

D-Dimero: revisione basata sulle evidenze e nuove applicazioni

G. Palareti, C. Legnani

U.O. di Angiologia e Malattie della Coagulazione "Marino Golinelli", Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna

Riassunto

I D-dimeri sono un prodotto finale della lisi della fibrina stabilizzata e rappresentano un marker di attivazione della coagulazione. Il dosaggio dei D-dimeri è un test che si è dimostrato di sicura utilità nelle procedure diagnostiche in soggetti con sospetto tromboembolismo venoso (TEV), grazie al suo alto valore predittivo negativo. L'utilità clinica del test in altre situazioni cliniche (ad es. Coagulazione Intravascolare Disseminata, malattie arteriose, gravidanza e sue complicanze, ecc.) è tuttora dibattuta. È stato recentemente dimostrato che i suoi livelli tendono ad aumentare in alcuni pazienti con un precedente TEV dopo che l'anticoagulazione sia stata sospesa. Alcuni studi prospettici hanno consensualmente dimostrato che la frequenza di recidive di TEV era più alta nei soggetti nei quali il livello di D-dimero era aumentato dopo la sospensione della terapia anticoagulante. Può essere sostenuto quindi che il dosaggio dei D-dimeri effettuato dopo la sospensione della terapia anticoagulante può essere impiegato come uno strumento per stratificare il rischio individuale di recidiva. Un recente studio collaborativo, prospettico, randomizzato (il PROLONG, N Engl J Med 2006; 355:1780), ha affrontato il problema se sia utile la misurazione dei D-dimeri per guidare la nostra decisione circa la durata dell'anticoagulazione dopo un primo episodio di TEV. I risultati di questo studio e di altri dati recenti confermano che il test del D-dimero, effettuato dopo la sospensione dell'anticoagulazione, è un utile strumento per regolare la durata dell'anticoagulazione in soggetti con un primo episodio di TEV idiopatico.

Summary

D-dimer: evidence based review and new applications

D-dimer, a product of lysis of stabilized fibrin-clot, is a marker of coagulation activation. The use of the test has been shown of great clinical utility in the diagnostic work-up of acute venous thromboembolism (VTE) due to its high negative predictive value. The clinical usefulness of the test in other clinical settings (such as disseminated intravascular coagulation, arterial diseases, pregnancy, etc) is still debated. It has recently been shown that its levels tend to increase in some patients with a previous VTE episode after anticoagulation is stopped. Several prospective studies have consensually demonstrated that the rate of subsequent VTE recurrence is higher in those patients in whom D-dimer levels increase after anticoagulation is stopped. It can be said, therefore, that the D-dimer levels measured after anticoagulation is stopped can be used as a tool to stratify the individual risk of recurrence. A recent study, the collaborative, prospective, randomized (the PROLONG study, N Engl J Med 2006; 355:1780), tackled the problem whether or not D-dimer levels may also be useful to drive our decision on duration of anticoagulation in individual patients. The results of that study and other available data confirm that D-dimer assay, carried out after anticoagulation withdrawal, is an useful tool to assess the risk of recurrence and to regulate the duration of anticoagulation in individual patients with a first idiopathic VTE event. *Key-words:* Fibrin fibrinogen degradation products, Pulmonary embolism, Venous thrombosis, Disseminated Intravascular Coagulation, Fibrin fragment D.

Introduzione

Il D-dimero rappresenta un prodotto terminale della degradazione della fibrina stabilizzata; ha un peso molecolare di circa 182.000 *daltons* e una emivita di 4-6 ore. I D-dimeri sono indicatori della formazione di fibrina in vivo e sua successiva degradazione. I determinanti della concentrazione plasmatica dei D-dimeri 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. Dato che la composizione e la concentrazione dei prodotti di degradazione della fibrina stabilizzata in vivo riflette lo stato della bilancia emostatica queste possono variare da un individuo all'altro, nello stesso individuo nel tempo e anche tra soggetti in funzione delle condizioni cliniche.

Il livello di D-dimero può essere aumentato in numerose condizioni fisiologiche e patologiche (Tab. I). Il livello di D-dimeri è spesso elevato nei soggetti anziani presumibilmente in rapporto alla minore mobilità e alla aterosclerosi¹⁻⁴. Nell'età neonatale i livelli di D-dimeri sono aumentati. In gravidanza l'aumento progressivo dei D-dimeri esprime uno stato di ipercoagulabilità fisiologica in tale condizione. Al terzo trimestre si possono osservare livelli fino a 5 volte aumentati rispetto ai valori pre-gestazionali⁵ 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 livelli⁶. 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 metaboliti dei farmaci⁷.

