



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PALERMO

**Dottorato di Ricerca in Biopatologia
XXIII ciclo**

***PROGNOSTIC VALUE OF D-DIMER PLASMA LEVELS
IN PATIENTS WITH ADVANCED SOLID TUMORS***

Dr.ssa Cristina Raimondi

**COORDINATORE
Prof. Calogero Caruso**

**TUTOR
Prof. G. Di Vita**

Anni Accademici 2008-2011



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PALERMO

**Dottorato di Ricerca in Biopatologia
XXIII ciclo**

***PROGNOSTIC VALUE OF D-DIMER PLASMA LEVELS
IN PATIENTS WITH ADVANCED SOLID TUMORS***

Dr.ssa Cristina Raimondi

**COORDINATORE
Prof. Calogero Caruso**

**TUTOR
Prof. G. Di Vita**

Anni Accademici 2008-2011

INDICE

Introduzione	pag .3
Scopi dello studio	pag .16
Pazienti e metodi	pag .17
Risultati	pag .20
Discussione	pag .24
Bibliografia	pag. 33
Tabelle e Grafici	pag .45

Introduzione

Al momento della diagnosi di tumore maligno sono presenti fin dall'inizio caratteristiche cliniche e biologiche correlabili sia al paziente che alla neoplasia in sè e alla sua potenziale storia naturale. La conoscenza di tali caratteristiche, o fattori prognostici (FP), porta a stratificare i pazienti in vari gruppi di rischio così da guidare, da un lato, le scelte terapeutiche e dall'altro, fornire al clinico la possibilità di prevedere con buona approssimazione l'esito del trattamento pianificato. Tra i FP legati al paziente l'età, il sesso, lo stato di validità o "performance status" (valutato mediante la scala ECOG o la scala di Karnofsky) sono quelli più comunemente presi in considerazione.

Tra i FP legati alla neoplasia, i principali sono rappresentati da: istotipo (varietà morfologica, grado di differenziazione), stadio, sede e localizzazione, sintomi e segni associati, adeguatezza del trattamento (estensione, dosi, intensità, interdisciplinarietà),

remissione tumorale completa (dopo terapia chirurgica, radiologica e medica), intervallo libero dalla remissione alla prima ricaduta [1].

Valutati nel loro insieme tutti i FP si possono distinguere in: 1) fattori prognostici identificabili fin dalla prima osservazione del paziente come l'età, il sesso, l'anamnesi, lo stadio clinico e le condizioni cliniche generali; 2) fattori valutabili con procedimenti diagnostici di tipo chirurgico come lo stadio patologico, l'invasione vascolare e linfatica; 3) fattori verificabili nel corso o al termine del trattamento quale le modificazioni cliniche. Il valore prognostico di questi fattori può variare nel decorso della malattia in caso di recidive locali o a distanza.

Da queste premesse è facile intuire che i FP rivestono una grande importanza al momento di prendere una decisione terapeutica e ancora di più quando la situazione clinica è severa o quando la decisione può influenzare anche la guarigione del paziente, come ad esempio nel caso del carcinoma mammario in

fase adiuvante. Ecco quindi che una parte della ricerca clinica è rivolta all'identificazione o di nuovi FP o alla validazione di altri già noti o ancora non del tutto validati. In questo ultimo campo la valutazione del potenziale ruolo prognostico dei livelli sierici del D-dimero in pazienti con tumore solido può rappresentare un interessante obiettivo di ricerca.

Già nel lontano 1865 Trousseau [2] descriveva come in una frazione significativa di pazienti la comparsa della neoplasia, fosse associata ad un aumento dell'incidenza di tromboflebiti. Successivamente, altri AA hanno indagato la relazione esistente tra il decorso della neoplasia e i disordini della coagulazione [3-11]. Approssimativamente il 90% dei pazienti neoplastici con malattia metastatica e circa la metà di tutti i pazienti oncologici presenta uno o più parametri della coagulazione alterati. Le anomalie di laboratorio includono alterazioni del Tempo di Protrombina (PT), del Tempo di Tromboplastina Parziale (PTT), incremento o riduzione dei livelli dei Fattori II, V, VIII, IX, XI, XII, Fibrinogeno, Prodotti di degradazione della

Fibrina, Trombina-Antitrombina III e trombocitosi [36].

Uno stato trombofilico è spesso associato con la presenza di un tumore di grosse dimensioni, con una progressione clinica, con basse percentuali di risposta alla chemioterapia e con una scarsa prognosi.

