

**Uso do Dímero D na Exclusão Diagnóstica
de Trombose Venosa Profunda e de
Tromboembolismo Pulmonar**

1- Resumo

O desequilíbrio das funções normais da hemostasia sangüínea resulta clinicamente em trombose venosa profunda (TVP) e/ou tromboembolismo pulmonar (TEP), fenômenos que podem ter morbidade e mortalidade significantes se não forem diagnosticados e tratados rapidamente. Apesar da gravidade, seus sinais e sintomas, quando existem, são inespecíficos. Por isso, muitos pacientes com a suspeita clínica não têm a doença, o que leva os procedimentos diagnósticos, como a ultra-sonografia e a cintilografia de ventilação-perfusão pulmonar, a confirmarem poucos casos. Assim, torna-se de grande valor a possibilidade de realizar um teste laboratorial rápido, eficaz e de menor custo, como o teste do dímero-D (DD), que exclua com segurança a ocorrência de TVP e TEP e diminua a necessidade de exames complementares. O DD é um produto de degradação da fibrina. Baixas concentrações, obtidas em testes de alta sensibilidade e alto valor preditivo negativo (VPN), podem excluir TVP e TEP em pacientes com tais suspeitas clínicas, evitando-se a necessidade de exames de imagem. O presente estudo teve por objetivo avaliar a eficácia da determinação dos níveis plasmáticos de DD, por teste baseado em método de ELISA, na exclusão de TVP e TEP, e verificar os valores de corte adequados à população atendida no hospital do nosso serviço. Os resultados aqui obtidos foram semelhantes aos da literatura.

2- Introdução

Trombose é a repercussão do desequilíbrio patológico da hemostasia. Normalmente o sangue circula nos vasos sem que haja formação de coágulos e, ao mesmo tempo, há prontamente formação de coágulos (trombos) em resposta a uma lesão vascular, sendo este um processo localizado e efetivo [1]. As manifestações

clínicas das alterações na hemostasia são a trombose venosa profunda (TVP) e o tromboembolismo pulmonar (TEP) [1, 2]. Tanto a TVP quanto a TEP são acontecimentos que, se não forem diagnosticados e tratados rapidamente, podem ter morbidade e mortalidade significantes [3, 4], chegando a 6% de mortalidade [2]. Como a maioria dos êmbolos pulmonares são originados de trombos em veias profundas dos membros inferiores [5, 6], o diagnóstico e a conduta nos casos de TVP têm extrema importância na tentativa de se evitar uma TEP fatal [7].

Apesar da gravidade dos fenômenos tromboembólicos, suas manifestações e sinais clínicos são inespecíficos ou pouco evidentes [2, 8], sendo que 50% dos pacientes chegam a não apresentar nenhum sintoma [2]. No caso de êmbolos pulmonares, a maioria é clinicamente silenciosa [5], o que resulta em diagnósticos tardios e, portanto, em altos índices de morbidade e mortalidade, já que a maioria das mortes por TEP ocorre após 2 horas [1]. Porém, como os sintomas são inespecíficos, 75% dos pacientes ambulatoriais com sinais e sintomas de TVP não têm a doença [9-11] e assim pacientes com suspeita de TVP acabam sendo submetidos a procedimentos invasivos e não-invasivos que só confirmam o diagnóstico em cerca de 20 a 30% dos casos [8].

Quando estão presentes, as manifestações clínicas de TVP incluem: dor, edema, palidez, cianose e distensão venosa superficial no membro afetado. Em casos de TEP pode-se encontrar dispnéia, dor torácica, estertores, tosse, hemoptise, taquicardia [5, 12].

Como a avaliação clínica isolada tem baixos valores preditivos negativo (VPN) e positivo (VPP) [7], ela se mostra insuficiente para o diagnóstico de TVP [4, 7], assim como para o de TEP, com baixas sensibilidade e especificidade [5]. Assim, torna-se

necessário o uso de exames complementares para se estabelecer o diagnóstico preciso e precoce de fenômenos trombóticos, principalmente TVP com evolução para TEP, buscando-se reduzir os riscos de mortalidade e morbidade e poupando gastos com hospitalização e tratamento de pacientes sem o problema [9].

