimero tende a ridursi dopo l'inizio della terapia antitrombotica (con eparina o anticoagulanti orali), per cui il test può risultare non alterato, se il paziente viene esaminato quando la terapia è già stata iniziata^{15,49,50}. L'accuratezza del test sarà quindi maggiore se il soggetto viene esaminato dopo pochi giorni dall'inizio dei sintomi e quando ancora non è stato sottoposto a trattamenti anticoagulanti. I livelli di D-dimero sono significativamente più elevati in presenza di TEV estesa (TVP prossimale, embolia polmonare), rispetto a trombosi limitate (TVP distali isolate)⁴⁷. Piccoli trombi possono perciò associarsi ad aumenti modesti del D-dimero e quindi la loro identificazione può sfuggire se il D-dimero è l'unico/primo test nella strategia diagnostica di TEV.

Il D-dimero nell'ambito delle diverse strategie per la diagnosi di tromboembolismo venoso

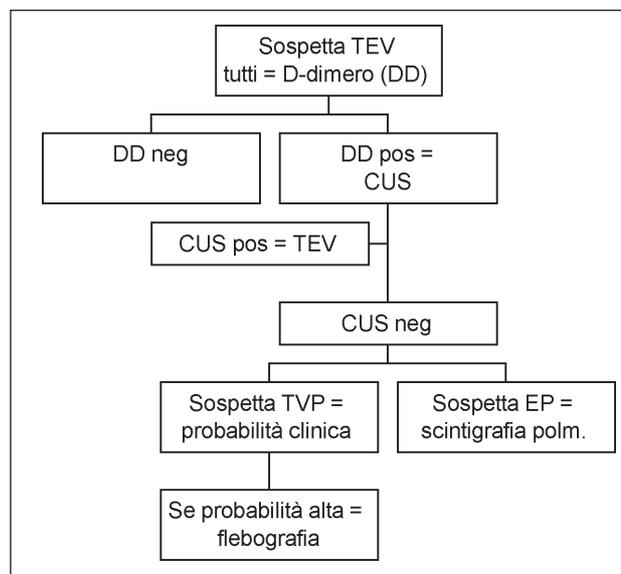
La diagnosi di TEV, sia TVP che EP, si basa sull'uso integrato di diversi strumenti diagnostici: a) il grado di probabilità clinica che categorizza l'entità del rischio di presenza di TEV; b) la determinazione del livello di D-dimero, che se normale consente di escludere la presenza di un processo trombotico; c) la CUS, specie quella semplificata per l'esclusione della TVP prossimale (viene impiegata anche nell'iter diagnostico della EP) e d) indagini per l'EP quali la scintigrafia polmonare o la TC spirale.

La determinazione del D-dimero trova una diversa collocazione a seconda della strategia diagnostica seguita; l'individuazione del metodo di dosaggio più idoneo può variare di conseguenza⁵¹. Le strategie proposte sono le seguenti:

- Iniziale determinazione del D-dimero per escludere TVP o EP
- Determinazione del D-dimero dopo una CUS negativa o scintigrafia polmonare non diagnostica
- Determinazione del D-dimero integrata con la valutazione della probabilità clinica e conseguenti ulteriori accertamenti (quando indicati)
- Iniziale determinazione del D-dimero per escludere il tromboembolismo venoso (Figura 1)

La strategia basata sull'esecuzione iniziale del dosaggio del D-dimero, per poi sottoporre alla CUS (o a test per la diagnosi di EP, se del caso) solo i casi con test positivo ed escludere da ulteriori accertamenti e dall'anticoagulazione quelli con test negativo, è stata recentemente adottata in un ampio studio prospettico di gestione di pazienti con sospetta TEV⁵². Questo studio ha coinvolto oltre 900 pazienti ambulatoriali consecutivi che si sono presentati al Dipartimento d'Emergenza dell'Ospedale Cantonale di Ginevra per il sospetto di TVP e/o EP (vedi Figura 1). Il primo approccio è stato quella della determinazione del D-dimero tramite il metodo ELISA

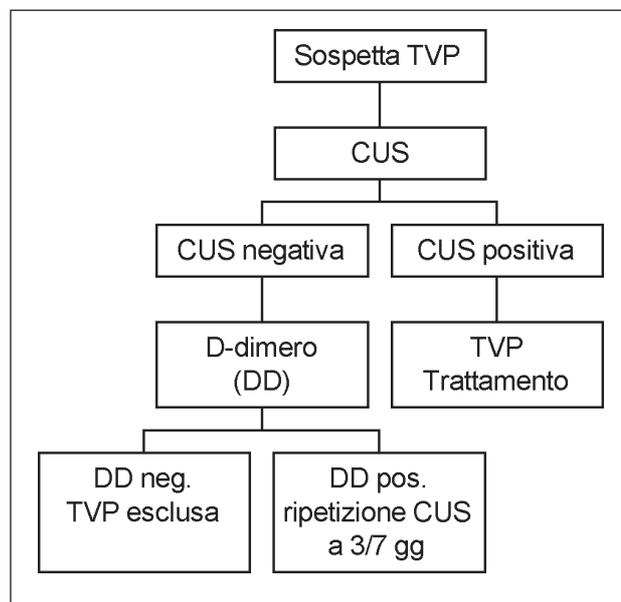
Figura 1. Flow-chart schematica che rappresenta la determinazione del D-dimero come approccio iniziale per escludere una TEV



rapido (VIDAS, bioMerieux). Un risultato normale escludeva la presenza di TEV mentre valori alterati comportavano ulteriori accertamenti (CUS o scintigrafia polmonare innanzitutto, fino alla flebografia o angiografia polmonare). Il metodo per il D-dimero impiegato in questo studio ha dimostrato una sensibilità e un VPN del 98.2% e 98.4% rispettivamente. Il rischio di complicanze trombotiche a distanza di tre mesi in coloro che erano stati esclusi da ulteriori indagini grazie ad un D-dimero risultato negativo è stato del 2.6% (95% LC 0.2-4.9).

- Determinazione del D-dimero dopo un primo accertamento specifico negativo (Figura 2)
- Il dosaggio del D-dimero nell'ambito di questa strategia diagnostica per il sospetto di TVP ha lo scopo

Figura 2. Flow-chart schematica che rappresenta il ruolo della determinazione del D-dimero dopo un primo accertamento specifico per TVP risultato negativo



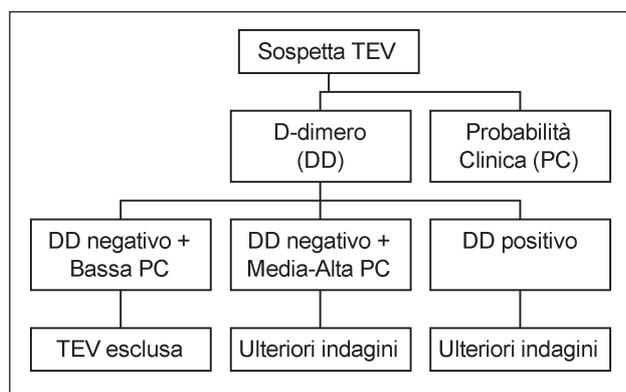
principale di selezionare i casi che devono essere ricontrollati con CUS qualche giorno dopo (di solito 3-7 giorni) una prima indagine CUS negativa, che esclude una TVP prossimale, ma non una possibile TVP distale isolata, che può essere la fonte di alterazione dei valori del D-dimero. In questi casi vi è indicazione ad eseguire la seconda CUS che dovrebbe essere in grado di diagnosticare tempestivamente l'estensione prossimale di una TVP distale.