Questo stato potrebbe avere, inoltre, un ruolo chiave nella regolazione della crescita tumorale e nella disseminazione delle cellule neoplastiche [12,43]. Per oltre 20 anni diversi autori hanno documentato l'importanza del sistema fibrinolitico nell'angiogenesi e nella metastatizzazione tumorale. Il significato biologico di queste anomalie della coagulazione nei tumori non è ancora chiaro.

Ci sono alcune evidenze che suggeriscono che la capacità delle cellule neoplastiche di attivare il sistema della coagulazione e di incrementare l'espressione della attività fibrinolitica facilita la loro crescita e contribuisce alla invasione metastatica attraverso la loro capacità di degradare le componenti proteiche della matrice extracellulare, attivare enzimi latenti come il collagene

IV e dissolvere i coaguli di fibrina [16].

Si è, inoltre, osservato che benefici in termini di sopravvivenza sono stati raggiunti in pazienti con alcuni tipi di tumori quando una terapia anticoagulante è stata utilizzata in combinazione con la chemioterapia [13-15].

E' oggi ampiamente accettato che i pazienti neoplastici possono presentare uno o più markers della coagulazione alterati che esprimono uno stato di ipercoagulabilità [9].

E' noto per esempio che l'attivazione della coagulazione e del processo di fibrinolisi (fig.1) è frequentemente associata alla presenza di tumore in stadio avanzato [17] e che le cellule tumorali stesse sono in grado di attivare il processo coagulativo attraverso l'espressione di molecole procoagulanti, quali il fattore tissutale (TF) e il fattore procoagulante (PF) (fig.2).

Questi fattori, interagendo col proprio sito di legame, determinano l'immissione in circolo del "Tumor necrosis factor-alfa" (TNF- α) e dell'Interleuchina 1-beta [18,19]. Come fisiologicamente accade, vengono attivati i meccanismi

antitrombotici, mediati dall'inibitore della via tissutale (TFPI), dall'antitrombina III (ATIII), dal sistema proteina C- proteina S-trombomodulina (fig. 3). Da vari studi condotti su pazienti con neoplasia avanzata, risulta che i livelli in circolo di TFPI e dell'ATIII variano rispettivamente tra il 61%-368% e il 20%-109% rispetto al normale. Alla formazione del coagulo segue l'attivazione del processo fibrinolitico, mediante il rilascio dell'attivatore tissutale del plasminogeno (tPA). Il tPA converte il plasminogeno in plasmina, che a sua volta degrada la fibrina [20,21].

Il D-dimero (DD) è contenuto nei derivati solubili (XDP) che si formano in seguito alla degradazione della fibrina stabilizzata dal Fattore XIIIa, da parte della plasmina [22]. La plasmina, una serino-proteasi, in assenza di inibitori, digerisce la fibrina insolubile, producendo diversi derivati solubili il cui peso molecolare dipende dall'estensione del processo di degradazione (fig. 4). Questi prodotti solubili contengono un neoantigene (dominio DD) che non è presente nella molecola

originale di fibrinogeno, nei suoi prodotti di degradazione o nella fibrina solubile [23,24] (figg. 4-5).

Elevati livelli di DD sono stati evidenziati in pazienti con coagulazione intravascolare disseminata, nelle crisi vaso-occlusive da malattia a cellule falciformi, negli eventi tromboembolici, nell' infarto del miocardio.

I livelli plasmatici di D-dimero sono stati, inoltre, direttamente correlati con altri markers tumorali come il Ca125 [27,40-41] e l'antigene carcinoembrionario (CEA) [28,43].

La letteratura descrive una forte correlazione tra tumore, angiogenesi e attivazione dell'emostasi. L'associazione tra prodotti di degradazione della fibrina nei pazienti con carcinoma mammario avanzato indica che il livello di D-Dimero è un marker clinicamente importante per la progressione e punta verso una relazione tra emostasi e progressione tumorale [31-32].

I livelli di DD risultano inoltre elevati in pazienti affetti da tumori solidi come nel tumore del polmone, della prostata, della

cervice e del colon-retto [25-28].

Antoniou D. et coll., su 47 pazienti affetti da carcinoma del polmone in fase avanzata, hanno analizzato la correlazione esistente tra livelli sierici del DD e risposta al trattamento chemioterapico. In 14 su 19 pazienti (73.7%) che hanno ottenuto una risposta obiettiva di cui 2(4.3%) in remissione completa e 17(36,2%) in remissione parziale dopo chemioterapia, si registrava la riduzione dei livelli sierici del DD; in 11 su 16 pazienti (68.8%), andati incontro a progressione di malattia, i livelli sierici del DD erano aumentati rispetto al valore basale ($P < 0.004$); anche nei pazienti con recidiva di malattia (12/13, 92.3%) il D-dimero era incrementato. Non è stata invece dimostrata una correlazione statisticamente significativa tra i livelli sierici del DD e la sopravvivenza. I livelli plasmatici di D-dimero diminuiscono ed aumentano, rispettivamente dopo risposta e progressione di malattia e possono agire come fattore predittivo di evoluzione di malattia [33].

