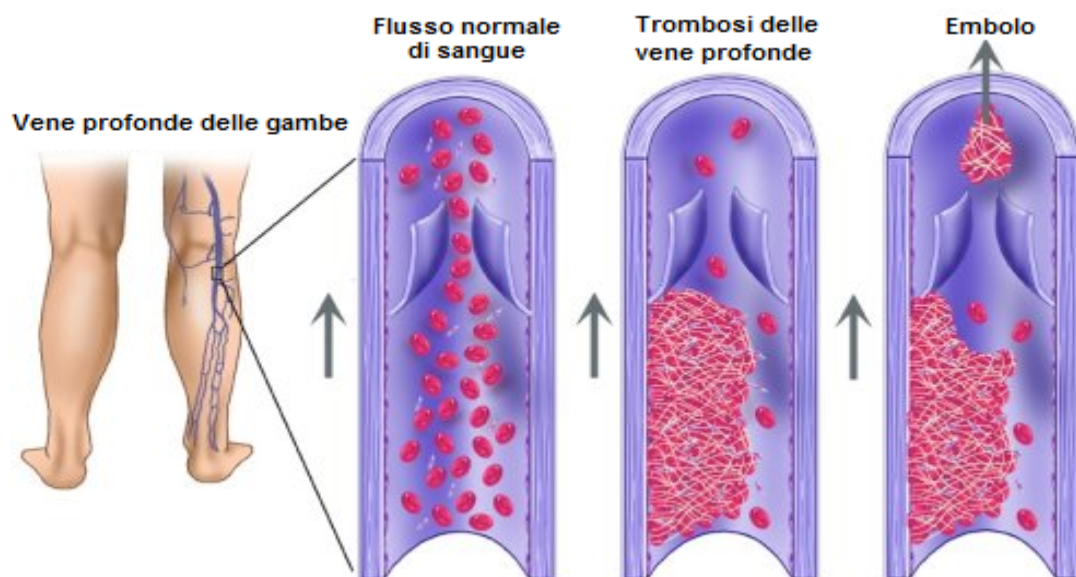


TROMBOSI VENOSA PROFONDA IL D-DIMERO NELLA PRATICA DI LABORATORIO

La malattia tromboembolica venosa o tromboembolismo venoso (TEV) è una condizione clinica caratterizzata dall'attivazione patologica della cascata coagulativa nel sistema circolatorio venoso con formazione di trombosi intra-luminale che con una certa frequenza può frammentarsi e/o dislocarsi dalla vena d'origine ed embolizzare nelle arterie polmonari.

I fenomeni tromboembolici originano con maggiore frequenza nelle vene degli arti inferiori, ma possono insorgere anche in altri distretti venosi, nelle sezioni destre del cuore e nelle arterie polmonari.



Si definisce trombosi venosa profonda (TVP) l'ostruzione completa o parziale di una o più vene del circolo venoso profondo degli arti e/o dell'addome e pelvi. La TVP è una patologia vascolare potenzialmente severa perché può causare un'embolia polmonare (EP) con rischio di morte improvvisa, precoce o tardiva: in assenza di un tempestivo trattamento anticoagulante adeguato, questa temibile complicanza si può verificare fino al 50% dei casi nei primi tre mesi.

La TVP si associa inoltre molto frequentemente con la sindrome post-trombotica (SPT), complicazione tardiva spesso invalidante e gravata da elevati costi sociali ed economici.

L'incidenza della TVP in Italia si attesta a circa 1 caso ogni 1000 soggetti per anno nella popolazione generale, varia con l'età con valori minimi durante l'infanzia e adolescenza (0,005%) ed aumento esponenziale fino allo 5-25/1000 nei pazienti tra i 70-80 anni.

Dopo la cardiopatia ischemica e l'ictus cerebrale ischemico il TEV è la patologia cardiovascolare più frequente e causa importante di mortalità e morbilità: è al terzo posto tra le cause di morte nella popolazione generale ed al primo posto nei pazienti ospedalizzati.