A ultra-sonografia (US) compressiva é aceita como o melhor teste não-invasivo para o diagnóstico de TVP em pacientes sintomáticos [4], sendo que o uso do Doppler também tem adquirido importância [4]. Porém a US tem baixa sensibilidade para TVP distal [3, 7, 9], é examinador dependente [3] e não se pode excluir o diagnóstico quando a primeira avaliação é negativa [3, 4], devendo-se repetir o procedimento em 7 a 14 dias, estratégia efetiva porém de elevado custo [4].

No caso do TEP, a cintilografia de ventilação-perfusão pulmonar com razão ventilação/perfusão alterada pode sugerir alta probabilidade do diagnóstico e pode potencialmente excluir TEP se o exame for normal. Porém, mais da metade dos pacientes com suspeita clínica não apresentam alterações confirmatórias na cintilografia, sendo que um quarto desses verdadeiramente apresentam TEP [5].

Assim, um exame laboratorial rápido, como a dosagem de dímero-D (DD), que não implique em prejuízos para o paciente e que não seja examinador dependente, podendo ser interpretado objetivamente por qualquer médico em casos de urgência, se torna de grande importância [8].

O DD é um produto de degradação da fibrina [3, 4, 11]; ele tem potencial para permitir a detecção de trombose em qualquer parte do sistema venoso [3] e, portanto, sua concentração sempre se encontra aumentada no plasma de indivíduos em processo tromboembólicos [13], sendo que, na ausência de aumento significativo, pode-se excluir tal diagnóstico. Assim, com um teste de DD de alta sensibilidade e valor

preditivo negativo elevado, pode-se excluir TVP e TEP, diminuindo-se assim a necessidade de exames de imagem para muitos pacientes com suspeita da doença [3].

Inicialmente pensou-se poder confirmar o diagnóstico de TVP com o teste do DD [7], porém, ele apresenta baixo valor preditivo positivo (VPP) e baixa especificidade [4, 13, 14], já que suas concentrações podem estar aumentadas em circunstâncias fisiologicamente normais, como gravidez [7, 11] e em idosos, ou podem apresentar variações patológicas não relacionadas a fenômenos tromboembólicos. Assim, a concentração pode ser alta em pacientes com câncer, trauma e cirurgias recentes [3, 7, 11, 15], decúbito prolongado, lesões teciduais (fraturas, queimaduras), CIVD, próteses valvares, miocardiopatias, estados hiperestrogênicos, tabagismo. Além disso, os níveis de DD podem variar com a duração dos sintomas de TVP ou TEP, uso de anticoagulantes e idade do paciente [3]. Em pacientes internados, a sensibilidade e o VPP do teste do dímero-D são menores do que em pacientes ambulatoriais [13, 14], por geralmente apresentarem mais co-morbidades que resultam em testes falso-positivos [3, 13, 14]. Ainda assim, para pacientes com concentração de DD aumentada, apesar de o teste não diagnosticar trombose, o uso de anticoagulantes pode ser útil enquanto se espera a confirmação de trombose por exames de imagem [7].

Quanto à utilidade do teste na exclusão de fenômenos tromboembólicos, o DD tem sido usado com segurança para excluir a ocorrência de TVP [7, 10]; a introdução desse exame na investigação de fenômenos tromboembólicos acrescenta custos laboratoriais, que podem ser compensados pela redução no uso de exames de imagem [4].

Para ser útil na tomada de decisões clínicas, o teste do dímero-D deve ser rápido, acurado, e ter um intervalo confiável de resultados utilizados no diagnóstico [3].