Kockar C. e coll. hanno valutato i livelli di DD in 69 individui, di cui 30 (43.5%) affetti da carcinoma del colon-retto metastatico, 19 (27.5%) da carcinoma del colon-retto non metastatico e 20 (29%) volontari sani. Dei 19 pazienti con malattia non metastatica, 11 (57,9%) sono affetti da neoplasia del colon e 8 (42.1%) da neoplasia del retto. Gli autori hanno evidenziato una correlazione statisticamente significativa tra alti livelli sierici del DD e presenza di malattia metastatica ($p < 0.05$); valori elevati del DD sono stati riscontrati nel 90% dei pazienti con malattia metastatica [29].

Blackwell et coll. hanno valutato i livelli di D-dimero in pazienti con carcinoma colon-rettale metastatico trattati in uno studio randomizzato di fase II che confrontava il bevacizumab+5-fluorouracile/leucovorin con 5FU/LV da solo. Su 104 pazienti affetti da carcinoma del colon-retto metastatico, hanno studiato la correlazione esistente tra i livelli sierici del DD, il numero delle sedi di metastasi e la sopravvivenza. Al momento dell'arruolamento 86/104 (88%) pazienti

presentavano valori sierici elevati del DD che s'incrementavano all'aumentare del numero delle sedi di metastasi ($P=0.03$). Al momento della progressione, i livelli plasmatici di D-dimero raggiungevano un valore massimo in 51/61 pazienti (84%). In conclusione i livelli circolanti di D-dimero sono i migliori predittori di sopravvivenza globale e di progressione di malattia nei pazienti con carcinoma colon-rettale metastatico ed il D-dimero può essere un utile biomarker per i pazienti trattati con agenti antiangiogenetici (nei pazienti arruolati in trattamento con bevacizumab, è stato dimostrato il valore prognostico in termini di sopravvivenza dei livelli sierici del D-dimero ($p<0.05$) [34].

Buccheri e coll., in uno studio condotto su 826 pazienti con carcinoma polmonare in un periodo di 10 anni (1992-2001), di cui 305 (39%) con malattia metastatica, hanno analizzato 31 variabili prognostiche, tra cui i livelli sierici del DD e le associazioni tra quest'ultimo con la presenza, il tipo e il numero delle sedi di metastasi, evidenziando risultati

statisticamente significativi (rho di Spearmann = 0.18 e 0.15 rispettivamente). Elevati livelli di DD sono dunque maggiormente associati con malattia tumorale in fase avanzata.

In tale studio è stata inoltre valutata la correlazione tra i livelli sierici del DD e la sopravvivenza. In pazienti con normali valori del DD il periodo medio di sopravvivenza è stato pari a 308 giorni (95% CI, 227-409 giorni), contro i 154 giorni (95% CI, 122-189 giorni) nei pazienti con valori sierici elevati del DD (“log rank statistic”, 26.56; $P < 0.01$) [30].

Dirix LY et coll. ha dimostrato una significativa correlazione tra i livelli sierici del DD e dimensione tumorale, tasso di progressione, sopravvivenza in pazienti con carcinoma mammario metastatico [31].

In studi più recenti **Altiay G et coll** hanno valutato i livelli plasmatici di D-dimero in 78 pazienti con tumore polmonare (60 NSCLC e 18 SCLC). E' stata osservata una associazione significativa tra livelli plasmatici di D-Dimero e risposta alla chemioterapia ($P = 0.03$). La sopravvivenza mediana è stata di

405 giorni (95% CI, 165-644 giorni) e 207 giorni (95% CI, 146-267 giorni, $P < 0.001$), rispettivamente per i pazienti con bassi e alti livelli di D-dimero. [46]

In numerosi studi i livelli di D-dimero sono correlati ad una risposta alla chemioterapia o ad altri trattamenti antitumorali (ormonali, anti-angiogenetici, radioterapia, resezione tumorale) in differenti patologie neoplastiche (carcinomi della mammella, esofago, prostata, polmone, sarcoma muscolo-scheletrico) [34,47-51].

Altri recenti studi hanno dimostrato che i livelli di D-dimero potrebbero essere usati per determinare lo stadio/grado tumorale nei tumori ovarici, t. del colon-retto, nel carcinoma gastrico e nel carcinoma della mammella [52-56].