Questa strategia è stata validata da numerosi studi clinici di management in pazienti con sospetta TVP³². La Figura 2 illustra l'algoritmo che impiega il dosaggio del D-dimero in seguito a CUS negativa in pazienti ambulatoriali con sospetta TVP di un arto inferiore⁵³. La validità di questa strategia è stata confermata da uno studio clinico³⁶ che ha indicato una riduzione notevole del carico di lavoro e del disagio dei pazienti, garantendo contestualmente una ottima efficacia clinica. Infatti, la necessità della ripetizione della CUS dopo un primo esame negativo si era ridotta dal 75% al 9.3%, mentre le complicanze trombotiche a tre mesi erano inferiori all'1%. Va detto però che lo studio ha utilizzato un metodo qualitativo rapido per la determinazione del D-dimero (Instant I.A.), oggi non più disponibile.

Un analogo impiego del D-dimero si è rivelato utile anche in caso di sospetta EP dopo che una scintigrafia polmonare perfusoria e ventilatoria si era dimostrata non diagnostica⁵⁴. In questo caso il riscontro di D-dimero normale consente di evitare di sottoporre il paziente ad ulteriori accertamenti diagnostici.

c) Determinazione del D-dimero integrata con la valutazione della probabilità clinica e conseguenti accertamenti specifici (Figura 3)

Figura 3. Flow-chart schematica che rappresenta il ruolo della determinazione del D-dimero integrata con la valutazione della probabilità clinica e con ulteriori accertamenti specifici (se indicati)



Sospetta TVP

Sebbene la diagnosi clinica di TVP non sia affidabile, la valutazione della probabilità clinica riveste una grande importanza nella procedura diagnostica di TVP. Due studi hanno dimostrato che la probabilità clinica di TVP può essere valutata con accuratezza, sia utilizzando uno score formale³⁵ (vedi Tabella III), sia un metodo empirico⁵². Sebbene vi siano alcune

differenze non trascurabili tra i due metodi [una maggiore percentuale di pazienti è attribuita alla classe di bassa probabilità con lo score di Wells (59%) rispetto al metodo empirico (27%)], la prevalenza di TVP nei pazienti classificati con bassa, media ed alta probabilità è stata sostanzialmente simile con i due metodi, intorno al 3-10%, 15-30% e > 70% rispettivamente nei tre gruppi.

Numerosi studi recenti hanno dimostrato che il riscontro di D-dimero normale in soggetti ambulatoriali con sintomi di TVP di un arto inferiore e con una bassa probabilità clinica consente di escludere con sicurezza la TVP, senza bisogno di procedere ad ulteriori accertamenti^{55,56}, anche quando sia impiegato un metodo qualitativo rapido (SimpliRED), eseguito al letto del paziente⁵⁷⁻⁶⁰. Sebbene il SimpliRED sia meno sensibile dei test ELISA, viene considerato adeguato per escludere con sicurezza la TVP in soggetti che abbiano una bassa prevalenza di TVP sulla base della valutazione della probabilità clinica⁶¹.

Questa procedura diagnostica è stata validata da numerosi studi clinici di management. In particolare, nello studio di Kearon et al.⁵⁸ solo uno dei 177 pazienti (40% del totale) attribuiti alla classe con bassa probabilità clinica e D-dimero negativo, ha avuto la dimostrazione di TVP nei tre mesi successivi. Questo studio ha perciò dimostrato che il VPN della suddetta procedura diagnostica (esclusione di TVP in soggetti con bassa probabilità clinica e D-dimero negativo) può raggiungere il 99% (99.4%; LC 96.9%-100%).

Questa strategia diagnostica, che limita l'accertamento vascolare non invasivo (la CUS) ai soggetti con D-dimero positivo e/o probabilità clinica intermedia o alta, dopo aver escluso i soggetti con bassa probabilità clinica e D-dimero negativo, risulta la più valida in termini di rapporto tra costo ed efficacia⁶².

Sospetta EP

Anche in caso di sospetta EP, la valutazione della probabilità clinica riveste grande importanza; a questo scopo sono stati proposti e validati due diversi criteri^{63,64}. In un recente lavoro⁶⁵, una procedura analoga a quanto esposto in precedenza è stata applicata in oltre 900 pazienti esaminati per un sospetto di EP. In oltre 400 di questi pazienti l'EP è stata esclusa sulla base di una bassa probabilità clinica e di D-dimero negativo (con SimpliRED), senza bisogno di ulteriori accertamenti. Nell'arco dei tre mesi successivi si è verificato solo un caso di TEV nei 759 soggetti nei quali l'EP era stata esclusa seguendo il protocollo diagnostico.

D-dimero e diagnosi di recidiva di trombosi venosa prossimale

In un paziente che sviluppa sintomi riferibili a TVP nell'arto controlaterale rispetto a quello di una pregressa TVP, può essere applicata la stessa strategia diagnostica raccomandata nei pazienti con storia clinica negativa. In pazienti che hanno invece sintomi nello stesso arto di una pregressa TVP, la conferma o l'esclusione di un episodio trombotico è molto più

Tabella III. Valutazione della probabilità clinica pre-test per sospetta trombosi venosa profonda (TVP) degli arti inferiori secondo quanto proposto e validato da Wells e collaboratori (35)

Caratteristiche cliniche (Se sintomi bilaterali valutare arto più sintomatico)	Punteggio
– Neoplasia in atto (terapia in corso, o nei precedenti 6 mesi)	[1]
– Paralisi, paresi o recente immobilizzazione di un arto inf.	[1]
– Recente allettamento > 3 gg o chirurgia maggiore (entro 4 sett.)	[1]
– Dolorabilità lungo il decorso del sistema venoso profondo	[1]
– Edema di tutto l'arto	[1]
– Gonfiore del polpaccio, 3 cm > controlaterale (10 cm sotto la tuberosità tibiale)	[1]
– Edema improntabile (più accentuato nell'arto sintomatico)	[1]
– Circolo collaterale superficiale (non vene varicose)	[1]
– Diagnosi alternativa (verosimile quanto quella di TVP)	[- 2]
Punteggio totale	

Classi di probabilità secondo il punteggio totalizzato e stima della rispettiva incidenza di TVP

Alta probabilità	= 3 o > 3	= TVP > 70%
Media probabilità	= 1 o 2	= TVP 15%-30%
Bassa probabilità	= 0 o neg.	= TVP 3%-10%

difficile ed ha tuttora ampi margini d'incertezza. Il dosaggio del D-dimero appare particolarmente utile in questa condizione clinica al fine di escludere la diagnosi di recidiva in caso di risultato normale. Il valore della determinazione del D-dimero è comunque da considerare in relazione alla tempestività del controllo rispetto all'insorgenza dei sintomi.

