

Proposta di linee guida per l'uso del D-Dimero

C. Legnani, G. Palareti, D. Prisco*

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

** Dipartimento di Area Critica Medico Chirurgica, Centro Trombosi,
Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi, Firenze*

Fisiopatologia del D-dimero

Il D-dimero è un prodotto di degradazione della fibrina stabilizzata. La sua presenza nel sangue dipende dall'attivazione della coagulazione con formazione di fibrina dapprima solubile, poi stabilizzata per azione del fattore XIII (attivato dalla trombina) e successiva proteolisi da parte del sistema fibrinolitico (1). Ha un peso molecolare di circa 180000 Dalton e un'emivita in vivo di circa 4-6 ore. La concentrazione di D-dimero in vivo riflette lo stato della bilancia emostatica e può variare quindi notevolmente tra diversi soggetti e tra pazienti con diverse condizioni cliniche.

I valori normali sono strettamente dipendenti dalla metodica impiegata. 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 tromboembolismo venoso che come limite superiore normale è comune a diversi kit del commercio (2). È noto che non è possibile paragonare valori ottenuti con sistemi diversi poiché esistono differenze anche molto marcate sul singolo campione.

Il livello di D-dimero può essere aumentato in numerose condizioni fisiologiche e patologiche (vedi Tabella I). Spesso elevato nei soggetti anziani, specie dopo i 65 anni, è aumentato anche nell'età neonatale. 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 pregestazionali (3) e livelli alterati persistono frequentemente per alcune settimane dopo il parto. Infine va considerato il caso di aumenti del D-dimero in soggetti clinicamente sani.

Problemi nella standardizzazione dei metodi per il dosaggio del D-dimero

Uno dei problemi principali del dosaggio del D-dimero è rappresentato dalla difficoltà della standardizzazione dei diversi metodi. Ne consegue che la comparazione dei risultati ottenuti con metodi diversi è impossibile e che ogni risultato è del tutto "metodo-specifico".

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 -)
 - Tumori
 - Interventi chirurgici
 - Traumi
 - Ustioni estese
 - CID
 - Tromboembolismo venoso
 - 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 in fase di attività
 - Artrite reumatoide
 - Terapia trombolitica
-

Numerose sono le cause che stanno alla base della difficoltà di una standardizzazione. Innanzitutto l'eterogeneità dell'analita stesso. Il D-dimero isolato è presente in realtà in quantità piuttosto piccola; la maggior parte del D-dimero è contenuta in frammenti più grandi nei quali il D-dimero è variamente rappresentato anche dal punto di vista dei siti antigenici. Un secondo problema riguarda la scelta del calibratore. In generale vengono utilizzati due diversi tipi di calibratori: D-dimero purificato o prodotti di degradazione della fibrina ottenuti tramite digestione plasminica. Un terzo problema riguarda il diverso tipo di anticorpi monoclonali utilizzati.

Tipi di metodi per il dosaggio del D-dimero

- 1) Metodi ELISA: non possono essere usati per campioni singoli e non si adattano ad essere impiegati in situazioni di emergenza. Sono stati però 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

(bioMerieux) che fornisce risultati in 35 min ed è completamente automatico; il secondo è un metodo di immunofiltrazione in cui gli anticorpi sono coattati su una membrana permeabile (Nycocard, Nycomed).

- 2) Metodi di agglutinazione semiquantitativi: più semplici ed economicamente convenienti, sono rapidi e non richiedono strumentazione. Poiché però la lettura è esclusivamente visiva una certa variabilità tra osservatori nel valutare la presenza di agglutinazione è inevitabile.
- 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, Milano, Italia), BC D-Dimer (Dade Behring), Turbiquant (Dade Behring), MDA (Organon Teknika)]. Sono stati disegnati per essere utilizzati sui coagulometri o analizzatori di biochimica clinica, non richiedono quindi strumenti dedicati. Normalmente i risultati sono disponibili in circa 5-10 min. Il risultato è osservatore-indipendente ed 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.
- 4) Metodi che impiegano sangue in toto: hanno il vantaggio di poter essere eseguiti al letto del paziente. 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 e quindi è stata riportata una certa variabilità inter-osservatore. Più recentemente si è reso disponibile il metodo Cardiac D-Dimer (Roche Diagnostics) in cui invece la lettura si esegue con l'ausilio di uno strumento dedicato (Cardiac Reader, Roche Diagnostics). L'ultimo metodo proposto è immunocromatografico qualitativo (Simplify D-Dimer, Agen).