Sulla base di questi presupposti scientifici e con lo scopo di valutare il ruolo prognostico del livello sierico del DD è stato condotto uno studio prospettico in pazienti affetti da neoplasia solida in fase avanzata presso il Dipartimento di Discipline

Chirurgiche ed Oncologiche (Cattedra di Oncologia Medica),
dell'Università di Palermo ed in collaborazione con l' U.O. di
Oncologia dell'Ospedale S.Elia di Caltanissetta, i cui risultati
costituiscono l'oggetto della presente tesi di Dottorato di
Ricerca.

Scopi dello Studio

Scopi dello studio oggetto della presente tesi sono:

- Valutare la correlazione tra livelli sierici del D-dimero e la sede del tumore primitivo.
- Valutare la correlazione tra livelli sierici del D-dimero e le sedi di metastasi.
- Valutare la correlazione tra livelli sierici del D-dimero e il numero di sedi di metastasi.
- Valutare la correlazione tra livelli sierici del D-dimero e la sopravvivenza globale.

Pazienti e Metodi

Per essere inclusi in questo studio i pazienti dovevano presentare le seguenti caratteristiche: diagnosi di tumore solido, istologicamente accertato, in fase avanzata. Per definire l'estensione della malattia i pazienti sono stati sottoposti ad esame clinico completo e alle indagini necessarie in base al tipo di neoplasia.

Le caratteristiche cliniche prese in considerazione sono state il tipo di tumore primitivo, la presenza di metastasi, il numero e le sedi di metastasi.

I pazienti sono stati sottoposti ai trattamenti antitumorali e/o antiangiogenetici previsti per il tipo di patologia e lo stadio.

La determinazione del livello sierico del DD è stata effettuata ogni 4 settimane. Il limite oltre il quale il valore di DD era considerato patologico è stato posto pari a 280 ng/ml. Attualmente l'espressione del DD viene determinata mediante 3 metodiche: test di immunoassorbimento enzimatico (ELISA), test di agglutinazione al lattice (LA), test di agglutinazione su

sangue intero (WBA). Nel presente studio, il livello sierico del DD è stato dosato mediante test di agglutinazione al lattice (LA) che si fonda sul seguente meccanismo: miscelando un campione di plasma contenente DD al reagente al lattice ed al tampone di reazione contenuto nel kit DD, le particelle di lattice agglutinano. Il grado di agglutinazione è direttamente proporzionale alla concentrazione del DD nel campione ed è determinato misurando la diminuzione della luce trasmessa a 405 nm, causata dagli aggregati (test immunologico turbimetrico) [35].

Per valutare la correlazione tra livelli sierici del DD e le sedi del tumore primitivo e tra i livelli sierici del DD e le sedi di metastasi è stata utilizzata la regressione lineare. Il metodo di Kaplan Meier mediante il “Log-rank Test” è stato usato per confrontare la sopravvivenza dei pazienti con neoplasia metastatica suddivisi in due sottogruppi in cui i livelli sierici del DD erano, rispettivamente, normali e patologici. La curva di sopravvivenza globale in funzione dei livelli sierici del DD è

stata ottenuta mediante la regressione di Cox. L'analisi statistica dei dati è stata condotta impiegando il programma "SPSS 15.0 Windows version".

Risultati

Sono stati inseriti nello studio oggetto della presente tesi 130 pazienti consecutivi, di cui 76(58%) uomini e 54 (42%) donne, affetti da tumore solido in fase avanzata. L'età mediana di questi pazienti era pari a 66 anni (37-88).

Le caratteristiche dei pazienti sono mostrate in tab. 1.

Relativamente alla sede del tumore primitivo 30 (23%) pazienti erano affetti da carcinoma del colon-retto, 25 (19.2%) da carcinoma della mammella, 22 (16.9%) da carcinoma del polmone, 14 (10.8%) da carcinoma della prostata, 10 (7.7%) da carcinoma dello stomaco, 6 (4.6%) da carcinoma della colecisti, 3 (2.3%) da melanoma, 3 (2.3%) da mesotelioma pleurico, 3 (2.3%) da epatocarcinoma, 3 (2.3%) da carcinoma uroteliale, 3 (2.3%) da sarcoma, 2 (1.5%) da metastasi da tumore primitivo sconosciuto, 2 (1.5%) da carcinoma della laringe, 2 (1.5%) da carcinoma del pancreas, 1 (0.8%) da carcinoma renale, 1 (0.8%) da tumore del rinofaringe (Fig. 6).

Per quanto riguarda il numero di sedi di metastasi, una sola sede era presente in 82 (63.3%) pazienti, due o più sedi in 48 (36.7%) pazienti (Fig. 7).