I fattori di rischio per le malattie tromboemboliche sono:

• Fattori di rischio ereditari, fattori di rischio del sangue/trombofilia
• Tumori maligni
• Infiammazioni croniche (p.es. reuma, malattie intestinali croniche)
• Diverse disfunzioni rare congenite ed acquisite
• Livelli elevati di lipoproteina (a)
• Carenza di proteina C/proteina S/antitrombina

•	Sindrome antifosfolipica
•	Mutazione protrombina G20210A
•	APC-resistenza / Mutazione Fattore V Leiden
•	Livelli elevati di omocisteina e mutazione MTHFR-C677T
•	Interventi chirurgici, in particolare sostituzioni articolari
•	Immobilizzazione a letto
•	Sovrappeso
•	Gravidanza, puerperio, pillola anticoncezionale, estrogeni in menopausa
•	Età
•	Lunghi viaggi in aereo > 4 ore, in auto > 8 ore.

Il D-dimero nella pratica di laboratorio

Il D-dimero è il prodotto specifico della degradazione del coagulo di fibrina e deriva dall'azione combinata di tre enzimi: a) la trombina, che si genera dall'attivazione della coagulazione e che converte il fibrinogeno in fibrina, b) il fattore XIII attivato che stabilizza il coagulo di fibrina mediante dei legami covalenti fra i monomeri di fibrina e c) la plasmina, l'enzima finale della fibrinolisi, che degrada la fibrina stabilizzata (1-2). Gli anticorpi monoclonali (MoAb) specifici per i neo-epitopi presenti sui frammenti generati dalla fibrina stabilizzata (il D-dimero) reagiscono con questo frammento, ma non con i frammenti generati dal fibrinogeno o dalla fibrina non stabilizzata, assicurando, pertanto, al D-dimero una elevata specificità come parametro di fibrino-formazione e stabilizzazione.

Le concentrazioni plasmatiche di D-dimero possono essere aumentate in tutte le condizioni cliniche elencate nella Tabella 1. La loro misura può essere di valido aiuto per la diagnosi e la gestione di molte condizioni trombotiche, quali la coagulazione intravascolare disseminata (CID), il tromboembolismo venoso (TEV), la cardiopatia ischemica, lo "stroke" e la terapia trombolitica. Però, come si vede dalla Tabella 1, elevati livelli di D-dimero si possono anche trovare in molte condizioni cliniche non trombotiche. Pertanto, l'aumento della concentrazione plasmatica del D-dimero non è necessariamente indice di trombosi. Nonostante queste limitazioni, la misura del D-dimero è stata proposta nel corso degli anni come un parametro potenzialmente utile in numerose condizioni, quali: a) la diagnosi di TEV, b) l'identificazione dei soggetti a rischio di eventi trombotici venosi o arteriosi, c) l'identificazione di soggetti a rischio di recidiva di TEV, d) stabilire la durata ottimale della profilassi antitrombotica dopo un primo evento di TEV, e) il monitoraggio della gravidanza e f) diagnosi e monitoraggio della CID.

Tabella 1.

Condizioni caratterizzate da aumentate concentrazioni di D-dimero

- | | |
|---------------------|------------------------------------|
| • Età avanzata | Ictus |
| • Periodo neonatale | Arteriopatia periferica |
| • Gravidanza | Aneurismi |
| • Ospedalizzazione | Insufficienza cardiaca congestizia |
| • Disabilità | Emolisi (anemia falciforme) |
| • Infezioni | Emorragie |

- Tumori
 - Chirurgia recente
 - Traumi, ustioni
 - Coagulazione intravascolare disseminata
 - Tromboembolismo venoso
- Sindrome acuta respiratoria
 - Epatopatie e malattie renali
 - Malattie infiammatorie intestinali
 - Terapia trombolitica
 - Dissezione aortica

DIAGNOSI DI TEV

Poiché la diagnosi di trombosi venosa profonda (TVP), basata su criteri clinici, è piuttosto inaffidabile, l'ultrasonografia per compressione (di seguito identificata come test per immagini) è diventata nel corso degli anni l'esame diagnostico di scelta, soprattutto per le trombosi prossimali (3-4). Più recentemente, anche la misura del D-dimero si è caratterizzata come un utile strumento di laboratorio per la diagnosi del TEV e questo a ragione del suo elevato valore predittivo negativo, quando usata in combinazione con la probabilità clinica pre-test. La potenziale utilità del D-dimero è stata in un primo tempo proposta e studiata per l'embolia polmonare (EP) da Bounameaux et al. (5), i quali dimostrarono che i pazienti con EP avevano livelli di D-dimero significativamente aumentati rispetto a quelli senza EP (Figura 1).