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

La tromboembolia venosa (TEV) include la trombosi venosa profonda (TVP) e l'embolia polmonare (EP). Si tratta di affezioni potenzialmente fatali e frequenti sia in pazienti ambulatoriali che ricoverati. I segni e i sintomi soggettivi sia della TVP che della EP non sono affatto specifici e pertanto il sospetto su base clinica deve essere sempre confermato da risultati di test diagnostici oggettivi. 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 avere un'alta sensibilità (97-100%) e specificità (97-100%) per la TVP prossimale (dalla vena poplitea inclusa in giù), ma è risultata molto meno sensibile per le vene del polpaccio

e pertanto non può escludere con certezza trombosi distali isolate (cioè limitate alle vene profonde del polpaccio: tibiali anteriori, tibiali posteriori e peroniere) (4). Per questi motivi il comportamento consigliato e validato nella letteratura scientifica è quello di riesaminare dopo qualche giorno (in genere 5-7) quei pazienti in cui è stata esclusa una TVP prossimale, ma non è possibile escludere una TVP distale. Negli studi clinici che hanno adottato questa strategia diagnostica (che hanno coinvolto più di 2000 pazienti) l'incidenza di complicanze nei mesi successivi è risultata estremamente bassa (0,7%; 95% IC 0,3-1,2). Per limitare il carico di lavoro riducendo il numero di pazienti da riesaminare sono adottate alcune strategie diagnostiche basate sia sulla determinazione della probabilità clinica pre-test (5) che sulla misurazione del D-dimero plasmatico sfruttando l'alto valore predittivo negativo di tale test (6). Anche per quanto riguarda la diagnosi di EP, basata sulla scintigrafia polmonare e/o la TAC spirale, 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 una diagnosi di TVP (in caso di risultato alterato).

Requisiti necessari per i metodi del D-dimero per l'impiego nelle strategie diagnostiche del TEV

Nella Tabella II sono riportati i valori (media ponderata e range) di sensibilità, specificità, e i valori predittivo negativo e positivo dei metodi attualmente disponibili per il dosaggio del D-dimero impiegati per l'esclusione di TEV in pazienti ambulatoriali. Sono attualmente disponibili 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 per il TEV è necessario stabilire uno specifico valore di cut-off. Infatti il valore di cut-off può non coincidere con il limite superiore del range di normalità. Dati i problemi di standardizzazione dei metodi per il dosaggio del D-dimero, il valore di cut-off è strettamente dipendente dal metodo utilizzato. Ciò implica che i risultati ottenuti con un sistema non possono essere estrapolati ad altri e che ogni metodo deve essere valutato in studi clinici specifici (7).

La scelta del metodo da utilizzare dipende anche dal ruolo che questo test occupa nella strategia diagnostica utilizzata. Ad esempio, se il dosaggio del D-dimero è utilizzato come primo step e non verranno compiute altre indagini nel caso in cui il valore sia inferiore al valore del cut-off è indispensabile che la sensibilità del metodo sia il più vicino possibile al 100%, onde evitare di avere dei falsi negativi. Se in-

Tabella II. Valori [media ponderata (range)] di sensibilità (SE), specificità (SP), predittivo negativo (VPN) e predittivo positivo (VPP) per la presenza di TVP/EP per diversi metodi per il dosaggio del D-dimero. Sono stati considerati solo i lavori in cui sono stati arruolati pazienti ambulatoriali.

Metodo	Cut-off	N° pazienti totali	% di pazienti con TVP/EP	SE %	SP %	VPN %	VPP %
<i>Metodi ELISA</i>							
ELISA Classici	—	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)	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)	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)
<i>Metodi di agglutinazione semiquantitativi</i>							
	—	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)
<i>Metodi di agglutinazione quantitativi</i>							
TINAquant (Boehringer Mannheim)	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 (Diagnostica Stago)	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)	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)	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)	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 on BCT (Dade Behring)	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)
<i>Metodi che impiegano sangue in toto</i>							
SimplyRed (AGEN)	—	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)	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)

vece il D-dimero è usato in combinazione con una bassa probabilità clinica e un'indagine CUS negativa allora è possibile utilizzare anche un metodo con una sensibilità più bassa. 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.