Le sedi di metastasi erano così rappresentate: viscerali in 65 pazienti (50%), ossee in 32 (25%), linfonodali in 30 (23.5%), cerebrali in 3 (1.5%) (Fig.8).

Dal mese di Luglio 2004 a Novembre 2011 sono stati effettuati 450 prelievi (valore medio per paziente: 3.46 prelievi) per valutare i livelli sierici del DD. Alla prima valutazione 47 (36%) pazienti con malattia avanzata presentavano valori di livelli sierici di DD inferiori a 280 ng/ml mentre, 83 (64%) pazienti mostravano elevati livelli di DD (> 280 ng/ml) (Fig.9).

Dei 47 pazienti metastatici con livelli sierici di DD inferiori a 280 ng/ml, 12 (25.5%) pazienti erano affetti da tumore della mammella, 9 (19.1%) da tumore della prostata, 5 (10.6%) da tumore della colecisti, 3 (6.4%) da melanoma, 3 (6.4%) da mesotelioma pleurico, 3 (6.4%) da tumore uroteliale, 3 (6.4%)

da sarcoma, 2 (4.2%) da tumore della laringe, 2 (4.2%) da tumore del fegato, 2 (4.2%) da tumore del rinofaringe, 1 (2.1%) da primitivo sconosciuto, 1 (2.1%) da tumore del pancreas, 1 (2.1%) da tumore del rene.

Degli 83 pazienti metastatici con livelli sierici patologici del DD (>280 ng/ml), 30 (36.1%) erano affetti da tumore del colon-retto, 22 (26.5%) da tumore polmonare, 10 (12.0%) da tumore dello stomaco, 13 (15.7%) da tumore della mammella, 5 (6.0%) da tumore della prostata, 1 (1.2%) da primitivo sconosciuto, 1 (1.2%) da tumore del pancreas, 1 (1.2%) da tumore della colecisti, 1 (1.2%) da tumore del fegato.

Tutti i pazienti con tumori del colon-retto, del polmone e dello stomaco metastatici mostravano alla prima valutazione livelli sierici patologici del DD (tab. 2).

Utilizzando il test di “Mann-Whitney” è stata dimostrata una correlazione statisticamente significativa ($p=0.039$) tra livelli sierici del DD e neoplasie del colon-retto, polmonare e gastrico,

mentre tale correlazione non è stata evidenziata con altri tipi di neoplasia.

Utilizzando il test di “regressione lineare”, nessuna correlazione è stata riscontrata tra livelli sierici del DD, sedi e numero di metastasi ($p > 0.05$).

La sopravvivenza mediana dell’intera popolazione è stata pari a 15.5 mesi; 26.5 mesi per i pazienti con livelli sierici del DD inferiori a 280 ng/ml e 13.5 mesi per i pazienti con livelli sierici del DD patologici.

Non è stata riscontrata una correlazione positiva, mediante la regressione di Cox, tra livelli di DD e sopravvivenza ($p > 0.05$).

Distinguendo i pazienti in due sottogruppi, con valori rispettivamente al di sopra, al di sotto del valore limite di DD (280 ng/ml), e utilizzando il Log-rank test, si è osservata una differenza statisticamente significativa tra le due curve di sopravvivenza ($p = 0.017$) (Fig.11).

Discussione

I pazienti affetti da tumori, generalmente, mostrano alterazioni di uno o più marcatori dell'attivazione dell'emostasi, espressione di uno stato di ipercoagulabilità. Anormalità coagulative sono state correlate alla presenza e alla progressione del processo neoplastico nei tumori del polmone, del colon-retto, dell'ovaio, della cervice, dell'utero e della prostata [36-42].

Recentemente è stato dimostrato che alcuni marcatori della coagulazione sono importanti fattori predittivi di sopravvivenza [20].

Circa il 90% di pazienti con tumore metastatico presenta uno o più parametri della coagulazione alterati [43]. Diversi studi hanno evidenziato che l'attivazione del sistema coagulazione/fibrinolisi ha un ruolo importante nel processo di disseminazione tumorale [43-44].

Il fattore prognostico ideale dovrebbe fornire informazioni sul comportamento biologico del tumore in modo tale da poterne

prevedere la possibile evoluzione e da definire la migliore scelta terapeutica basandosi, appunto, sull'aggressività di ogni singola neoplasia.

Numerose caratteristiche molecolari sono state valutate al fine di determinare la loro capacità nel predire prognosi o risposta alla terapia o entrambe.

Il DD è il risultato dell'azione proteolitica della plasmina sulla fibrina [38]. La sua rilevanza clinica è legata al possibile ruolo di fattore prognostico nei pazienti affetti da neoplasia solida.