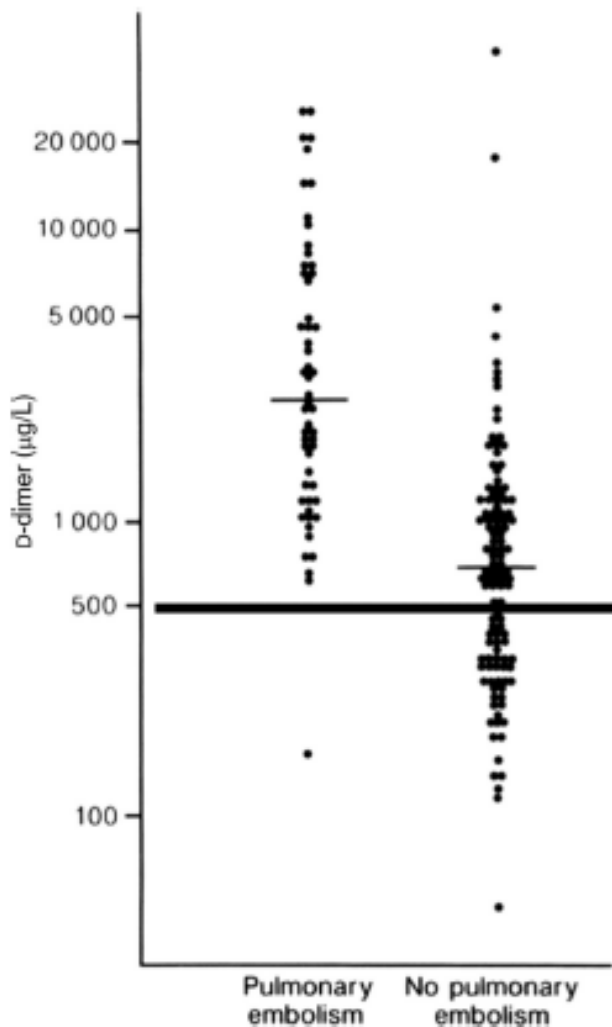


Figura 1. Concentrazioni di D-dimero nel plasma di pazienti con e senza embolia polmonare. La linea orizzontale rappresenta il valore di cut-off. La figura è riprodotta da Bounameaux et

Tuttavia, le concentrazioni di D-dimero nei pazienti con e senza EP erano in buona parte sovrapponibili e questo aveva indotto a concludere che la misura di questo parametro fosse di per se insufficiente per confermare la diagnosi di EP. Gli autori, però, ebbero un'importante intuizione. Se i risultati sono interpretati in base a un valore di cut-off (nel caso specifico corrispondente a 500 µg/L), pochi pazienti con EP (nel caso specifico solo uno) avevano concentrazioni di D-dimero al di sotto di quel valore. Questo dato indusse a ipotizzare che la misura del D-dimero, sebbene non molto utile per confermare la diagnosi di EP, era al contrario molto utile per la sua esclusione. Questa semplice osservazione, successivamente estesa con successo anche alla diagnosi di TVP (6), permise di formulare il nuovo concetto che vede l'aumento del D-dimero nel plasma come un indice affidabile di deposizione di fibrina, poco specifico per la trombosi, ma con alto valore predittivo negativo. Come dire che, sebbene livelli elevati di D-dimero non consentano di confermare la diagnosi di TEV, livelli non aumentati, consentono di escluderla con ragionevole certezza.

Livelli decisionali

In considerazione di quanto discusso precedentemente, per l'utilizzo del D-dimero bisogna considerare almeno due tipi di livello decisionale. Il primo è rappresentato dal limite superiore di riferimento, definito come il 95° percentile della distribuzione dei risultati ottenuti in un gruppo di soggetti sani. Tale livello decisionale è utilizzato per interpretare il D-dimero quando è impiegato nella diagnostica e monitoraggio della CID e condizioni cliniche affini. Il secondo livello decisionale viene stabilito mediante studi clinici eseguiti su pazienti con sospetto clinico di TEV, nei quali tale diagnosi è confermata o esclusa in maniera obbiettiva mediante diagnostica per immagini. I livelli di cut-off ottimali sono quelli che forniscono la migliore sensibilità diagnostica, ovvero un alto valore predittivo negativo, per il TEV. Solo questo secondo cut-off deve essere usato per escludere la diagnosi di TEV.