D-dimero e valutazione del rischio di recidiva di tromboembolia venosa

Uno studio recente ha dimostrato che livelli normali di D-dimero misurati dopo la sospensione della terapia anticoagulante orale effettuata per una precedente TEV hanno un alto VPN per recidiva di TEV⁶⁶. Più recentemente, tale alto VPN per recidiva è stato confermato in particolare in pazienti il cui precedente evento di TEV era stato di tipo idiopatico ed anche nei soggetti portatori di condizioni trombofiliche congenite⁶⁷. Questi risultati suggeriscono il potenziale contributo della misurazione del D-dimero nel determinare l'ottimale durata della terapia anticoagulante orale nel singolo paziente, al fine di prevenire una recidiva trombotica. È attualmente in corso uno studio prospettico policentrico promosso dalla FCSA (Federazione dei Centri di Sorveglianza degli Anticoagulati) al fine di verificare questa ipotesi di lavoro.

Significato del dosaggio del D-dimero in altre condizioni cliniche

D-dimero e CID

Già nel paragrafo relativo agli aspetti fisiopatologici è stato accennato al classico ruolo del D-dimero nella diagnostica della CID, ove di fatto questo nuovo test ha sostituito i vecchi metodi per gli FDP, con alcuni vantaggi pratici, ma in un procedimento diagnostico che non è sostanzialmente diverso rispetto al prece-

dente^{1,3}. L'estesa disponibilità in laboratorio dei test per il D-dimero in regime d'urgenza ha reso superfluo l'uso contemporaneo degli FDP⁶⁸. È noto che nella CID si riscontrano pressoché regolarmente valori elevati di D-dimero associati a prodotti di degradazione del fibrinogeno, e la misurazione separata o combinata di tali prodotti utilizzando metodi recenti raggiunge una sensibilità diagnostica per la CID prossima al 100%⁶⁹. Cionostante, la determinazione del D-dimero in tale condizione clinica (dove peraltro il livello di D-dimero è sempre alterato) non appare tradursi in utili indicazioni individuali circa il trattamento più opportuno o per un orientamento prognostico.

D-dimero, gravidanza e altre condizioni

Come già detto, in gravidanza si registra fisiologicamente un aumento progressivo del D-dimero, in quanto espressione dello stato di ipercoagulabilità che caratterizza tipicamente tale condizione. È stato segnalato che incrementi eccessivi possono caratterizzare alcune patologie gravidiche come i ritardi di accrescimento, gli aborti intrauterini, le gestosi ipertensive⁷⁰ e la preeclampsia⁷¹. Tuttavia, l'impiego di tali risultati al fine di orientare la diagnosi o il trattamento di queste complicanze nei singoli soggetti è tuttora problematico e non codificato.

Le cose non sono diverse per altre condizioni (chirurgia maggiore, traumatologia, infezioni e sepsi, neoplasie, epatopatie), in cui può coesistere un certo grado di coagulazione intravascolare con conseguente aumento del D-dimero. In tali situazioni la misurazione del D-dimero è priva di valore pratico specifico.

D-dimero e patologia cardiovascolare

a) D-dimero come marker di malattia aterotrombotica
Dalla fine degli anni '80 si sono resi disponibili numerose osservazioni che indicano l'esistenza di una associazione tra livelli di D-dimero e rischio di manifesta-

zioni cliniche di malattie cardiovascolari⁷². Studi retrospettivi hanno dimostrato tale associazione in pazienti con sindrome coronarica acuta ed infarto miocardico. Tuttavia è noto che il D-dimero aumenta nelle condizioni associate a danno vascolare, cosicché è impossibile in questi studi distinguere la causa dall'effetto. Negli ultimi anni sono stati invece pubblicati risultati di studi prospettici che hanno aumentato l'interesse per il D-dimero come indicatore di rischio.

Nel Physicians' Health Study (studio caso-controllo prospettico condotto su un campione molto consistente di medici americani), soggetti con livelli di D-dimero al limite superiore (>95° percentile) della distribuzione normale avevano un rischio di successivo infarto miocardico, ad un follow-up di 5 anni, doppio (RR 2.02) rispetto a quelli con livelli più bassi, anche se questo effetto non era indipendente dai livelli dei lipidi⁷³. Nel Caerphilly Study il D-dimero è risultato un indicatore di rischio indipendente per eventi coronarici ad un follow-up di 61 mesi in una popolazione generale maschile di mezza età del Galles, mostrando una discreta proporzionalità fra entità dell'aumento e gravità del rischio (RR 3.5 fra il quintile superiore e quello inferiore)⁷⁴. Lo stesso studio ha dimostrato che tale ruolo predittivo si osservava anche in un sottogruppo di soggetti che avevano già avuto manifestazioni cliniche di coronaropatia⁷⁵. Analogamente in oltre 600 pazienti con arteriopatia periferica caratterizzata da claudicatio intermittens arruolati nell'Edinburgh Artery Study, i livelli di D-dimero sono risultati predittivi non solo della progressione della malattia vascolare, ma anche di futuri eventi coronarici [RR a un anno 4.4 fra il quintile superiore e quello inferiore⁷⁶ e RR a 6 anni 1.50 fra il terzile superiore e quello inferiore⁷⁷] e stroke⁷⁸. Studi trasversali indicano inoltre un'associazione diretta fra D-dimero ed entità di stenosi delle carotidi e delle arterie periferiche in soggetti clinicamente sani⁷⁹ e di stenosi coronariche in pazienti con angina stabile e pregresso infarto miocardico⁸⁰.

Recentemente uno studio caso-controllo condotto nell'ambito del Cardiovascular Health Study⁸¹ su una popolazione sana di 5201 anziani (età > 65 anni) di ambo i sessi ha confermato un ruolo indipendente del D-dimero come fattore predittivo di rischio di infarto miocardico e di morte coronarica ad un follow-up medio di 29 mesi per livelli superiori al valore mediano dei soggetti esaminati. Una recente metanalisi degli studi precedentemente citati ha dimostrato un'associazione tra livelli di D-dimero nel terzile superiore della distribuzione e cardiopatia ischemica (OR circa 1.7)⁸².

Successivamente uno studio italiano⁸³ ha anche segnalato la possibilità che il dosaggio del D-dimero effettuato precocemente dopo un ictus ischemico possa essere di aiuto nello stabilire la natura dell'evento, in quanto ictus di natura cardioembolica sarebbero associati a valori di D-dimero più elevati rispetto a quelli di natura aterotrombotica o lacunare. Peraltro questa segnalazione non ha al momento alcuna possibilità di

applicazione nella pratica clinica.