Livelli sierici patologici del DD sono stati riscontrati in circa il 55% dei pazienti con carcinoma in fase avanzata [36].

In uno studio di Kockar C. e coll. condotto su 69 pazienti, è stata analizzata la correlazione tra il valore del sierico del DD e neoplasia del colon-retto con metastasi epatiche. Gli autori hanno osservato che il processo di fibrinolisi era aumentato in pazienti con carcinoma del colon-retto avanzato ($p < 0.05$). I livelli sierici del DD nel sottogruppo dei pazienti metastatici erano più elevati, se comparati con i valori sierici del DD nel

sottogruppo dei non metastatici ($p < 0.05$).

Anormalità dei parametri della coagulazione sono stati riscontrati nel 50% di tutti i pazienti arruolati nello studio; di questi il 90% erano pazienti metastatici [29].

Buccheri e coll. hanno condotto uno studio su 826 pazienti con carcinoma del polmone. Dimostrare la possibile correlazione tra i livelli sierici del DD e la presenza, il tipo e il numero delle sedi di metastasi, è stato uno degli obiettivi di tale studio. Una correlazione statisticamente significativa ($p < 0.01$) è stata dimostrata tra livelli sierici patologici del DD e la presenza, il tipo e il numero delle metastasi ($p < 0.01$). In particolar modo, per quanto concerne le sedi di metastasi, una correlazione positiva è stata dimostrata per le metastasi epatiche e cerebrali ($p < 0.01$); nessuna correlazione è stata dimostrata per altre sedi di metastasi. Altra variabile presa in esame è la sopravvivenza: la media della sopravvivenza in pazienti con livelli sierici del DD normali è stata di 308 giorni (95% CI, 227-409 giorni), contro i 154 giorni (95% CI, 122-189 giorni) dei

pazienti con valori patologici ($p < 0.01$). Da questo studio si è evinto che il DD rappresenta un importante fattore prognostico in pazienti con malattia in stadio avanzato (stadio Ia-IIb). In quest'ultimo sottogruppo, la media di sopravvivenza per i pazienti con livelli sierici del DD è stata di 1343 giorni (95% CI, 482-2201 giorni) e di 642 giorni (95% CI, 310-982 giorni) per i pazienti con livelli sierici patologici ($p < 0.05$) [30].

Nello studio di Antoniou D. e coll. su 52 pazienti affetti da carcinoma polmonare, è stata evidenziata una correlazione tra livelli sierici del DD, la progressione della malattia e la risposta al trattamento. Tutti i pazienti erano affetti da carcinoma del polmone avanzato in trattamento chemioterapico, associato o meno a radioterapia. Dei 52 pazienti arruolati nello studio, solo 47 sono stati valutati (45 uomini e 2 donne). Considerando il sottogruppo degli uomini, il 66% presentava la malattia allo stadio IV, il 34% allo stadio IIIb e IIIa inoperabile. In due pazienti (4.3%), dopo trattamento chemioterapico, si era avuta una risposta completa (CR), in 17 pazienti (36.2%) una risposta

parziale (PR), in 12 pazienti (25.5%) una stabilità di malattia (SD) e in 16 pazienti (34%) una progressione di malattia (PD). Dall'analisi statistica è risultata una correlazione positiva tra livelli sierici del DD e la risposta al trattamento ($p < 0.005$); lo stesso non può dirsi per la sopravvivenza ($p < 0.369$ non significativa) [33].

Dirix LY e coll., su un campione di 137 individui di sesso femminile, di cui 30 sani volontari, 23 con carcinoma della mammella e 84 con carcinoma della mammella metastatico, hanno dimostrato la presenza di una correlazione statisticamente significativa tra alti livelli sierici del DD, numero delle sedi di metastasi e progressione della malattia. I livelli sierici del DD erano incrementati in circa l'89% di pazienti con carcinoma della mammella metastatico. Livelli sierici patologici del DD erano correlati positivamente con il numero delle sedi di metastasi ($P < 0.002$), e con la progressione della malattia ($P < 0.0001$). E' stata anche valutata la correlazione tra livelli sierici patologici del DD e livelli sierici

elevati di fibrinogeno, riscontrando una positività statisticamente significativa ($P < 0.0001$) [31].