Atualmente, existem diversos testes para identificar e quantificar o DD em amostras de plasma, com vantagens e desvantagens específicas. Eles variam em seus pontos de corte, VPN e especificidade, devido tanto à variabilidade das medidas, quanto à heterogeneidade clínica, prevalência dos fenômenos tromboembólicos nas populações estudadas e escolha do exame de referência [3]. Assim, não se pode afirmar que resultados obtidos com o teste de um fabricante serão iguais ao de outro fabricante e nem que os obtidos em uma população serão similares aos de outra população [13]; cada laboratório deve estabelecer seu ponto de corte para cada teste utilizado e para cada população estudada [11]. Quando comparados, os testes com melhor sensibilidade e melhor VPN são os que utilizam o método de ELISA [13, 16]. Porém, o teste de ELISA convencional, apesar de sua alta acurácia, não é prático, por demorar de 2 a 4 horas para ser executado [13, 17]. Um aprimoramento tem sido feito por alguns fabricantes, que torna o teste, além de bastante sensível, muito mais rápido e de simples execução[10], possibilitando sua utilização em esquema emergencial [4].

Objetivo - O presente estudo teve por objetivo avaliar a eficácia da determinação dos níveis plasmáticos de DD, por teste baseado em método de ELISA, na exclusão de TVP e TEP, e verificar os valores de corte adequados à população atendida no hospital do nosso serviço.

3- Materiais e Métodos

Amostras de plasma que chegaram ao Laboratório de Coagulação da Divisão de Patologia Clínica do nosso serviço para testes de coagulação mediante a suspeita clínica de TVP ou TEP foram armazenadas, bem como amostras de pacientes com diagnóstico

de câncer, com e sem suspeita de TVP/TEP. O sangue foi coletado em tubos com citrato de sódio 3,2% (para coagulograma) e centrifugado a 2000 rpm, por 10 minutos, para separação e congelamento (a -80°C) do plasma. O descongelamento das amostras só ocorreu no momento exato da quantificação dos dímeros. Os pacientes eram adultos (idade superior a 18 anos), de ambos os sexos, sem distinção de origem étnica.

Para as dosagens, foi utilizado o Kit “VIDAS D-Dimer New”, da BioMérieux (França), que determina a concentração de DD pelo método ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*), baseado na técnica ELISA, com detecção final por fluorescência. O Kit contém todos os reagentes necessários, inclusive dois anticorpos que atuam em dois tempos: o primeiro de alta afinidade pelo DD e outro marcado com fosfatase alcalina, sendo a fluorescência resultante proporcional à quantidade de dímero presente na amostra de plasma. A quantificação é obtida através de uma curva de calibração validada para o equipamento e para as condições empregadas, e é expressa em ng/mL. O aparelho utilizado foi o Mini-VIDAS (VITEK Systems, BioMerieux, França).

Os prontuários médicos dos pacientes cujas amostras estavam armazenadas foram checados nos Serviço de Arquivos Médicos do hospital. Buscou-se a confirmação, até três meses da data de entrada das amostras, ou a exclusão da suspeita diagnóstica, através dos laudos dos exames de imagem (US Doppler, cintilografia pulmonar de ventilação/perfusão, tomografia computadorizada de tórax). Foram excluídos os pacientes com diagnóstico de câncer para uma primeira análise, pois julgamos que tal comorbidade poderia interferir nos resultados. Para uma análise global da especificidade do teste, os resultados obtidos em um trabalho realizado paralelamente a este, cuja casuística tratava-se de pacientes com diagnóstico confirmado de câncer, foram somados aos resultados deste trabalho. Através dos dados

coletados, os pacientes deste presente trabalho foram divididos em 2 grupos: pacientes sem câncer sem diagnóstico de TVP/TEP (grupo 2); pacientes sem câncer com diagnóstico confirmado de TVP/TEP (grupo 3). O grupo 1 representa os controles normais, sendo constituído de voluntários saudáveis, sem fatores de risco para TVP/TEP.

A análise estatística utilizou tabelas de frequência das variáveis categóricas (grupos, DD categorizado), com os valores de frequência absoluta (n) e percentual (%), e estatísticas descritivas da variável contínua (dímero-D), com valores de média, desvio padrão, valores mínimo e máximo, mediana e quartis. Para comparar os valores do DD categorizado entre os grupos, foi empregado o teste de Qui-Quadrado, e para comparar os valores numéricos do DD entre os grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste post-hoc de Dunn para comparações múltiplas, devido à ausência de distribuição Normal dos valores obtidos. O nível de significância adotado para os testes foi de 5%, ou seja, $p < 0.05$. Para a obtenção de pontos de corte para os valores do dímero-D que discriminem os controles (padrão-ouro) dos grupos de pacientes, foi utilizada a Análise da Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic Curve*). Foram também feitas as curvas ROC comparando-se o grupo 2 com o grupo 3; o grupo 1 com o grupo 3 e comparando os grupos após inclusão dos pacientes com câncer.