Il dosaggio dei D-dimeri

Recentemente si sono resi disponibili numerosi metodi per il dosaggio dei D-dimeri. Uno dei problemi principali di questo dosaggio è rappresentato dalla difficoltà della sua standardizzazione. Nonostante i numerosi tentativi, una standardizzazione di questo dosaggio non è stata ancora ottenuta e sembra ancora un obiettivo difficile da raggiungere dipendendo da diverse cause⁸. Ne consegue che la comparazione dei risultati ottenuti con metodi diversi è impossibile e che ogni risultato è del tutto "metodo-specifico". I D-dimeri possono essere misurati con test che si basano su diverse metodologie, i più frequentemente utilizzati sono quelli sotto riportati, di cui esiste una descrizione dettagliata dei metodi commerciali¹⁰.

D-dimeri e strategie diagnostiche per la tromboembolia venosa (TEV)

Sin dall'inizio degli anni '80 è stato dimostrato che il test per il dosaggio dei D-dimeri trova un'utile appli-

Tabella I. Principali condizioni associate ad aumento del livello dei D-dimeri.

Aneurismi
Sindrome da distress respiratorio acuto
Arteriopatia periferica
Artrite reumatoide
Cardiopatia ischemica
Coagulazione intravascolare disseminata
Crisi emolitiche nell'anemia falciforme
Emorragie
Età avanzata
Gravidanza fisiologica e patologica (incluso il puerperio)
Infezioni (in particolare sepsi da Gram negativi)
Interventi chirurgici
Epatopatie
Malattie infiammatorie intestinali in fase attiva
Malattie renali
Pazienti con disabilità funzionale
Periodo neonatale
Scompenso cardiaco congestizio
Stroke
Terapia trombolitica
Traumi
Tromboembolia venosa
Tumori
Ustioni estese

cazione clinica per escludere la presenza di una TEV¹¹. Il test presenta infatti una bassa specificità, ovvero è spesso alterato in soggetti nei quali la TEV non è presente, mentre ha una alta sensibilità ed un alto valore predittivo negativo, ovvero è molto bassa la probabilità che il test risulti normale in pazienti con TEV acuta. Il test è quindi utile per escludere la presenza di una TEV nel caso il suo valore sia al di sotto di un valore di cut-off che sia stato determinato in modo specifico, mentre valori anche fortemente elevati non consentono di ritenere più probabile la presenza di una TEV, semplicemente non consentono di escluderla e indicano la necessità di eseguire ulteriori accertamenti. E' evidente, quindi che una corretta scelta del cut-off, ovvero di quel valore che consente di stabilire se il test è normale o alterato, è di fondamentale importanza. Occorre non confondere il valore di cut-off per la esclusione della TEV con il range di normalità. Quest'ultimo ha un significato fisiopatologico, mentre il cut-off per TEV può avere un importante valore clinico. Mentre il range di normalità viene definito sulla base dei risultati ottenuti in una popolazione di soggetti apparentemente sani, il cut-off che viene utilizzato per la diagnosi di TEV viene invece calcolato partendo da una popolazione di pazienti che presentano i sintomi di TEV, nei quali la patologia trombotica venga poi confermata o esclusa attraverso l'impiego di metodi oggettivi. E' quindi una popolazione ben diversa da quella utilizzata per definire il range di normalità.

Occorre tener presente la possibilità di avere risultati falsamente negativi. Il primo motivo per avere falsi negativi risiede nell'impiego di metodi scarsamente sensibili e/o nell'erronea determinazione del valore di cut-off. L'insorgenza di TEV si accompagna all'aumento del D-dimero. È stata però 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 prima dell'osservazione¹², raggiungendo un livello fino ad un quarto del valore iniziale già dopo una o due settimane¹³. 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 iniziata¹⁴⁻¹⁶. L'accuratezza del test sarà quindi migliore se il soggetto viene esaminato dopo pochi giorni dall'inizio dei sintomi e quando ancora non è stato sottoposto a trattamenti anticoagulanti. Come già detto, i livelli di D-dimero sono significativamente più elevati in caso di TEV estesa (TVP prossimale), rispetto a trombosi limitate (TVP distali isolate o embolie polmonari subsegmentarie)¹².