Blackwell K. e coll. in uno studio su 104 pazienti affetti da carcinoma del colon-retto metastatico, hanno studiato la possibile correlazione esistente tra livelli sierici del DD ed alcune variabili, tra cui la sopravvivenza, la sede e il numero di metastasi. Il DD è stato dosato in 98 (94.2%) pazienti, di cui 86 (88%) presentava valori patologici del DD. In tale studio è stata dimostrata la correlazione tra i livelli sierici del DD e la sopravvivenza (Kaplan-Meier $P = 0.008$), le sedi e il numero di metastasi ($P = 0.04$). Una correlazione statisticamente positiva è stata riscontrata tra livelli sierici del DD e metastasi epatiche e polmonari ($P = 0.040$ e $P = 0.097$, rispettivamente). E' stata inoltre studiata la correlazione tra i livelli sierici del DD e la progressione della malattia. Di tutti i pazienti arruolati nello studio, 66 (63.5%) sono andati incontro a progressione di malattia; a 5 pazienti appartenenti a questo sottogruppo non è stato dosato il DD durante il tempo di progressione. Una

significatività statistica è stata trovata tra i livelli sierici del DD e la progressione della malattia ($P=0.01$). Non è stata invece riscontrata una correlazione tra i livelli sierici del DD e la risposta positiva al trattamento chemioterapico [34].

Nello studio oggetto della presente tesi, è stato valutato il ruolo prognostico dei livelli sierici del DD in pazienti con tumore solido in fase avanzata e, sono stati riportati i risultati relativi alla correlazione tra i livelli sierici del DD e ciascuna delle seguenti caratteristiche: sede del tumore primitivo, sedi e numero di metastasi; è stata inoltre valutata la sopravvivenza globale.

Sono stati valutati 130 pazienti (76 uomini, 54 donne) affetti da malattia metastatica, di cui le principali neoplasie erano: tumore colon-rettale (23%), mammario (19.2%), polmonare (16.9%), prostatico (10.8%), gastrico (7.7%), colecistico (4.6%), melanoma (2.3%), pleurico (2.3%), epatico (2.3%), sarcoma (2.3%), primitivo sconosciuto (1.5%), pancreatico (1.5%), laringeo (1.5%), rene e rinofaringe (0.8% entrambi).

Alla prima valutazione, livelli sierici del DD nella norma (<280 ng/ml) sono stati riscontrati in 47 (36%) pazienti; in 83 (64%) i livelli sierici del DD erano superiori a 280ng/ml. Una correlazione positiva statisticamente significativa è stata dimostrata tra i livelli sierici del DD e neoplasia primitiva polmonare, gastrica e colon-rettale ($p < 0.05$); tutti i pazienti con queste 3 neoplasie metastatiche alla prima valutazione presentavano livelli sierici del DD patologici (>280 ng/ml).

Nessuna correlazione è stata dimostrata tra livelli sierici del DD, sede e numero di metastasi ($p > 0.05$).

Per quanto concerne la correlazione tra livelli sierici del DD e sopravvivenza globale, essa non è risultata statisticamente significativa ($p > 0.05$).

Distinguendo i pazienti in due gruppi, l'uno con valori basali minori di 280 ng/ml e l'altro con valori maggiori, è stata riscontrata una differenza in termini di sopravvivenza tra i due sottogruppi, rispettivamente di 26.5 e di 13.5 mesi.

In conclusione, sulla base di dati della letteratura e dei dati

osservati nel corso del presente studio, la valutazione del livello del DD sierico come potenziale nuovo fattore prognostico appare promettente e facilmente applicabile nella pratica clinica.

Ovviamente sono necessari ulteriori studi per confermare queste osservazioni e per validare ulteriormente questo fattore prognostico esplorando il suo impiego per esempio in fasi di malattia più precoci e nella valutazione delle risposte al trattamento, come fattore in grado di predire la recidiva di malattia.

Bibliografia

1. Bonadonna G., Robustelli della Cuna G. *Medicina Oncologica*, ed Masson.2003.
2. Trousseau A. Phlegmasia alba dolens. *Clinique Medical de l'Hotel-Dieu de Paris*. Paris: J-B. Balliere et Files 1865; 654-712.
3. Edwards RL, Rickles FR, Moritz TE, et al. Abnormalities of blood coagulation tests in patients whit cancer. *Am. J. Clin. Pathol.* 1987;88:596-602.
4. Lee AY, Levine MN. Venous thromboembolism and cancer: risks and outcomes. *Circulation* 2003 Jun 17; 107(23 Suppl 1): I-17-I-hg21. Review.
5. Gouin-Thibault I, Achkar A, Samama MM. The thrombophilic state in cancer patients. *Acta Haematol.* 2001; 106(1-2): 33-42. Review.
6. Levine MN, Lee AY, Kakkar AK. From Trousseau to

- targeted therapy: new insights and innovations in thrombosis and cancer. *J Thromb Haemost.* 2003 Jul; 1:1456-63.
7. Gouin-Thibault I, Achkar A, Samama MM. The thrombophilic state in cancer patients. *Acta Haematol.* 2001; 106(1-2): 33-42. Review.
 8. Goad KE, Gralnick HR. Coagulation disorders in cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996;10:457-484.
 9. Rickles FR, Edwards RL. Activation of blood coagulation in cancer: Trousseau's syndrome revisited. *Blood.* 1983;62:14-31.
 10. Agorogiannis EI, Agorogiannis GI. Coagulation, angiogenesis, and venous thromboembolism in cancer. *Lancet* 2002 Apr 20; 359(9315):1440.
 11. Letai A, Kuter DJ. Cancer, coagulation, and anticoagulation. *Oncologist.* 1999; 4:443-9. Review.

