

Embolia polmonare: Diagnostica di Laboratorio

Gualtiero Palareti

*U.O. di Angiologia e Malattie della Coagulazione "Marino Golinelli"
Policlinico S. Orsola-Malpighi - Bologna*

Ruolo del D-dimero

Il D-dimero è un prodotto finale della proteolisi esercitata da parte del sistema fibrinolitico (la plasmina) sulla fibrina dopo che questa è stata stabilizzata con legami crociati covalenti grazie all'azione del fattore XIII (a sua volta attivato dalla trombina). La presenza nel sangue del D-dimero è quindi espressione: a) dell'attivazione della coagulazione con formazione di fibrina, b) della sua stabilizzazione per azione del fattore XIII attivato e c) della successiva proteolisi da parte del sistema fibrinolitico. Il D-dimero ha un peso molecolare di circa 180.000 dalton e un'emivita in vivo di circa 4-6 ore¹. Esso è rilevabile in bassa concentrazione nel sangue di soggetti sani; il che indica che esiste uno stato di equilibrio fra la formazione di fibrina e la sua lisi anche in condizioni fisiologiche.

Un aumento del livello del D-dimero può essere osservato in numerose condizioni cliniche nelle quali si forma fibrina che viene poi degradata (infezioni, tumori, interventi chirurgici, traumi, ustioni estese, coagulazione intravascolare disseminata (CID), ematomi, tromboembolia venosa (TEV), cardiopatia ischemica, stroke, arteriopatia periferica, aneurismi, malattie infiammatorie, gravidanza). Poiché il D-dimero può essere aumentato in numerosissime condizioni cliniche, la specificità di questo test per la TEV è bassa, indipendentemente dal metodo usato per la sua determinazione. Al contrario, la sensibilità e il corrispondente valore predittivo negativo sono generalmente alti; il test può quindi essere usato solo per escludere la presenza di una TEV in caso di un valore negativo o comunque al di sotto di un cut-off determinato in modo specifico. Al contrario, suoi livelli elevati non significano che sia più probabile la presenza di TEV; semplicemente essi non consentono di escludere la TEV e quindi indicano la necessità di procedere ad ulteriori accertamenti.

Metodi di dosaggio

Sono disponibili numerosi metodi per il dosaggio del D-dimero, tutti basati sull'impiego di anticorpi monoclonali che riconoscono epitopi specifici nella molecola. Dopo i primi metodi immunoenzimatici (ELISA) classici, dotati di alta sensibilità e valore predittivo negativo, ma non utilizzabili per campioni singoli e non idonei per un impiego in emergenza, si sono poi resi disponibili metodi ELISA utilizzabili per campioni singoli e relativamente di rapida esecuzione. Il metodo VIDAS (bioMérieux) fornisce risultati in 35 minuti ed è completamente automatico; l'unico inconveniente è che la sua ese-

cuzione richiede uno strumento dedicato. Più semplici e convenienti economicamente sono i metodi semiquantitativi di agglutinazione, rapidi e che non richiedono strumentazione. La loro lettura però è esclusivamente visiva ed è inevitabile una variabilità tra osservatori nel valutare la presenza di agglutinazione. Più recenti sono i metodi di agglutinazione quantitativi, fotometrici o turbidimetrici, da utilizzare su coagulometri o analizzatori di biochimica clinica e che non richiedono strumenti dedicati [Tinaquant (Boehringer Mannheim), Sta Liatest (Diagnostica Stago), IL test (Instrumentation Laboratory), BC D-Dimer (Dade Behring), Turbiquant (Dade Behring), MDA (Organon Teknika)]. Normalmente i risultati sono disponibili in circa 5-10 minuti. Il loro principale vantaggio consiste nell'essere osservatore-indipendenti e, nella maggior parte dei casi, completamente automatici e quindi con meno fonti di variabilità. È comunque necessaria una certa cautela per la loro sensibilità analitica e per il limite di rilevamento. La curva di calibrazione, infatti, copre in genere un range molto ampio, ma il limite superiore della normalità e il cut-off 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 per basse concentrazioni, la riproducibilità per livelli di D-dimero vicino al cut-off deve essere verificata accuratamente.

Sono attualmente largamente impiegati metodi che da applicare su sangue in toto, che hanno il vantaggio di essere eseguiti al letto del paziente senza necessità di attrezzature di laboratorio. Il primo ad essere introdotto sul mercato è stato il SimplyRed (Agen), basato sull'agglutinazione di emazie. Il test è molto rapido ma la lettura della agglutinazione è visiva ed è stata segnalata una variabilità anche rilevante tra osservatori diversi²⁻⁵. Più recentemente si è reso disponibile il metodo Cardiac D-Dimer (Roche Diagnostics) la cui lettura è effettuata da uno strumento dedicato (Cardiac Reader, Roche Diagnostics)⁶. L'ultimo metodo proposto è invece un metodo immunocromatografico qualitativo (Clearview Simplify D-Dimer, Agen); esso non necessita di strumentazione avendo un endpoint visivo. Nonostante sia prevedibile una certa variabilità inter-osservatore, i dati attualmente disponibili dimostrano una buona riproducibilità del metodo⁷.