Il ruolo del D-dimero come marker di rischio vascolare non sembra essere semplicemente l'effetto della sua correlazione con i livelli di fibrinogeno. Si ritiene piuttosto che un aumentato turnover della fibrina possa giocare un ruolo determinante nella progressione della malattia arteriosa e/o nell'insorgenza di tromboosi ostruttiva⁸⁴. Ulteriori studi hanno dimostrato l'esistenza di un comportamento diverso fra sessi, in quanto il valore prognostico del D-dimero appariva più significativo per gli uomini rispetto alle donne⁸⁵. Aumentati livelli di D-dimero probabilmente riflettono una maggiore attivazione della coagulazione. A sostegno di tale interpretazione sono la correlazione positiva con i livelli di alcuni marker di attivazione della coagulazione, quali il frammento 1+2 della protrombina (F1+2), i complessi trombina-antitrombina (TAT), la Thrombus Precursor Protein, ed il fibrinopeptide A, nonché il fatto che un trattamento con anticoagulanti orali si associa ad una riduzione dei livelli di D-dimero in pazienti con fibrillazione atriale (vedi oltre)⁸⁶⁻⁸⁸.

In conclusione, il ruolo del D-dimero come indicatore di rischio cardiovascolare appare fondato; ciononostante, la mancanza di studi clinici rilevanti che abbiano dimostrato con certezza l'esistenza un rapporto tra concentrazione plasmatica del D-dimero e riduzione del rischio limita tuttora l'utilizzo di questo ausilio diagnostico nella stratificazione e nella gestione clinica dei pazienti con malattie cardiovascolari.

b) Possibile utilità clinica del D-dimero nella stratificazione di pazienti con patologia cardiaca

Recentemente la misurazione del D-dimero è stata proposta come marker diagnostico precoce di ischemia coronarica in pazienti con dolore toracico⁸⁹. In uno studio prospettico su pazienti consecutivi presentatisi in Dipartimento di emergenza con dolore toracico, i livelli di D-dimero superiori a 500 ng/ml avevano valore diagnostico indipendente per infarto miocardico (OR 6.4, con ampi limiti di confidenza). Come sottolineato dall'editoriale che accompagnava il lavoro⁹⁰, si tratta di uno studio con molti limiti, con dati del tutto preliminari ottenuti su un piccolo campione, che ben difficilmente potranno avere una applicabilità clinica. Alcuni studi, peraltro con risultati disomogenei, hanno valutato l'utilizzazione del D-dimero ai fini della prognosi a breve termine in pazienti con sindromi coronariche acute^{91,92}. Tuttavia, la disponibilità di strumenti diagnostici precoci, quali la mioglobina, e maggiormente specifici, quali la determinazione delle proteine del complesso delle troponine, limita considerevolmente il significato e l'utilità clinica di questo test nella stratificazione di pazienti con sospetta ischemia miocardica acuta.

In pazienti con cardiopatia ischemica e aneurisma ventricolare i livelli di D-dimero sono significativamente aumentati rispetto ai pazienti senza aneurisma e tali livelli possono essere normalizzati dal trattamento con anticoagulanti orali⁸⁷. In questi casi il D-dimero potrebbe essere utile nell'identificare i candidati

al trattamento anticoagulante, anche se questa ipotesi non è stata ancora validata.

Diversi studi sono stati condotti sulle variazioni del D-dimero nei pazienti con fibrillazione atriale (FA). Nel complesso la FA cronica si accompagna ad uno stato protrombotico testimoniato dall'aumento di fattori quali fibrinogeno, marker di generazione (F1+2, TAT) e di attività trombinica (fibrinopeptide A) e D-dimero^{86,93,94}. La cardioversione a ritmo sinusale può diminuire l'attivazione emostatica con una sostanziale riduzione del D-dimero⁹⁵ anche se questo non è stato confermato in un recente studio⁹⁶. Nei pazienti sottoposti a procedura di ablazione con radiofrequenza, il D-dimero aumenta transitoriamente forse a causa dell'attivazione dell'emostasi indotta dal trauma tissutale⁹⁷.

Nei pazienti con FA, la terapia anticoagulante orale mantenuta in range terapeutico (INR 2-3) determina una riduzione dei valori di D-dimero nel plasma; regimi terapeutici inferiori al target ottimale s'associano a variazioni più modeste^{88,98}, così come la terapia con aspirina esercita un'influenza nulla o modesta⁸⁸.

Da notare che i pazienti con FA parossistica presentano livelli di D-dimero intermedi fra quelli dei fibrillanti cronici e dei pazienti in ritmo sinusale con caratteristiche cliniche simili⁹⁹. Anche nei pazienti con stenosi mitralica i livelli di D-dimero sono aumentati, ma tale aumento è maggiore in quelli fibrillanti¹⁰⁰. Nei pazienti con protesi valvolari cardiache meccaniche i livelli di D-dimero, probabilmente correlati ad insufficiente anticoagulazione, sono risultati predittivi di eventi tromboembolici¹⁰¹.

In conclusione, lo studio del D-dimero ha condotto ad importanti progressi nelle conoscenze fisiopatologiche in diverse patologie di interesse cardiologico e la misurazione di questo parametro ha un potenziale interesse clinico nella selezione di pazienti a maggior rischio trombotico. Sono necessari peraltro altri studi che dimostrino il significato di questo parametro nel processo decisionale applicato al singolo paziente. Al momento la misurazione del D-dimero in pazienti cardiologici e/o con malattia aterosclerotica a fini diagnostici (esclusa la diagnostica della TEV), prognostici o terapeutici appare priva di fondamento clinico e pertanto non raccomandabile.