I requisiti tecnici che un metodo per il dosaggio del D-dimero dovrebbe possedere per essere utilizzato ai fini dell'esclusione di TEV possono essere così riassunti: tempo di esecuzione < 30 minuti; risultati affidabili e riproducibili nel range vicino al valore di cut-off; possibilità di eseguire test singoli in qualsiasi momento; alta sensibilità e valore predittivo negativo; specificità sufficientemente elevata da rendere vantaggioso l'impiego del test; valore di cut-off cal-

colato specificatamente; risultati indipendenti dall'osservatore.

Possibilità di "falsi negativi"

L'impiego di metodi scarsamente sensibili e/o l'erronea determinazione del valore di cut-off è sono la causa più frequente di falsi negativi. È stata dimostrata una relazione inversa tra i livelli di D-dimero e la durata dei sintomi. Inoltre è noto che il livello di D-dimero tende a ridursi dopo l'inizio della terapia antitrombotica (con eparina o anticoagulanti orali), per cui il test potrebbe risultare normale se il paziente viene esaminato quando tale terapia è già stata iniziata. I livelli di D-dimero saranno significativamente più elevati quando la TEV sia estesa (TVP prossimale), rispetto a trombosi limitate, come è spesso il caso per le TVP distali.

Il D-dimero nell'ambito delle diverse strategie per la diagnosi delle TEV

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 conseguenza. Le strategie proposte sono le seguenti:

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

Il D-dimero e la diagnosi di recidiva di TVP

Se un paziente sviluppa sintomi riferibili a TVP nello stesso arto di una pregressa TVP la conferma o esclusione di un episodio trombotico è molto difficile ed ha tuttora ampi margini d'incertezza. Il dosaggio del D-dimero risulta utile in questa condizione clinica al fine di escludere la diagnosi di recidiva di TVP in caso di risultato negativo.

Il D-dimero e la valutazione del rischio di recidiva

Uno studio recente ha dimostrato che livelli normali di D-dimero misurati dopo la sospensione della terapia anticoagulante orale effettuata per un precedente TEV hanno un alto valore predittivo negativo per recidiva di TEV (8). Più recentemente tale alto valore predittivo negativo per recidiva è stato confermato in particolare in pazienti il cui precedente evento TEV era stato di tipo idiopatico ed anche nei soggetti portatori di condizioni trombofiliche congenite (9). Questi risultati suggeriscono che il D-dimero ha un ruolo potenziale nel determinare l'ottimale durata della TAO 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 campo cardiologico e in altre condizioni cliniche

Negli ultimi decenni si sono resi disponibili diversi dati che indicano che esiste un'associazione fra i livelli plasmatici di D-dimero e il rischio di successive patologie cardiovascolari. Studi retrospettivi hanno dimostrato correlazioni positive fra livelli di D-dimero ed eventi vascolari in pazienti con pregresso infarto miocardico o ischemia miocardica acuta. Negli ultimi anni si sono resi disponibili risultati di studi prospettici che hanno confermato il significato del D-dimero come marker di rischio. Tale ruolo non sembra semplicemente effetto della correlazione tra D-dimero e livelli di fibrinogeno, ma anche in relazione ad un aumentato turnover della fibrina che

potrebbe giocare un ruolo nella progressione della malattia arteriosa e/o nell'insorgere della trombosi ostruttiva. È possibile che la misurazione del D-dimero possa divenire di qualche utilità clinica nella gestione di pazienti con patologia cardiologica, soprattutto per quanto riguarda la selezione di pazienti a maggior rischio trombotico. Sono necessari però altri studi che dimostrino il valore di questo parametro nel processo decisionale nel singolo paziente.

Nella CID si riscontrano pressoché regolarmente valori elevati di D-dimero associati a prodotti di degradazione del fibrinogeno; il test ha una sensibilità per la CID intorno al 100%. Va detto però che la determinazione del D-dimero (peraltro sempre alterato) non appare tradursi in utili indicazioni circa il trattamento e la prognosi individuale.

Bibliografia

1. Prisco D, Conti A, Giurlani L, Falciani M. Clinical application of fibrinolysis laboratory tests: a review. *Ann Ital Med Int* 1998; 13: 81-7.
2. 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.
3. 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.
4. Kearon C, Julian JA, Newman TE, Ginsberg JS. Noninvasive diagnosis of deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1998; 128: 663-77.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.