Uno dei problemi principali relativo al dosaggio del D-dimero è rappresentato dalla difficoltà di standardizzare metodi diversi e conseguentemente la comparazione dei risultati otte-

nuti con metodi diversi è impossibile e ogni risultato è del tutto "metodo-specifico".

Intervallo di riferimento e livello decisionale

Per ogni metodo per il dosaggio del D-dimero esiste un intervallo di riferimento o range di normalità, o più spesso (poiché i limiti inferiori della norma tendono a lambire il valore 0) un cut-off tra valori normali e patologici. Per la diagnosi di TEV è ovviamente il cut-off che interessa e non l'intervallo di riferimento o il range di normalità.

Il D-dimero è spesso aumentato nell'età neonatale e nei soggetti anziani. 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 aumentati rispetto ai valori pre-gestazionali⁹ 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 livelli¹⁰.

Impiego del D-dimero nell'esclusione di TEV

Come già ricordato, i pazienti con una TEV acuta hanno in genere livelli elevati di D-dimero; poiché però un aumento del livello può essere legato a numerose altre condizioni cliniche, la specificità del D-dimero è piuttosto bassa, mentre il valore predittivo negativo è sufficientemente alto, specie nei pazienti ambulatoriali, da escludere una TEV quando si associa a una probabilità clinica non alta. L'efficienza del test nell'escludere una TEV nei pazienti ricoverati è fortemente ridotta a causa dei numerosi falsi positivi¹¹.

Numerosi studi di accuratezza sono stati eseguiti per verificare la sensibilità e la specificità per la TEV dei diversi metodi commerciali. Nella Tabella I sono riportati i valori (media ponderata e range) di sensibilità, specificità, valori predittivo negativo (VPN) e positivo (VPP) dei metodi attualmente disponibili per il dosaggio del D-dimero impiegati per l'esclusione di TEV.

Per impiegare il dosaggio dei D-dimeri nelle strategie diagnostiche della TEV è raccomandabile scegliere metodi altamente sensibili per i quali siano disponibili valori di cut-

off (o limiti decisionali) specificatamente determinati in studi clinici che abbiano arruolato pazienti con sospetto di TEV. Il valore di specificità non va comunque trascurato in quanto se un metodo è poco specifico dà luogo a numerosi falsi positivi ed è quindi di scarsa utilità clinica in quanto solo raramente permette di escludere la presenza di TEV. Altre caratteristiche da tenere in considerazione sono: tempi di esecuzione rapidi, risultati affidabili e riproducibili nel range vicino al valore corrispondente al limite decisionale, possibilità di eseguire test singoli in qualsiasi momento, risultati indipendenti dall'osservatore.

Il dosaggio del D-dimero non può essere utilizzato da solo per escludere la presenza di una TEV. La diagnosi di TEV si basa infatti sull'applicazione di strategie diagnostiche che impiegano tre diversi strumenti: a) il grado di probabilità clinica che categorizza l'entità del rischio di presenza di TEV; b) la determinazione del livello di D-dimero; c) l'esecuzione di indagini strumentali non invasive, quali la ultrasonografia per compressione (CUS) per la trombosi venosa profonda (TVP) e la scintigrafia polmonare o la Tomografia Computerizzata (TC) spirale per l'embolia polmonare (EP).

La determinazione del D-dimero trova una diversa collocazione a secondo della strategia diagnostica seguita ed anche la individuazione del metodo di dosaggio più idoneo può variare di conseguenza¹². Il dosaggio del D-dimero può essere infatti eseguito come test di primo filtro, da solo o in combinazione con la valutazione della probabilità clinica pre-test o dopo un'indagine strumentale. La scelta del metodo da utilizzare dipende anche dalla posizione che questo test occupa nella strategia diagnostica scelta. Ad esempio, se il dosaggio del D-dimero è utilizzato da solo come test di primo filtro e non sono compiute altre indagini nel caso in cui il livello sia inferiore al limite decisionale 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 o dopo un'indagine strumentale allora è possibile utilizzare anche un metodo con una sensibilità più bassa.

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

Oltre al metodo utilizzato anche altre variabili condizionano il

Tabella I. Valori di sensibilità e specificità per la diagnosi di TEV di diversi metodi per il dosaggio dei D-dimeri ricavati da una rassegna dei lavori disponibili.