Bibliografia

1. Prisco D. Valutazione critica delle nuove metodiche per lo studio dei prodotti di degradazione della fibrina. *Rec Progr Med* 1989; 80: 263-7.
2. Prisco D. Raccomandazioni sull'impiego in laboratorio delle metodiche per il dosaggio dei prodotti di degradazione del fibrinogeno e della fibrina. *Med Lab* 1994; 2: 143-6.
3. Prisco D, Conti A, Giurlani L, Falciani M. Clinical application of fibrinolysis laboratory tests: a review. *Ann Ital Med Int* 1998; 13: 81-7.
4. Eisenberg PR, Sherman LA, Perez J, Jaffe AS. Relationship between elevated plasma levels of crosslinked fibrin degradation products (XL-FDP) and the clinical presentation of patients with myocardial infarction. *Thromb Res* 1987; 46: 109-20.
5. van der Graaf F, van den Borne H, van der Kolk M, de Wild PJ, Janssen GWT, van Uum SHM. Exclusion of deep venous thrombosis with D-Dimer testing - Comparison of 13 D-Dimer methods in 99 outpatients suspected of deep venous thrombosis using venography as reference standard. *Thromb Haemost* 2000; 83: 191-8.
6. Prisco D, Paniccia R, Costanzo M, Abbate R. Relationship between classical FDP test and D-Dimer assayed both by latex agglutination and ELISA. *Thromb Res* 1990; 59: 207-12.
7. Paniccia R, Francalanci I, Filippini M, Comeglio P, Zarone N, Brunelli T, et al. Determination of fibrin degradation products in plasma by different enzyme immunoassays. *Eur J Lab Med* 1994; 2: 15-7.
8. Mac Callum PK, Cooper JA, Martin J, Howarth DJ, Meade TW, Miller GJ. Haemostatic and lipid determinants of prothrombin fragment F1.2 and D-dimer in plasma. *Thromb Haemost* 2000; 83: 421-6.
9. Pieper CF, Rao KMK, Currie MS, Harris TB, Cohen HJ. Age, functional status, and racial differences in plasma D-dimer levels in community-dwelling elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000; 55: M649-M657.
10. Francalanci I, Comeglio P, Liotta AA, Cellai AP, Fedi S, Parretti E, et al. D-dimer concentrations during normal pregnancy, as measured by ELISA. *Thromb Res* 1995; 78: 399-405.
11. Roller RE, Lahousen T, Lipp RW, Korninger C, Schnedl WJ. Elevated D-dimer results in a healthy patient. *Blood Coagul Fibrinol* 2001; 12: 501-2.
12. Kricka LJ. Interferences in immunoassay--still a threat. *Clin Chem* 2000; 46: 1037-8.
13. Devine DV. Utility of D-dimer measurement in deep venous thrombosis. *Fibrinolysis* 1993; 7: 12-6.
14. Eisenberg PR. Does a negative D-dimer exclude thrombosis? *Fibrinolysis* 1993; 7: 32-5.
15. Speiser W, Mallek R, Koppensteiner R, Stumpf A, Kapiotis S, Minar E, et al. D-Dimer and TAT measurement in patients with deep venous thrombosis - Utility in diagnosis and judgement of anticoagulant treatment effectiveness. *Thromb Haemost* 1990; 64: 196-201.
16. Graeff H, Hafter R. Clinical aspects of fibrinolysis. Bloom H, Thomas D eds. *Haemostasis and Thrombosis*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 245-54.
17. Francis CW, Markham RE Jr, Marder VJ. Demonstration of in situ fibrin degradation in pathologic thrombi. *Blood* 1984; 63: 1216-24.
18. Dvorak HN, Senger DR, Dvorak AM, Harvey VS, McDonagh J. Regulation of extravascular coagulation by microvascular permeability. *Science* 1985; 227: 1059-61.
19. Gaffney PJ, Edgell T, Creightonkempford LJ, Wheeler S, Tarelli E. Fibrin degradation product (fnDP) assays: analysis of standardization issues and target antigens in plasma. *Br J Haematol* 1995; 90: 187-194.
20. Nieuwenhuizen W. A reference material for harmonisation of d-dimer assays. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1031-3.

21. Mauron T, Baumgartner I, Zbrun A, Biasiutti FD, Redondo M, Do DD, et al. SimpliRED d-dimer assay: comparability of capillary and citrated venous whole blood, between-assay variability, and performance of the test for exclusion of deep vein thrombosis in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1217-9.
22. Turkstra F, van Beek EJR, Buller HR. Observer and biological variation of a rapid whole blood d-dimer test. *Thromb Haemost* 1998; 79: 91-3.
23. de Monye W, Huisman MV, Pattynama PMT. Observer dependency of the simplified D-dimer assay in 81 consecutive patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Res* 1999; 96: 293-8.
24. Gerometta M, Rowbury D, Cooper B. Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing: A rebuttal - Modified SimpliRED methodology is not validated for clinical use. *Thromb Haemost* 2000; 84: 1134-5.
25. Cini M, Legnani C, Cavallaroni K, Bettini F, Palareti G. A new rapid bedside assay for D-Dimer measurement (Simplify D-Dimer) in the diagnostic work-up for deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2681-3.
26. Nordstrom M, Lindblad B, Bergqvist D, Kjellstrom T. A prospective study of the incidence of deep-vein thrombosis within a defined urban population. *J Intern Med* 1992; 232: 155-60.
27. Hansson PO, Welin L, Tibblin G, Eriksson H. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in the general population: 'the study of men born in 1913'. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1665-70.
28. Giuntini C, Di Ricco G, Marini C, Melillo E, Palla A. *Epidemiology*. *Chest* 1995; 107: S3-S9.
29. Linblad B, Sternby WH, Bergquist D. Incidence of venous thromboembolism verified by necropsy over 30 years. *Br Med J* 1991; 302: 709-11.
30. Carson JL, Kelley MA, Duff A, Weg JG, Fulkerson WJ, Palevsky HI, et al. The clinical course of pulmonary embolism. *N Engl J Med* 1992; 326: 1240-5.
31. Franco JA. Diagnosis of deep vein thrombosis on the basis of clinical findings. *Am J Med* 1990; 89: 396-7.
32. Kearon C, Julian JA, Newman TE, Ginsberg JS. Noninvasive diagnosis of deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1998; 128: 663-77.
33. Cogo A, Lensing AWA, Koopman MMW, Piovella F, Siragusa S, Wells PS, et al. Compression ultrasonography for diagnostic management of patients with clinically suspected deep vein thrombosis: prospective cohort study. *Br Med J* 1998; 316: 17-20.
34. Birdwell BG, Raskob GE, Whitsett TL, Durica SS, Comp PC, George JN, et al. The clinical validity of normal compression ultrasonography in outpatients suspected of having deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1998; 128: 1-7.
35. Wells PS, Anderson DR, Bormanis J, Guy F, Mitchell M, Gray L, et al. Value of assessment of pretest probability of deep-vein thrombosis in clinical management. *Lancet* 1997; 350: 1795-8.
36. Bernardi E, Prandoni P, Lensing AWA, Agnelli G, Guazzaloca G, Scannapieco G, et al. D-dimer testing as an adjunct to ultrasonography in patients with clinically suspected deep vein thrombosis: prospective cohort study. *Br Med J* 1998; 317: 1037-40.
37. Brotman DJ, Segal JB, Jani JT, Petty BG, Kickler TS. Limitations of D-dimer testing in unselected inpatients with suspected venous thromboembolism. *Am J Med* 2003; 114: 276-82.
38. Kario K, Matsuo T, Kobayashi H. Which factors affect high D-dimer levels in the elderly. *Thromb Res* 1991; 62: 501-8.
39. Cadroy Y, Pierrejean D, Fontan B, Sie P, Boneu B. Influence of aging on the activity of the hemostatic system - Prothrombin Fragment 1+2, Thrombin-Antithrombin-III complexes and D-dimers in 80 healthy subjects with age ranging from 20 to 94 years. *Nouv Rev Fr Hematol* 1992; 34: 43-6.
40. Hager K, Platt D. Fibrin degeneration product concentrations (d-dimers) in the course of ageing. *Gerontology* 1995; 41: 159-65.
41. Perrier A, Desmarais S, Goehring C, De Moerloose P, Morabia A, Unger PF, et al. D-dimer testing for suspected pulmonary embolism in outpatients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 492-6.
42. Mottier D, Couturaud F, Oger E, Leroyer C. Clinical usefulness of d-dimer tests in excluding pulmonary embolism is highly dependent upon age. *Thromb Haemost* 1998; 80: 527.
43. Tardy B, Tardyponcet B, Viallon A, Lafond P, Page V, Venet C, et al. Evaluation of d-dimer ELISA test in elderly patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1998; 79: 38-41.
44. Righini M, Goehring C, Bounameaux H, Perrier A. Effects of age on the performance of common diagnostic tests for pulmonary embolism. *Am J Med* 2000; 109: 357-61.
45. Sijens PE, van Ingen HE, van Beek EJR, Berghout A, Oudkerk M. Rapid ELISA assay for plasma D-dimer in the diagnosis of segmental and subsegmental pulmonary embolism - A comparison with pulmonary angiography. *Thromb Haemost* 2000; 84: 156-9.
46. De Monye W, Sanson BJ, MacGillavry MR, Pattynama PMT, Buller HR, van den Berg Huysmans AA, 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: 345-8.
47. Chapman CS, Akhtar N, Campbell S, Miles K, O'Connor J, Mitchell VE. The use of D-Dimer assay by enzyme immunoassay and latex agglutination techniques in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Clin Lab Haemat* 1990; 12: 37-42.
48. D'Angelo A, D'Alessandro G, Tomassini L, Pittet JL, Dupuy G, Crippa L. Evaluation of a new rapid quantitative d-dimer assay in patients with clinically suspected deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1996; 75: 412-6.
49. Estivals M, Pelzer H, Sie P, Pichon J, Boccalon H, Boneu B. Prothrombin Fragment 1+2, Thrombin-Antithrombin-III complexes and D-Dimers in acute deep vein thrombosis - effects of heparin treatment. *Br J Haematol* 1991; 78: 421-4.
50. Couturaud F, Kearon C, Bates SM, Ginsberg JS. Decrease in sensitivity of D-dimer for acute venous thromboembolism after starting anticoagulant therapy. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 2002; 13: 241-6.
51. Michiels JJ, Freyburger G, van der Graaf F, Janssen M, Oortwijn W, van Beek EJR. Strategies for the safe and effective exclusion and diagnosis of deep vein