Sensibilità e specificità dei metodi per il dosaggio dei D-dimeri in pazienti con sospetta TEV

È stata recentemente pubblicata una revisione sistematica degli studi sull'impiego dei D-dimeri per la diagnosi della TVP e dell'embolia polmonare (EP), che fornisce sia ai laboratoristi che ai clinici indicazioni pratiche circa questa problematica¹⁷. Partendo da un totale di 144 articoli originali relativi alla diagnosi/esclusione di TEV, 49 studi sono stati inclusi nella revisione, sulla base di criteri pre-specificati. Sia per quanto riguarda la TVP che l'EP, i metodi ELISA convenzionali e ELISA rapidi quantitativi si sono dimostrati superiori in termini di sensibilità a tutti gli altri metodi; al contrario, la specificità è risultata migliore per i metodi di agglutinazione (semiquantitativi e quantitativi) e per i metodi eseguiti su sangue in toto. Globalmente, i metodi di agglutinazione semiquantitativi e i metodi che impiegano sangue in toto hanno dimostrato i valori più bassi di sensibilità. La variabilità dei valori di sensibilità e specificità è risultata significativamente minore per i metodi ELISA (convenzionali e rapidi) sia per la TVP che per l'EP, probabilmente per effetto della migliore riproducibilità di questi metodi. Si può quindi concludere che i metodi ELISA convenzionali e i metodi ELISA rapidi quantitativi sono quelli che hanno mostrato i valori migliori e quindi sono quelli clinicamente più utili.

Significato del dosaggio del D-dimero in altre condizioni cliniche

D-dimero e CID

È noto che nella CID (Coagulazione Intravasale Dis-

seminata) 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 mediante metodi recenti ha una sensibilità per la CID intorno al 100%¹⁸. Va detto tuttavia che 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 cliniche

Come già detto, in gravidanza si registra fisiologicamente un aumento progressivo del D-dimero in quanto espressione dello stato di ipercoagulabilità tipico di tale condizione. È stato segnalato che incrementi eccessivi possono caratterizzare alcune patologie gravidiche come i ritardi di crescita, le gestosi ipertensive⁵ e la pre-eclampsia¹⁹. Tuttavia, l'impiego di tali risultati al fine di orientare la diagnosi o il trattamento di queste complicanze nei singoli soggetti è del tutto problematico e non codificato.

Le cose non sono diverse per altre condizioni (chirurgia, traumatologia, ostetricia, infezioni, tumori, malattie epatiche), in cui può coesistere un certo grado di coagulazione intravascolare con conseguente aumento del D-dimero. Tuttavia in tali situazioni la misurazione del D-dimero per lo più non ha un valore pratico specifico.

Recentemente uno studio italiano²⁰ ha segnalato la possibilità che il dosaggio del D-dimero effettuato precocemente dopo un ictus ischemico possa contribuire a differenziare il tipo di ictus in quanto quelli di natura cardioembolica sarebbero associati a valori di D-dimero più alti rispetto a quelli di natura aterotrombotica o lacunare.

D-dimero e patologia cardiovascolare

Diversi dati indicano l'esistenza di una associazione tra livelli di D-dimero e rischio di successive manifestazioni cliniche di malattie cardiovascolari²¹. Studi retrospettivi hanno dimostrato tale associazione in pazienti con pregresso infarto miocardico o ischemia miocardica acuta. 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. La comparsa di risultati di studi prospettici ha aumentato l'interesse per il D-dimero come marker di rischio cardiovascolare. È questo il caso del *Physicians' Health Study* (studio caso-controllo prospettico condotto su un campione molto consistente di medici americani)²² e del *Caerphilly Study*²³.

Il ruolo del D-dimero come marker di rischio vascolare non sembra semplicemente effetto della sua correlazione con i livelli di fibrinogeno e si ritiene che un aumentato turnover della fibrina possa giocare un ruolo nella progressione della malattia arteriosa e/o

nell'insorgere della trombosi ostruttiva²⁴. Aumentati livelli di D-dimero probabilmente riflettono un'aumentata attivazione della coagulazione.