4- Resultados

A Tabela 1 descreve os resultados obtidos nas dosagens de DD. O grupo 1 é constituído pelos voluntários e representa o grupo controle; o grupo 2 reúne os pacientes sem câncer sem diagnóstico de TVP/TEP; e do grupo 3 participam os pacientes sem câncer com diagnóstico confirmado de TVP/TEP.

Tabela 1: valor do DD para cada paciente estudado

HC	Grupo	Dosagem dímero D ng/mL
44	1	231,08
8	1	58,22
34	1	140,1
35	1	92,23
36	1	210,11
37	1	95,64
38	1	87,66
39	1	196,66
4	1	175,5
40	1	159,65
41	1	152,72
32	1	168,12
43	1	279,22
31	1	77,54
45	1	301,66
46	1	126,62
1	1	203,13
48	1	116,57
5	1	192,76
50	1	201,1
51	1	172,66
52	1	317,02
6	1	205,98
7	1	588,83
42	1	161,93
21	1	229,6
10	1	412,22
11	1	138,75
12	1	343,07
13	1	438,28
14	1	285,94
15	1	505,71
16	1	252,23
17	1	397,81
18	1	177,34
19	1	195,88
33	1	182,06
20	1	372,83
49	1	221,4
22	1	158,85
23	1	196,92
24	1	83,92
25	1	76,95

HC	Grupo	Dosagem dímero D ng/mL
26	1	68,72
27	1	176,55
28	1	130,61
29	1	67,23
3	1	266,62
30	1	386,07
2	1	305,41
47	1	209,41
9	1	140,64
658144-2	2	367,70
515736-9	2	309,07
895867-5	2	2890,28
527947-2	2	4221,27
545728-6	2	4019,81
153750-7	2	3788,82
586947-3	2	808,98
594991-8	2	367,39
895377-0	2	8747,30
297838-4	2	999,24
621148-5	2	817,98
647351-2	2	866,81
678770-3	2	621,57
683889-3	2	218,52
695341-3	2	327,25
904706-5	2	1080,15
901578-5	2	2411,55
731585-4	2	160,84
736929-9	2	3533,17
747831-1	2	3099,72
748063-3	2	426,35
640051-5	2	1395,12
368145-7	2	208,27
450675-7	2	305,18
902146-5	2	7864,14
687154-4	2	7289,54
905550-1	2	6747,59
905758-5	2	2053,39
419962-9	2	2596,9
909152-3	2	164,99
891036-0	2	2136,04
409566-3	2	281,02
909856-1	2	2492,29
909988-0	2	653,09
898639-7	2	1920,35

HC	Grupo	Dosagem dímero D ng/mL
911655-7	2	178,58
916002-9	2	432,17
912755-0	2	5261,51
948539-0	2	351,6
913158-3	2	3203,73
349616-7	2	673,01
342679-0	2	4176,31
823191-4	2	241
915781-0	2	810,45
006158-5	2	2211,4
313715-3	2	2507,25
915950-3	2	1693,63
704995-0	2	5825,40
910148-7	2	1377,76
873877-0	2	236,31
272202-1	2	350,28
916794-4	2	2087,03
918887-1	2	1509,25
842992-5	2	1051,43
843390-8	2	376,12
770166-9	2	432,77
851823-9	2	133,03
862431-7	2	962,66
862431-7	2	1092,08
238812-9	2	2900,21
234348-0	2	3093,81
837150-6	2	1084,27
871521-9	2	877,48
24944-4	2	3544,08
875963-5	2	2565,31
878196-9	2	2445,48
880265-8	2	1622,22
214843-4	2	631,47
883134-4	2	2741,12
883144-9	2	485,75
885170-2	2	4571,62
887626-5	2	20085,06
890467-6	2	3498,69
890610-5	2	2574,63
891034-2	2	567,10
865606-5	2	4375,31
808054-9	2	182,48
821518-2	2	1402,94
825819-2	2	2514,32