- thrombosis by the sequential use of clinical score, D-dimer testing, and compression ultrasonography. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 657-67.
52. Perrier A, Desmarais S, Miron MJ, de Moerloose P, Lepage R, Slosman D, et al. Non-invasive diagnosis of venous thromboembolism in outpatients. *Lancet* 1999; 353: 190-5.
 53. Linee guida Siset per la diagnosi, la profilassi e la terapia del tromboembolismo venoso. *Hematologica* 2003; 88 (Suppl. 18).
 54. de Groot MR, Kooy MV, Pouwels JGJ, Engelage AH, Kuipers BF, Buller HR. The use at a rapid D-dimer blood test in the diagnostic work-up for pulmonary embolism: A management study. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1588-92.
 55. Lennox AF, Delis KT, Serunkuma S, Zarka ZA, Daskalopoulou SE, Nicolaidis AN. Combination of a clinical risk assessment score and rapid whole blood D-dimer testing in the diagnosis of deep vein thrombosis in symptomatic patients. *J Vasc Surg* 1999; 30: 794-803.
 56. Dryjski M, O'Brien MS, Harris LM, Hassett J, Janicke D. Evaluation of a screening protocol to exclude the diagnosis of deep venous thrombosis among emergency department patients. *J Vasc Surg* 2001; 34: 1010-4.
 57. Aschwanden M, Labs KH, Jeanneret C, Gehrig A, Jaeger KA. The value of rapid D-dimer testing combined with structured clinical evaluation for the diagnosis of deep vein thrombosis. *J Vasc Surg* 1999; 30: 929-35.
 58. Kearon C, Ginsberg JS, Douketis J, Crowther M, Brill-Edwards P, Weitz JI, et al. Management of suspected deep venous thrombosis in outpatients by using clinical assessment and D-dimer testing. *Ann Intern Med* 2001; 135: 108-11.
 59. Chunilal SD, Brill-Edwards PA, Stevens PB, Joval JP, McGinnis JA, Rupwate M, et al. The sensitivity and specificity of a red blood cell agglutination D-dimer assay for venous thromboembolism when performed on venous blood. *Arch Intern Med* 2002; 162: 217-20.
 60. Kraaijenhagen RA, Piovella F, Bernardi E, Verlato F, Beckers EAM, Koopman MMW, et al. Simplification of the diagnostic management of suspected deep vein thrombosis. *Arch Intern Med* 2002; 162: 907-11.
 61. Kelly J, Hunt BJ. Role of D-dimers in diagnosis of venous thromboembolism. *Lancet* 2002; 359: 456-8.
 62. Perone N, Bounameaux H, Perrier A. Comparison of four strategies for diagnosing deep vein thrombosis: A cost-effectiveness analysis. *Am J Med* 2001; 110: 33-40.
 63. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Ginsberg JS, Kearon C, Gent M, et al. Derivation of a simple clinical model to categorize patients probability of pulmonary embolism: Increasing the models utility with the SimpliRED D-dimer. *Thromb Haemost* 2000; 83: 416-20.
 64. Wicki J, Perneger TV, Junod AF, Bounameaux H, Perrier A. Assessing clinical probability of pulmonary embolism in the emergency ward - A simple score. *Arch Intern Med* 2001; 161: 92-7.
 65. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Stiell I, Dreyer JF, Barnes D, et al. Excluding pulmonary embolism at the bedside without diagnostic imaging: Management of patients with suspected pulmonary embolism presenting to the emergency department by using a simple clinical model and D-dimer. *Ann Intern Med* 2001; 135: 98-107.
 66. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Guazzaloca G, Pancani C, Coccheri S. Risk of venous thromboembolism recurrence: High negative predictive value of D-dimer performed after oral anticoagulation is stopped. *Thromb Haemost* 2002; 87: 7-12.
 67. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Valdré L, Lunghi B, Bernardi F, et al. The predictive value of D-dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia. *Circulation* 2003; 108: 313-8.
 68. Carey MJ, Rodgers GM. Disseminated intravascular coagulation: clinical and laboratory aspects. *Am J Hematol* 1998; 59: 65-73.
 69. Yu M, Nardella A, Pechet L. Screening tests of disseminated intravascular coagulation: guidelines for rapid and specific laboratory diagnosis. *Crit Care Med* 2000; 28: 1777-80.
 70. Francalanci I, Comeglio P, Liotta AA, Cellai AP, Fedi S, Parretti E, et al. D-dimer in intra-uterine growth retardation and gestational hypertension. *Thromb Res* 1995; 80: 89-92.
 71. Trofatter KF Jr, Howell ML, Greenberg CS, Hage ML. Use of the fibrin D-dimer in screening for coagulation abnormalities in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 435-40.
 72. Lowe GDO, Rumley A. Use of fibrinogen and fibrin D-dimer in prediction of arterial thrombotic events. *Thromb Haemost* 1999; 82: 667-72.
 73. Ridker PM, Hennekens CH, Cerskus A, Stampfer MJ. Plasma concentration of cross-linked fibrin degradation product (d-dimer) and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 1994; 90: 2236-40.
 74. Lowe GDO, Yarnell JWG, Sweetnam PM, Rumley A, Thomas HF, Elwood PC. Fibrin d-dimer, tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor, and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly Study. *Thromb Haemost* 1998; 79: 129-33.
 75. Lowe GDO, Rumley A, Sweetnam PM, Yarnell JWG, Rumley J. Fibrin D-dimer, markers of coagulation activation and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly Study. *Thromb Haemost* 2001; 86: 822-7.
 76. Fowkes FGR, Lowe GDO, Housley E, Rattray A, Rumley A, Elton RA, et al. Cross-linked fibrin degradation products, progression of peripheral arterial disease, and risk of coronary heart disease. *Lancet* 1993; 342: 84-6.
 77. Smith FB, Rumley A, Lee AJ, Leng GC, Fowkes FGR, Lowe GDO. Haemostatic factors and prediction of ischaemic heart disease and stroke in claudicants. *Br J Haematol* 1998; 100: 758-63.
 78. Smith FB, Lee AJ, Fowkes FGR, Price JF, Rumley A, Lowe GDO. Hemostatic factors as predictors of ischemic heart disease and stroke in the Edinburgh