D-dimeri e valutazione del rischio di recidiva di TEV

Il rischio di una recidiva di tromboembolia venosa persiste per parecchi anni dopo un primo episodio di TEV. Uno studio prospettico che ha seguito per oltre 8 anni una coorte di pazienti con un primo episodio di TEV è stata riportata un'incidenza cumulativa di recidiva tromboembolica del 17,5% dopo 2 anni, 24,6% dopo 5 anni e 30,3% dopo 8 anni²⁵. Sebbene il rischio di recidiva sia più alto nei primi 6-12 mesi dopo l'evento iniziale, esso tuttavia non scompare mai del tutto.

Nonostante negli anni recenti numerosi studi clinici abbiano esaminato gli effetti di diverse durate della terapia anticoagulante orale (TAO) dopo un primo episodio di TEV, la durata ottimale rimane tuttora incerta.

Dopo aver osservato che il livello dei D-dimeri plasmatici tendeva ad aumentare in alcuni pazienti con precedenti TEV dopo che la TAO veniva interrotta²⁶, abbiamo condotto uno studio prospettico volto a verificare se il livello di D-dimeri misurato dopo la sospensione della TAO poteva avere un valore predittivo del rischio di recidiva tromboembolica in pazienti che avevano sofferto di una prima TEV²⁷. Lo *hazard ratio* di recidiva di TEV durante il successivo *follow-up* è risultato significativamente più alto nei pazienti con D-dimeri alterati rispetto a quanti avevano un livello normale di D-dimeri (2,45; 95% IC 1,28-4,53; $p < 0,01$). In seguito abbiamo esaminato il valore predittivo per recidiva tromboembolica dei D-dimeri in particolare nei soggetti il cui primo evento era stato di natura idiopatica e nei soggetti che erano portatori oppure no di un'alterazione trombofilica congenita²⁸. In questo studio la presenza di D-dimeri alterati a 1 mese dalla sospensione della TAO era associata ad una più alta incidenza di recidiva (*hazard ratio*= 2,43; 95% IC: 1,18-4,61), ed era particolarmente più elevata nei soggetti portatori di trombofilia con D-dimeri alterati rispetto a quelli con analogo alterazione trombofilica, ma con D-dimeri normali (*hazard ratio*= 8,34; 95% CI: 2,72-17,43). Risultati simili sono poi stati riportati da altri autori^{29,30}.

È stato recentemente pubblicato il report dello studio collaborativo italiano, prospettico, randomizzato denominato PROLONG. Questo studio ha esaminato la possibilità di utilizzare il test di laboratorio per il dosaggio dei D-dimeri al fine di stratificare il rischio individuale di recidiva e, di conseguenza, di determinare la durata individuale della TAO³¹.

Durante lo studio, 608 pazienti con un primo e unico evento TEV (trombosi venosa profonda prossimale e/o embolia polmonare) di natura idiopatica, sono stati esaminati 1 mese dopo la sospensione della

TAO, che era stata effettuata per una durata variabile, ma non meno di 3 mesi e in media oltre 6 mesi. Il test dei D-dimeri è stato effettuato al momento di questo controllo. Trattandosi di uno studio policentrico è stato necessario impiegare lo stesso metodo di dosaggio nei vari centri. A questo scopo è stato impiegato un metodo qualitativo (*Clearview Simplify D-dimer assay*, *Instrumentation Laboratory*, Milano) il cui esito (normale o alterato) è letto visivamente e non richiede strumentazione di laboratorio. I pazienti con esito normale del dosaggio dei D-dimeri sono stati seguiti nel tempo senza alcun trattamento anticoagulante. I pazienti invece che avevano un risultato alterato sono stati randomizzati a riprendere la TAO o a mantenere la sospensione. Tutti i pazienti sono stati seguiti nel tempo, con un follow-up medio di 1,4 anni, e sono stati registrati gli eventi TEV ricorrenti e le emorragie maggiori.