Molto spesso i due livelli decisionali differiscono significativamente anche usando lo stesso metodo.

Strategie diagnostiche

Come precedentemente ricordato, esistono molte condizioni cliniche nelle quali le concentrazioni plasmatiche di D-dimero sono elevate, per meccanismi non ancora interamente chiariti, anche in assenza di trombosi (chirurgia recente, tumori, gravidanza, ospedalizzazione, ecc.). I livelli elevati associati a tali condizioni sono da considerarsi come falsi positivi relativamente alla trombosi. Al contrario, esistono condizioni nelle quali le concentrazioni di D-dimero sono inferiori al cut-off, nonostante ci sia una trombosi in atto. Questi falsi negativi si spiegano in vari modi: scarsa sensibilità del metodo di misura, inaccuratezza nella determinazione del cut-off, ipofibrinolisi, sintomi di TEV riconducibili a 7-14 giorni prima della misura e trattamento antitrombotico in atto al momento della misura. Tutto questo causa una relativamente bassa specificità diagnostica del D-dimero per il TEV e, nel tentativo di migliorarla, sono state proposte nel corso degli anni numerose strategie diagnostiche (7). Una di queste prevede la determinazione del D-dimero come unico criterio diagnostico e la conseguente esclusione del TEV se il suo valore è inferiore al cut-off. Secondo questa strategia, solo i pazienti con valore di D-dimero superiori al cut-off sono sospetti per TEV e, quindi, da studiare con test per immagini. Questa strategia è potenzialmente pericolosa, perché alcuni pazienti con TEV potrebbero essere non diagnosticati e, quindi, sarebbero esclusi dal trattamento antitrombotico.

Un'altra possibile strategia si basa sulla determinazione del D-dimero dopo un test per immagini che abbia dato esito negativo per TEV. Questo approccio è diretto al "follow-up" del paziente con possibile trombosi distale (polpaccio) isolata, non facilmente diagnosticabile con test per immagini, ma con D-dimero superiore al cut-off, che potrebbe evolvere a trombosi prossimale nei giorni successivi all'osservazione. Sebbene questa strategia possa avere un suo razionale, richiede,

tuttavia, un elevato numero di test per immagini ed è, pertanto, scarsamente remunerativa dal punto di vista del rapporto costo/beneficio.

Una terza strategia si basa sulla determinazione del D-dimero in combinazione con la probabilità clinica pre-test di TEV. La probabilità clinica di TEV è definita da un punteggio che include la presenza di segni clinici, fattori di rischio e sintomi di TVP o EP e diagnosi alternative (Tabella 2). Punteggi relativamente alti indicano un'alta probabilità di TEV e viceversa. Questa strategia diagnostica è, al momento, la più usata per l'esclusione di TVP ed EP nei centri per la trombosi; la Figura 2 ne illustra il funzionamento.

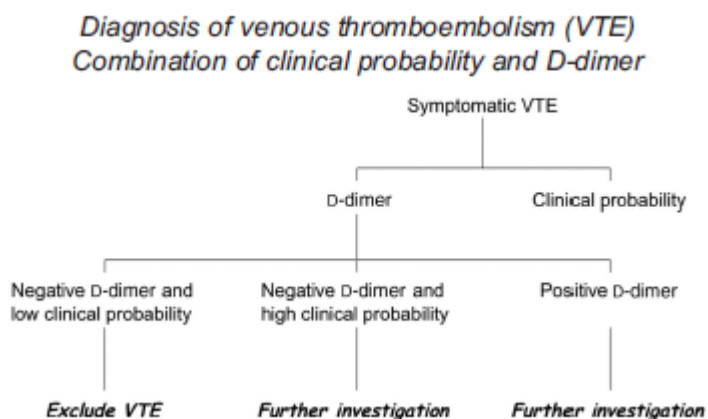


Figura 2. Algoritmo per la diagnosi di tromboembolismo venoso mediante l'uso del D-dimero combinato con il pre-test.