	N	Sensibilità %(range)	Specificità %(range)
VIDAS D-dimer	1841	94-100	34-82
IL D-dimer	287	98-100	33-77
STA Liatest	950	93-100	33-43
MDA	718	96-98	42-45
TINAquant	1002	83-100	33-75
BC D-Dimer	523	80-97	33-87
D-Dimer Plus	312	97-98	37-45
SimpliRed	3108	61-100	47-94
Simplify D-Dimer	100	100	52.9
Cardiac D-Dimer	180	87-100	50-50

livello di D-dimero misurabili in un paziente con un processo trombotico. Le principali sono: l'età del paziente, l'esistenza di altri depositi di fibrina, l'estensione del processo trombotico, la durata dei sintomi e di conseguenza l'età del trombo, il potenziale fibrinolitico e l'eventuale terapia anticoagulante già iniziata al momento dell'osservazione. Alcune condizioni, come l'età avanzata e la presenza di condizioni cliniche concomitanti associate ad aumento del livello del D-dimero, determinano una perdita di specificità e quindi producono un aumento dei falsi positivi e riducono l'utilità del test. Altre situazioni invece, come la limitata estensione del trombo, un intervallo di tempo tra l'insorgenza dei sintomi e il controllo di laboratorio superiore a 7-10 giorni, il fatto che sia già stato iniziato un trattamento anticoagulante al momento dell'osservazione o uno stato ipofibrinolitico producono invece una perdita di sensibilità con conseguente aumento della probabilità di avere dei falsi negativi. È stato dimostrato che i livelli di D-dimero sono correlati positivamente con l'estensione del processo trombotico^{13,14}. Esiste inoltre una relazione inversa tra i livelli di D-dimero e la durata dei sintomi e quindi con il passare dei giorni il fenomeno di nuova deposizione e lisi di fibrina può rallentare condizionando una minore formazione di D-dimero^{15,16}. Anche uno stato ipofibrinolitico può ridurre la produzione di D-dimero a parità di altre condizioni¹⁷. La terapia anticoagulante, sia con eparina che con anticoagulanti orali, riduce la formazione e deposizione di fibrina e dunque anche i livelli di D-dimero¹⁸ per cui il test potrebbe risultare normale se il paziente viene esaminato quando tale terapia è

già stata iniziata¹⁸⁻²⁰.

In sintesi, le attuali evidenze sull'utilizzo del D-dimero per la diagnostica della TEV possono essere così elencate:

- Data la mancanza di standardizzazione tra i diversi metodi, i risultati ottenuti con un sistema non possono essere estrapolati ad un altro;
- Si devono preferire metodi altamente sensibili, per i quali siano disponibili valori di cut-off (o limiti decisionali) specificatamente determinati in studi clinici in pazienti con sospetto di TEV;
- Il test non deve essere considerato isolatamente, ma eseguito in associazione con la valutazione della probabilità clinica e con un metodo di indagine vascolare non invasiva;
- Un risultato negativo, ottenuto con metodo sensibile e validato in studi di management, esclude la presenza di EP, eccetto che in pazienti ad alta probabilità clinica, con durata dei sintomi maggiore di 7-10 giorni o già in trattamento anticoagulante;
- Metodi per la misurazione del D-dimero a bassa sensibilità non dovrebbero essere impiegati per escludere la EP, o al massimo escludono la presenza di EP solo in caso di bassa probabilità clinica.

Gasemometria arteriosa

La gasemometria arteriosa e il calcolo del gradiente d'ossigeno alveolare-arterioso sono indagini di frequente impiego ma di scarsa utilità reale per la diagnosi di EP. Studi che hanno valutato i risultati della gasanalisi rispetto a quelli dell'angiografia polmonare hanno dimostrato che l'ipossiemia è abbastanza incostante nella EP e può, d'altra parte, essere presente in molte altre situazioni cliniche che possono simulare una EP²¹. Solo negli episodi massivi la ipossiemia è presente e costantemente associata ad ipocapnia. Inoltre, il gradiente d'ossigeno alveolare-arterioso risulta normale in circa il 20% dei pazienti con EP dimostrata angiograficamente²².

Sebbene di scarso valore diagnostico se considerata isolatamente, la gasanalisi trova un suo impiego in schemi per la valutazione della probabilità clinica di EP, quale quello proposto da Wicki *et al.*²³ (Tabella II).