Il test dei D-dimeri è risultato alterato in 223/608 (36,7%) dei pazienti. 18 eventi tromboembolici sono stati registrati nei 120 pazienti che sono stati randomizzati a interrompere definitivamente l'anticoagulazione (15,0%, 10,9% anni-paziente) e 3 eventi si sono verificati nei 103 pazienti randomizzati a riprendere l'anticoagulazione (2,9%, 2,0% anni-paziente), per un *hazard ratio* di 4,26 (95% IC, 1,23-14,6; $p = 0,02$). Una recidiva di TEV si è verificata in 24 su 385 pazienti che avevano livelli normali di D-dimeri (6,2%; 4,4% anni-paziente). L'*hazard ratio* dei pazienti con D-dimeri alterati rispetto a quelli con D-dimeri normali era 2,27 (95% IC, 1,15-4,46; $p = 0,02$).

In conclusione, lo studio PROLONG ha dimostrato che pazienti con una precedente TEV idiopatica che sono stati trattati per almeno tre mesi con TAO se presentano livelli alterati di D-dimeri misurati dopo un mese dalla sospensione della TAO stessa hanno un significativo più elevato rischio di recidiva rispetto a pazienti analoghi, ma con D-dimeri normali e traggono vantaggio da una ripresa e un prolungamento del trattamento anticoagulante. Viceversa, i pazienti con D-dimeri normali non sono esenti da un rischio di recidiva, ma l'incidenza di questa complicanza è paragonabile a quella di pazienti con TEV secondaria a fattori scatenanti transitori, per i quali è attualmente raccomandato un trattamento anticoagulante di 3-6 mesi.

Bibliografia

1. Kario K, Matsuo T, Kobayashi H. Which Factors Affect High D-Dimer Levels in the Elderly. *Thromb Res* 1991; 62:501-8.
2. 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.
3. Hager K, Platt D. Fibrin degeneration product concentrations (D-dimers) in the course of ageing. *Gerontology* 1995; 41:159-65.

4. 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 Gerontology* 2000; 55:M649-M57.
5. 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.
6. 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.
7. Kricka LJ. Interferences in immunoassay-still a threat. *Clin Chem* 2000; 46:1037-8.
8. Reber G, de Moerloose P. D-dimer assays for the exclusion of venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26:619-24.
9. Dempfle CE. D-dimer: Standardization versus harmonization. *Thromb Haemost* 2006; 95:399-400.
10. Legnani CP, Palareti G, Prisco D. Linee guida sull'impiego clinico del D-dimero. *Riv Med Lab - JLM* 2004; 5:225-39.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Speiser W, Mallek R, Koppensteiner R, Stumpflen 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.
15. 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.
16. Couturaud F, Kearon C, Bates SM, Ginsberg JS. Decrease in sensitivity of D-dimer for acute venous thromboembolism after starting anticoagulant therapy. *Blood Coagul Fibrinol* 2002; 13:241-6.
17. Stein PD, Hull RD, Patel KC, Olson RE, Ghali WA, Brant R, et al. D-dimer for the exclusion of acute venous thrombosis and pulmonary embolism - A systematic review. *Ann Intern Med* 2004; 140:589-602.
18. 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.
19. 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.
20. Ageno W, Finazzi S, Steidl L, Biotti MG, Mera V, d'Erl GM, et al. Plasma measurement of D-dimer levels for the early diagnosis of ischemic stroke subtypes. *Arch Intern Med* 2002; 162:2589-93.
21. Lowe GDO, Rumley A. Coagulation, fibrinolysis and cardiovascular disease. *Fibrinolysis & Proteolysis* 1999; 13:91-8.
22. 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.
23. Lowe GD, Yarnell JW, 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.
24. 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.
25. Prandoni P, Lensing AWA, Cogo A, Cuppini S, Villalta S, Carta M, et al. The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1996; 125:1-7.
26. Palareti G, Legnani C, Guazzaloca G, Frascaro M, Grauso F, De Rosa F, et al. Activation of blood coagulation after abrupt or stepwise withdrawal of oral anticoagulants-a prospective study. *Thromb Haemost* 1994; 72:222-6.
27. 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.
28. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Valdrè L, Lunghi B, Bernardi F, et al. 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.
29. Eichinger S, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Quehenberger P, Schneider B, et al. D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism. *JAMA* 2003; 290:1071-4.
30. Shrivastava S, Ridker PM, Glynn RJ, Goldhaber SZ, Moll S, Bounameaux H, et al. D-dimer, factor VIII coagulant activity, low-intensity warfarin and the risk of recurrent venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* 2006; 4:1208-14.
31. Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Tosetto A, Brusi C, Iorio A, et al. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med* 2006; 355:1780-9.