L'algoritmo diagnostico è applicato ai pazienti ambulatoriali, che presentino sintomi clinici di TVP, per i quali viene determinata la probabilità clinica e viene contestualmente misurato il D-dimero. Se il valore di D-dimero è inferiore al cut-off e la probabilità clinica pre-test è bassa, la TVP può essere esclusa con una affidabilità prossima al 100%. Se, al contrario, i livelli di D-dimero sono inferiori al cut-off, ma la probabilità clinica pre-test è alta, nessuna decisione può essere presa e il paziente deve necessariamente essere studiato con test per immagini. Infine, per valori di D-dimero superiori al cut-off sono necessari ulteriori accertamenti con test per immagini per confermare/escludere la TVP, indipendentemente dalla probabilità clinica pre-test. Un algoritmo simile, con probabilità clinica pre-test per EP (Tabella 2) può essere usato anche per questa condizione. La strategia diagnostica di cui sopra è stata valutata in studi prospettici, che ne hanno dimostrato un'efficacia molto alta per l'esclusione di TEV. In particolare, Van Belle et al. (8), studiando più di 3.000 pazienti con sospetto TEV, hanno dimostrato come la combinazione di una bassa probabilità clinica pre-test con livelli di D-dimero inferiori al cut-off del metodo consenta di escludere con elevata certezza la diagnosi di TEV, avendo solo uno 0,5% di incidenza di TEV nei successivi 3 mesi.

Le concentrazioni di D-dimero sono di solito aumentate nei pazienti neoplastici. Quindi, non è chiaro se in questi pazienti la misura del D-dimero sia efficace per la diagnosi di TEV. In generale, in questa condizione la sensibilità diagnostica è buona (9) e su questa base l'esame potrebbe essere usato per escludere il TEV.

Tuttavia, essendo la sua specificità assai ridotta, il suo uso potrebbe essere gravato da un numero elevato di test per immagini

Tabella 2.

Punteggio relativo alla probabilità clinica pre-test di TPV

Segni clinici o sintomi	Punteggio
Neoplasia	1
Paralisi, paresi, recente ingessatura arti inferiori	1
Allettamento recente > 3 gg o chirurgia maggiore nelle 4 settimane precedenti che ha richiesto anestesia generale o locale	1
Dolorabilità localizzata lungo la distribuzione del sistema venoso profondo	1
Gonfiore all'arto	1
Gonfiore del polpaccio	1
Edema improntabile	1
Circolo collaterale	1
Precedente TEV	1
Diagnosi alternative	-2
Probabilità clinica pre-test calcolata come punteggio totale: - punteggi <1, bassa; 1-2, moderata; >2, alta.	

Punteggio relativo alla probabilità clinica pre-test di EP

Segni clinici o sintomi	Punteggio
Segni clinici e sintomi di trombosi venosa profonda	3
EP probabile o più probabile rispetto a una diagnosi alternativa	3
Battito cardiaco > 100 bpm	1.5
Precedente immobilizzazione o chirurgia (entro quattro settimane)	1.5
Precedente trombosi venosa profonda o EP	1.5
Emottisi	1
Neoplasia	1
Probabilità clinica pre-test calcolata come punteggio totale: - punteggi: <2, bassa; 2-6, moderata; >6 alta.	

Messaggi principali

La misura del D-dimero non dovrebbe essere usata come solo presidio diagnostico per escludere o confermare la diagnosi di TEV. Al contrario, il D-dimero, quando misurato con metodi sensibili e in combinazione con la probabilità clinica pre-test, consente di escludere con elevata certezza la diagnosi di TEV in pazienti ambulatoriali sintomatici. Tuttavia, è bene ricordare come la misura del D-dimero possa dare origine a falsi negativi (concentrazioni inferiori al cut-off in presenza di TEV) nelle seguenti condizioni (Tabella 3): a) pazienti con sintomi di TEV che risalgono a più di 14 giorni prima; il D-dimero in questi casi potrebbe essere negativo perché i trombi più vecchi e già organizzati sono più resistenti all'azione digestiva della fibrinolisi endogena; b) pazienti con