HC	Grupo	Dosagem dímero D ng/mL
826827-6	2	4444,01
891772-6	2	7005,64
793595-1	2	2202,96
285709-5	2	1754,21
786804-3	2	1553,56
827503-9	2	4446,86
916723-5	2	208,71
277717-8	2	4424,51
829258-0	2	6580,84
275283-3	2	937,61
772442-5	2	297,17
771418-7	2	2312,29
832810-3	2	2361,07
909152-3	3	5154,02
388291-8	3	4439,34
396117-0	3	8752,55
928306-5	3	6981,44
177091-3	3	2717,77
4113435-5	3	2507,68
690474-1	3	365,75
422149-8	3	2871,17
936534-7	3	4559,35
905698-9	3	2181,25
929332-1	3	5497,79
920479-2	3	6726,51
944486-9	3	4641,10
540030-2	3	2569,97
618966-6	3	1967,36
297838-4	3	1658,11
942326-9	3	5521,14
334789-7	3	4033,97
552657-8	3	724,12
915851-1	3	2064,12
924915-4	3	4644,13
915851-1	3	2092,18
915433-5	3	7610,03
342679-0	3	7026,42
942120-3	3	5138,97
916778-0	3	2655,07
919390-5	3	1380,62
923107-2	3	5097,81
305275-9	3	2945,49
704065-1	3	1399,89
562464-7	3	2541,11

HC	Grupo	Dosagem dímero D ng/mL
809734-8	3	4864,66
809571-4	3	3910,18
787953-7	3	2190,39
784647-9	3	3053,39
830000-6	3	7945,27
730234-0	3	953,46
836709-6	3	2337,44
680497-5	3	1545,69
661508-1	3	2058,07
618966-6	3	9476,56
615928-3	3	7862,00
588876-2	3	1895,00
030600-4	3	736,00
778915-4	3	4515,33
862926-2	3	4675,01
889789-7	3	1703,28
881895-6	3	6469,27
880534-7	3	2400,07
877503-9	3	2079,86
827535-2	3	2742,22
864229-6	3	4485,34
534829-1	3	5595,27
855126-7	3	2284,47
849313-2	3	3475,59
849025-7	3	2177,58
841652-0	3	5022,00
839980-3	3	9461,66
838013-9	3	2633,51
875963-9	3	3529,69
516103-3	3	1432,88
895867-5	3	3378,22
162618-4	3	7685,32
900252-6	3	5747,72
543529-4	3	5075,98
110383-7	3	2505,51
053387-7	3	6387,50
191175-9	3	2469,71
447275-4	3	4886,37
946979-0	3	>10000
905221-2	3	4810,33
911851-3	3	2168,41

Legenda: HC - número do registro dos pacientes; grupo 1 - controle; grupo 2 - pacientes com suspeita não confirmada de TVP/TEP; grupo 3 - pacientes com diagnóstico confirmado de TVP/TEP.

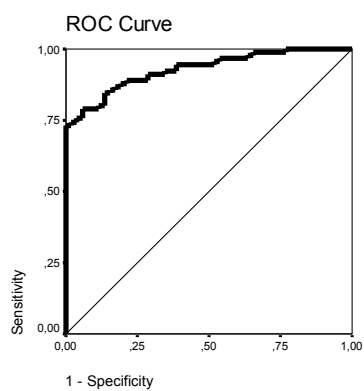
A Tabela 2, a seguir, apresenta as análises descritivas e comparativas dos valores do DD (categorizado e numérico) entre os grupos. Pelos resultados, verifica-se diferença significativa entre todos os grupos comparados.