- Artery Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3321-5.
79. Salomaa V, Stinson V, Kark JD, Folsom AR, Davis CE, Wu KK. Association of fibrinolytic parameters with early atherosclerosis : the ARIC study. *Circulation* 1995; 91: 284-90.
 80. Tataru MC, Heinrich J, Junker R, Schulte H, von Eckardstein A, Assmann G, et al. D-dimers in relation to the severity of arteriosclerosis in patients with stable angina pectoris after myocardial infarction. *Eur Heart J* 1999; 20: 1493-502.
 81. Cushman M, Lemaitre RN, Kuller LH, Psaty BM, Macy EM, Sharrett AR, et al. Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly - The Cardiovascular Health Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 493-8.
 82. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Fibrin D-dimer and coronary heart disease - Prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2001; 103: 2323-7.
 83. Ageno W, Finazzi S, Steidl L, Biotti MG, Mera V, Melzi D'Eril G, et al. Plasma measurement of D-dimer levels for the early diagnosis of ischemic stroke subtypes. *Arch Intern Med* 2002; 162: 2589-93.
 84. Moss AJ, Goldstein RE, Marder VJ, Sparks CE, Oakes D, Greenberg H, et al. Thrombogenic factors and recurrent coronary events. *Circulation* 1999; 99: 2517-22.
 85. Kalaria VG, Zareba W, Moss AJ, Pancio G, Marder VJ, Morrissey JH, et al. Gender-related differences in thrombogenic factors predicting recurrent cardiac events in patients after acute myocardial infarction. The THROMBO Investigators. *Am J Cardiol* 2000; 85: 1401-8.
 86. Lip GYH, Lowe GDO, Rumley A, Dunn FG. Increased markers of thrombogenesis in chronic atrial fibrillation: effects of warfarin treatment. *Br Heart J* 1995; 73: 527-33.
 87. Lip GYH, Lowe GDO, Metcalfe MJ, Rumley A, Dunn FG. Effects of warfarin therapy on plasma fibrinogen, von Willebrand factor, and fibrin D-dimer in left ventricular dysfunction secondary to coronary artery disease with and without aneurysms. *Am J Cardiol* 1995; 76: 453-8.
 88. Lip GYH, Lip PL, Zarifis J, Watson RDS, Bareford D, Lowe GDO, et al. Fibrin d-dimer and beta-thromboglobulin as markers of thrombogenesis and platelet activation in atrial fibrillation: effects of introducing ultra-low-dose warfarin and aspirin. *Circulation* 1996; 94: 425-31.
 89. Bayes Genis A, Mateo J, Santalo M, Oliver A, Guindo J, Badimon L, et al. D-Dimer is an early diagnostic marker of coronary ischemia in patients with chest pain. *Am Heart J* 2000; 140: 379-84.
 90. Newby LK. Cardiac marker testing: where should we focus? *Am Heart J* 2000; 140: 351-3.
 91. Mair J, Genser N, Maier J, Lechleitner P, Dienstl F, Puschendorf B. Markers of activated coagulation for early diagnosis of acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1997; 267: 239-45.
 92. Galvani M, Ottani F, Puggioni R. Value of a new bedside D-dimer assay for early risk stratification. *Circulation* 1996; 94: I-133.
 93. Kumagai K, Fukunami M, Ohmori M, Kitabatake A, Kamada T, Hoki N. Increased intracardiovascular clotting in patients with chronic atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 377-80.
 94. Gustafsson C, Blomback M, Britton M, Hamsten A, Svensson J. Coagulation factors and the increased risk of stroke in nonvalvular atrial fibrillation. *Stroke* 1990; 21: 47-51.
 95. Lip GYH, Rumley A, Dunn FG, Lowe GDO. Plasma fibrinogen and fibrin d-dimer in patients with atrial fibrillation: effects of cardioversion to sinus rhythm. *Int J Cardiol* 1995; 51: 245-51.
 96. Giansante C, Fiotti N, Miccio M, Altamura N, Salvi R, Guarnieri G. Coagulation indicators in patients with paroxysmal atrial fibrillation: Effects of electric and pharmacologic cardioversion. *Am Heart J* 2000; 140: 423-9.
 97. Michelucci A, Antonucci E, Conti AA, Alessandrello Liotta A, Fedi S, Padeletti L, et al. Electrophysiologic procedures and activation of the hemostatic system. *Am Heart J* 1999; 138: 128-32.
 98. Roldan-Schilling V, Marin-Ortuno F, Marco-Vera P, Sogorb-Garri F. Effect of oral anticoagulant therapy on fibrinolysis parameters in chronic nonrheumatic atrial fibrillation. *Haematologica* 2000; 85: 778-80.
 99. Lip GYH, Lowe GDO, Rumley A, Dunn FG. Fibrinogen and fibrin d-dimer levels in paroxysmal atrial fibrillation: evidence for intermediate elevated levels of intravascular thrombogenesis. *Am Heart J* 1996; 131: 724-30.
 100. Marin F, Roldan V, Monmeneu JV, Bodi V, Fernandez C, deBurgos FG, et al. Prothrombotic state and elevated levels of Plasminogen Activator Inhibitor-1 in mitral stenosis with and without atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 1999; 84: 862.
 101. Giansante C, Fiotti N, Calabrese S, Laverde R, Pandullo C, Scardi S, et al. D-dimer and anticoagulation in patients with mechanical prosthetic heart valves - a 2-year follow-up. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1320-4.
 102. Bounameaux H, de Moerloose P, Perrier A, Reber G. Plasma measurement of d-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism - an overview. *Thromb Haemost* 1994; 71: 1-6.
 103. de Moerloose P, Desmarais S, Bounameaux H, Reber G, Perrier A, Dupuy G, et al. Contribution of a new, rapid, individual and quantitative automated d-dimer ELISA to exclude pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 1996; 75: 11-3.
 104. Elias A, Aptel I, Huc B, Chale JJ, Nguyen F, Cambus JP, et al. D-dimer test and diagnosis of deep vein thrombosis: a comparative study of 7 assays. *Thromb Haemost* 1996; 76: 518-22.
 105. Janssen MCH, Heebels AE, Demetz M, Verbruggen H, Wollersheim H, Janssen S, et al. Reliability of five rapid D-dimer assays compared to ELISA in the exclusion of deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997; 77: 262-6.
 106. Legnani C, Pancani C, Palareti G, Guazzaloca G, Fortunato G, Grauso F, et al. Comparison of new rapid methods for D-dimer measurement to exclude deep vein thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997; 8: 296-302.
 107. Reber G, de Moerloose P, Coquoz C, Bounameaux H. Comparison of two rapid d-dimer assays for the