ipofibrinolisi; c) pazienti con sospetta TEV, che hanno già ricevuto una terapia antitrombotica con eparine e/o anticoagulanti orali; questi farmaci, a ragione del loro effetto, possono ridurre significativamente la produzione di D-dimero. Infine, la misura del D-dimero, in combinazione con la probabilità clinica pre-test, dovrebbe essere usata con cautela nei soggetti anziani, in quelli ospedalizzati e nei pazienti con TEV recidivanti (Tabella 3). In tutte queste condizioni, sebbene il D-dimero possa essere usato per escludere la diagnosi di TEV, la sua bassa specificità si traduce inevitabilmente nella necessità di eseguire un maggior numero di test per immagini (10).

Tabella 3.

Limiti nell'uso del D-dimero per la diagnosi di tromboembolismo venoso (TEV)

Il D-dimero non può essere usato con sicurezza nelle seguenti situazioni:

- pazienti con sintomi di TEV risalenti a più di 14 giorni dal momento della misura
- pazienti con ipofibrinolisi
- pazienti con sospetto TEV, che abbiano già iniziato la terapia con eparina e/o anticoagulanti orali

Il D-dimero dovrebbe essere usato con cautela nelle seguenti situazioni:

- pazienti con TEV recidivante
- pazienti anziani
- pazienti ospedalizzati

Situazione nelle quali è indicato eseguire uno screening per trombofilia

• Età giovanile di comparsa dell'evento trombotico, arterioso o venoso (<45 anni)
• TEV idiopatica
• TEV dopo stimoli di entità trascurabile
• TEV ricorrenti
• Trombosi venose in sedi non usuali
• Storia familiare positiva per tromboembolie venose
• Associazione di trombosi con perdita fetale
• Necrosi cutanea indotta da anticoagulanti orali
• Porpora fulminante neonatale

Test consigliabili per uno screening di trombofilia

• Tempo di protrombina (come indice di funzionalità epatica)
• aPTT (Tempo di tromboplastina parziale attivata)
• Fibrinogeno
• Antitrombina III
• Proteina C
• Proteina S
• Resistenza alla proteina C attivata (se alterata ricerca della mutazione fattore V Leiden)
• Mutazione G20210A del gene della protrombina
• Ricerca del Lupus Anticoagulant (LAC)
• Anticorpi anticardioplipina (e anticorpi antibeta-2-glicoproteina I)
• Omocisteina basale (e dopo carico di metionina)

BIBLIOGRAFIA

1. Medved L, Nieuwenhuizen W. Molecular mechanisms of initiation of fibrinolysis by fibrin. *Thromb Haemost* 2003;89:409-19.
2. Gaffney PJ. Fibrin degradation products: a review of structures found *in vitro* and *in vivo*. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:594-610.
3. Lensing AW, Prandoni P, Brandjes D, et al. Detection of deep-vein thrombosis by real-time B-mode ultrasonography. *N Engl J Med* 1989;320:342-5.
4. Heijboer H, Büller HR, Lensing AW, et al. A comparison of real-time compression ultrasonography with impedance plethysmography for the diagnosis of deep-vein thrombosis in symptomatic outpatients. *N Engl J Med* 1993;329:1365-9.
5. Bounameaux H, Cirafici P, de Moerloose P, et al. Measurement of D-dimer in plasma as diagnostic aid in suspected pulmonary embolism. *Lancet* 1991;337:196-200.
6. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, et al. Evaluation of Ddimer in the diagnosis of suspected deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 2003;349:1227-35.
7. Wells PS. Integrated strategies for the diagnosis of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* 2007 (Suppl 1):41-50.
8. van Belle A, Büller HR, Huisman MV, et al. Effectiveness of managing suspected pulmonary embolism using an algorithm combining clinical probability, D-dimer testing, and computed tomography. *JAMA* 2006;295:172-9.
9. King V, Vaze AA, Moskowitz CS, et al. D-dimer assay to exclude pulmonary embolism in high-risk oncologic population: correlation with CT pulmonary angiography in an urgent care setting. *Radiology* 2008;247:854-61.
10. Armando Tripodi Il D-dimero nella pratica di laboratorio. *Biochimica Clinica*, 201, vol.36:196-203