-D entre os grupos □

DIMERO D X Grupo									
Frequência,									
	,1	,2	,3	Total					
<=500	50	23	1	74					
(ng/mL)	96.15	25.56	1.39						
>500	2	67	71	140					
	3.85	74.44	98.61						
Total	52	90	72						
TESTE QUI-QUADRADO: X2=153.87; GL=4; P<0.001									
DÍMERO-D									
GRUPO	N	MÉDIA	D.P.	MÍN	Q1	MEDIANA	Q3	MÁX	P-VALOR*
1	52	214.11	116.42	58.22	139.43	194.32	272.92	588.83	P<0.001
2	90	2358.9	2745.2	133.03	485.75	1657.9	3099.7	20085	
3	72	3987.4	2317.4	365.75	2179.4	3426.9	5146.5	10001	

* p-valor referente ao teste de Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos. Diferenças significativas (teste post-hoc de Dunn; P<0.05): 'Gr1'≠'Gr2'; 'Gr1'≠'Gr3'; 'Gr2'≠'Gr3'.

As Figuras de 1 a 3 mostram as curvas ROC traçadas quando comparados os grupos 1 e 2 (Figura 1), 2 e 3 (Figura 2) e 1 e 3 (Figura 3).



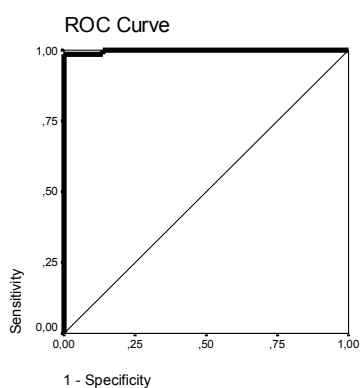
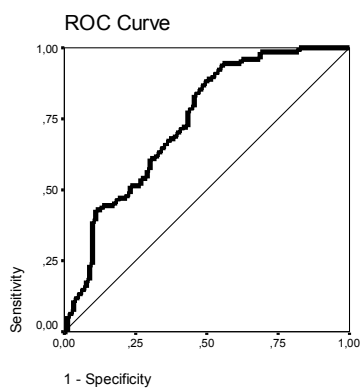


Figura 3: Curva RO grupo 1 vs 3

A tabela 3 mostra a análise das curvas ROC apresentadas e os valores de corte do DD em cada comparação.

-D

Medidas	Grupo 1 vs Grupo 2*	Grupo 1 vs Grupo 3*	Grupo 2 vs Grupo 3*
Área sob a Curva (IC95%)	0.929 (0.889; 0.968)	0.998 (0.994; 1.002)	0.738 (0.663; 0.813)
Valor-P	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Sensibilidade (%)	73.33	98.61	88.89
Especificidade (%)	100.00	100.00	50.00
Acurácia (%)	83.10	99.19	67.28
Valor Preditivo Positivo (%)	100.00	100.00	58.72
Valor Preditivo Negativo (%)	68.42	98.11	84.91
Ponto de Corte	D>605.20	D>656.48	D>1640.17

Quando somados os dados dos pacientes com câncer, temos a tabela descritiva a seguir (tabela 4). Os grupos comparados foram: o primeiro, formado por todos os pacientes em que foram excluídas as hipóteses de TVP ou TEP, sendo eles com ou sem câncer, além dos controles, e o segundo, composto por todos os pacientes que tiveram tais hipóteses diagnósticas confirmadas (com e sem câncer).

-D entre TVP

DIMERO D x grupos TVP/TEP sim e não			
Frequência,			
	, NÃO	, SIM	, Total
<=500	78	2	80
	41.49	2.25	
>500	110	87	197
	58.51	97.75	
Total	188	89	277

TESTE QUI-QUADRADO: $X^2=45.29$; $GL=1$; $P<0.001$

A curva ROC obtida com a comparação desses dois grupos é a seguinte (figura

4):

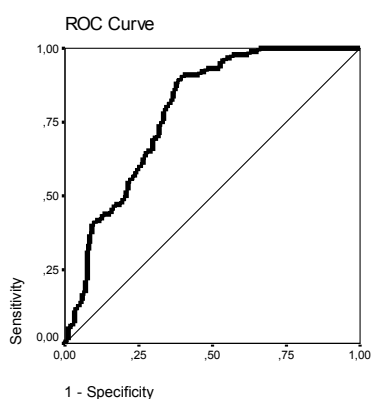


Figura 4: Curva RO