- exclusion of venous thromboembolism. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 1998; 9: 387-8.
108. Legnani C, Pancani C, Palareti G, Guazzaloca G, Coccheri S. Contribution of a new, rapid, quantitative and automated method for D-dimer measurement to exclude deep vein thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999; 10: 69-74.
 109. Houbouyan-Reveillard LL, Mihoubi A, Houdijk WPM, Qanadli S, Joseph T, Courret P, et al. Preliminary evaluation of two new rapid immunoturbidimetric D-dimer assays in patients with clinically suspected venous thromboembolism (VTE). *Thromb Haemost* 2000; 84: 770-4.
 110. Sadouk M, Desmarais S, Patenaude JV, Lepage R. Comparison of diagnostic performance of three new fast D-Dimer assays in the exclusion of deep vein thrombosis. *Clin Chem* 2000; 46: 286-7.
 111. de Moerloose P, Bounameaux H, Perrier A, Reber G. Performances of the VIDAS D-dimer new assay for the exclusion of venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2001; 85: 185-6.
 112. Funfsinn N, Caliezi C, Biasiutti FD, Korte W, ZBrun A, Baumgartner I, et al. Rapid D-dimer testing and pre-test clinical probability in the exclusion of deep venous thrombosis in symptomatic outpatients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12: 165-70.
 113. Sijens PE, Oudkerk M, Berghout A, vanIngen HE, Kemperman H. Comparison of a quantitative latex and a quantitative ELISA plasma D-dimer assay in the exclusion of segmental and subsegmental pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 2001; 86: 1580-2.
 114. Shitrit D, Heyd J, Raveh D, Rudensky B. Diagnostic value of the D-dimer test in deep vein thrombosis: Improved results by a new assay method and by using discriminate levels. *Thromb Res* 2001; 102: 125-31.
 115. Legnani C, Fariselli S, Cini M, Oca G, Abate C, Palareti G. 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: 149-53.
 116. Pannocchia A, Chiappino I, Valpreda S, Bazzan M, Giorgianni A, Lanfranco G, et al. DVT exclusion in symptomatic outpatients: use of a rapid d-dimer immunofiltration assay and comparison with three enzyme immune assays. *Fibrinolysis* 1996; 10: 117-9.
 117. Scarano L, Bernardi E, Prandoni P, Sardella C, Rossi L, Carraro P, et al. Accuracy of two newly described d-dimer tests in patients with suspected deep venous thrombosis. *Thromb Res* 1997; 86: 93-9.
 118. Lindahl TL, Lundahl TH, Ranby M, Fransson SG. Clinical evaluation of a diagnostic strategy for deep venous thrombosis with exclusion by low plasma levels of fibrin degradation product d-dimer. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58: 307-16.
 119. Bradley M, Bladon J, Barker H. D-Dimer assay for deep venin thrombosis: its role with colour doppler sonography. *Clin Radiol* 2000; 55: 525-7.
 120. Bucek RA, Quehenberger P, Feliks I, Handler S, Reiter M, Minar E. Results of a new rapid D-dimer assay (Cardiac D-dimer) in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Thromb Res* 2001; 103: 17-23.
 121. Escoffrebarbe M, Oger E, Leroyer C, Grimaux M, Lemoigne E, Nonent M, et al. Evaluation of a new rapid d-dimer assay for clinically suspected deep venous thrombosis (Liatest D-dimer). *Am J Clin Pathol* 1998; 109: 748-53.
 122. Oger E, Leroyer C, Bressollette L, Nonent M, Lemoigne E, Bizais Y, et al. Evaluation of a new, rapid, and quantitative D-dimer test in patients with suspected pulmonary embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 65-70.
 123. Reber G, Bounameaux H, Perrier A, de Moerloose P. Performances of a new, rapid and automated microlatex D-dimer assay for the exclusion of pulmonary embolism in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1998; 80: 719-20.
 124. Bates SM, Grand-Maison A, Johnston M, Naguit I, Kovacs MJ, Ginsberg JS. A latex D-dimer reliably excludes venous thromboembolism. *Arch Intern Med* 2001; 161: 447-53.
 125. Legnani C, Pancani C, Palareti G, Guazzaloca G, Coccheri S. Performance of a new, fast D-dimer test (IL Test (TM) D-Dimer) for the management of outpatients with suspected deep vein thrombosis in emergency situations. *Fibrinolysis & Proteolysis* 1999; 13: 139-41.
 126. Villa P, Ferrando F, Serra J, Faus H, Mira Y, Vaya A, et al. Quantification of D-dimer using a new fully automated assay: its application for the diagnosis of deep vein thrombosis. *Haematologica* 2000; 85: 520-4.
 127. Reber G, Bounameaux H, Perrier A, de Moerloose P. Performances of a new, automated latex assay for the exclusion of venous thromboembolism. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12: 217-20.
 128. Brenner B, Pery M, Lanir N, Jabareen A, Markel A, Kaftori JK, et al. Application of a bedside whole blood d-dimer assay in the diagnosis of deep vein thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995; 6: 219-22.
 129. Wells PS, Brill-Edwards P, Stevens P, Panju A, Patel A, Douketis J, et al. A novel and rapid whole-blood assay for D-dimer in patients with clinically suspected deep vein thrombosis. *Circulation* 1995; 91: 2184-7.
 130. Turkstra F, Van Beek EJ, Tencate JW, Buller HR. Reliable rapid blood test for the exclusion of venous thromboembolism in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1996; 76: 9-11.
 131. Fiessinger JN, Heron E, Jacq F, Rance A, Emmerich J. Rapid blood test for the exclusion of venous thromboembolism in symptomatic outpatients. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1042-3.
 132. Jacq F, Heron E, Rance A, Cesarini M, Emmerich J, Fiessinger JN. Evaluation of a rapid blood test for the exclusion of venous thromboembolism in symptomatic outpatients. *Presse Med* 1997; 26: 1132-4.
 133. Wells PS, Anderson DR, Bormanis J, Guy F, Mitchell M, Lewandowski B. SimpliRED d-dimer can reduce the diagnostic tests in suspected deep vein thrombosis. *Lancet* 1998; 351: 1405-6.