Altri test

È stato recentemente descritto un aumento dei livelli plasmatici di Troponina cardiaca I in casi di embolia polmonare massiva²⁴. Se la misurazione di questo marker può essere di utilità clinica ed avere un significato diagnostico o prognostico e di aiuto nell'orientare le scelte terapeutiche è ancora incerto. Alcuni recenti lavori dimostrano che questo test rappresenta uno strumento utile per ottimizzare il management dei pazienti con embolia polmonare in quanto in grado di valutare la gravità dei pazienti e stratificare il rischio individuale^{25,26}; valori alti del test costituirebbero inoltre un forte e indipendente elemento di predizione di mortalità in questi pazienti²⁷. Anche i livelli del Pro-Brain Natriuretic Peptide sono stati dimostrati essere utili nella valutazione dei pazienti con embolia polmonare acuta in quanto se bassi indicherebbero un decorso favorevole della malattia e potrebbero quindi segnalare i pazienti che si potrebbero avvantaggiare di una dimissione relativamente precoce²⁸.

Bibliografia

1. Eisenberg PR, Sherman LA, Perez J, Jaffe AS. Relationship

Tabella II. Schema per la valutazione della probabilità clinica per sospetta embolia polmonare proposto da Wicki *et al.*²³

Probabilità di EP	Score	Prevalenza di EP
Bassa	0-4	10%
Intermedia	5-8	38%
Alta	> 9	81%

Caratteristica	Score
Età	
60-79 anni	+ 1
≥ 80 anni	+ 2
Precedente TVP or EP	+ 2
Chirurgia recente	+ 3
FC > 100/min	+ 1
PaCO ₂	
< 36 mmHg	+ 2
36 - 39 mmHg	+ 1
PaO ₂	
< 49 mmHg	+ 4
49 - 60 mmHg	+ 3
61 - 70 mmHg	+ 2
71- 82	+ 1
RX-torace	
Atelettasie	+ 1
Elevazione emidiaframma	+ 1

- 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.
2. Mauron T, Baumgartner I, Zbrun A, Biasiutti FD, Redondo M, Do DD, Lammle B, Wuillemin WA. 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.
 3. Turkstra F, Vanbeek EJR, Buller HR. Observer and biological variation of a rapid whole blood d-dimer test. *Thromb Haemost* 1998; 79:91-3.
 4. deMonye 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.
 5. 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.
 6. 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.
 7. 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.
 8. MacCallum 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. 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.
 10. Roller RE, Lahousen T, Lipp RW, Korninger C, Schnedl WJ. Elevated D-dimer results in a healthy patient. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12:501-2.
 11. 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.
 12. Michiels JJ, Freyburger G, vanderGraaf F, Janssen M, Oortwijn W, vanBeek 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.
 13. Sijens PE, vanIngen HE, vanBeek 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.
 14. Nassar AH, Hobeika EM, Essamad HMA, Taher A, Khalil AM, Usta IM. Pregnancy outcome in women with prosthetic heart valves. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:1009-13.
 15. Devine DV. Utility of D-dimer Measurement in Deep Venous Thrombosis. *Fibrinolysis* 1993; 7:12-6.
 16. D'Angelo A, Dalessandro 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.
 17. Eisenberg PR. Does a negative D-dimer exclude thrombosis? *Fibrinolysis* 1993; 7:32-5.
 18. Speiser W, Mallek R, Koppensteiner R, Stumpfien 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.
 19. 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.
 20. Couturaud F, Kearon C, Bates SM, Ginsberg JS. Decrease in sensitivity of D-dimer for acute venous thromboembolism after starting anticoagulant therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13:241-6.
 21. Stein PD, Goldhaber SZ, Henry JW, Miller AC. Arterial blood gas analysis in the assessment of suspected acute pulmonary embolism. *Chest* 1996; 109:78-81.
 22. Stein PD, Goldhaber SZ, Henry JW. Alveolar-arterial oxygen gradient in the assessment of acute pulmonary embolism. *Chest* 1995; 107:139-43.
 23. 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.
 24. Dieter RS, Ernst E, Ende DJ, Stein JH. Diagnostic utility of cardiac troponin-I levels in patients with suspected pulmonary embolism. *Angiology* 2002; 53:583-5.
 25. Konstantinides S, Geibel A, Olschewski M, Kasper W, Hruska N, Jackle S, *et al.* Importance of cardiac troponins I and T in risk stratification of patients with acute pulmonary embolism. *Circulation* 2002; 106:1263-8.
 26. Janata K, Holzer M, Laggner AN, Mullner M. Cardiac troponin T in the severity assessment of patients with pulmonary embolism: cohort study. *Br Med J* 2003; 326:312-3.
 27. LaVecchia L, Ottani F, Favero L, Spadaro GL, Rubboli A, Boanno C, *et al.* Increased cardiac troponin I on admission predicts in-hospital mortality in acute pulmonary embolism. *Heart* 2004; 90:633-7.
 28. Kucher N, Printzen G, Doernhoefer T, Windecker S, Meier B, Hess OM. Low pro-brain natriuretic peptide levels predict benign clinical outcome in acute pulmonary embolism. *Circulation* 2003; 107:1576-8.