12. Kwaan HC, Keer HN. Fibrinolysis and cancer. *Semin Thromb Hemost.* 1990;16:230-235.
13. Zacharski LR, Memoli VA, Costantini V et al. Clotting factors in tumor tissue: implications for cancer therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1990; 1:71-78.
14. Lebeau B, Chastang C, Brechot J-M et al. Subcutaneous heparin treatment increases survival in small cell lung cancer. *Cancer* 1994; 74: 38-45.
15. Chahinian AP, Propert KJ, et al. A randomized trial of anticoagulation with warfarin and of alternating chemotherapy in extensive small-cell lung cancer by the Cancer and Leukemia group B. *J Clin Oncol* 1989; 7: 993-1002.
16. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1055-66.

17. Slichter SJ, Harker LA. Haemostasis in malignancy. *Ann NY Acad Sci* 1974;230:252-61.
18. Bromberg ME, Cappello M. Cancer and blood coagulation: molecular aspects. *Cancer J Sci Am* 1999;5:132-8.
19. Donati MB; Lorenzet R. Coagulation factors and tumor cell biology: the role of Tissue Factor-Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis. 2003 Sep 19-21; 33 (Suppl 1) 1-106.
20. Gordon SG. Cancer cell procoagulants and their role in malignant disease. *Semin . Thromb. Haemost.* 18,424-433, 1992.
21. Levin J, Conley CL. Thrombocytosis associated with malignant disease. *Arch. Int. Med.* 114, 497-502, 1964.
22. Gaffney PJ, et al. Monoclonal antibodies to crosslinked fibrin degradation products (XL-FDP) I, Characterization

- and preliminary evaluation in plasma. *British Journal of Haematology*. 1998;68:83-90.
23. Palareti G. Fibrinogen/fibrin degradation products: pathophysiology and clinical application, fibrinolysis. 1993;7:60-61.
 24. Gaffney PJ. The occurrence and clinical relevance of fibrin fragments in blood. *Annals New York Academy of Sciences*. 1983;408:407-423.
 25. Seitz R, Rappe N, Kraus M, et al. Activation of coagulation and fibrinolysis in patients with lung cancer: Relation to tumor stage and prognosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 4:249-254,1993.
 26. Okajima K, Kohno I, Tsuruta J, et al. Direct evidence for systemic fibrinogenolysis in a patient with metastatic prostatic cancer. *Thrombosis Res*. 66:717-727,1992.
 27. Gadducci A, Baicchi U, Marrai R, et al. Pretreatment

plasma levels of fibrinopeptide-A (FPA), D-dimer (DD), and von Willebrand factor (rWF) in patients with operable cervical cancer: Influence of surgical-pathological stage, tumor size, histologic type, and lymphnode status. *Gynecol Oncol* 49:354-358,1993.

28. Oya M, Akijama Y, Yanagida T, et al. Plasma D-dimer level in patients with colorectal cancer: Its role as a tumor marker. *Surg Today* 28:373-378,1998.
29. Mitter CG, Zielinski CC: Plasma levels of D-dimer: a crosslinked fibrin-degradation product in female breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1991; 117: 259-262.
30. Kockar C,Ozturk M et al. Global Fibrinolytic Capacity increased exponentially in metastatic colorectal cancer. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis* 2005; 11 (2):227-230.
31. Buccheri G, Torchio P, Ferrigno D. Plasma levels of D-dimer in lung cancer. *Cancer* 2003;97:3044-52.

32. Dirix LY, Salgado R, et al. Plasma fibrin D-dimer levels correlate with tumour volume, progression rate and survival in patients with metastatic breast cancer. *Br J Cancer* 2002; 86:389-395.
33. Rak J, Yu JL, Luyendyk J et al. Oncogenes, trousseau syndrome, and cancer-related changes in the coagulome of mice and humans. *Cancer Res* 2006.66: 10643-10646.
34. Antoniou D, Pavlakou G, Stathopoulos GP et al. Predictive value of D-dimer plasma levels in response and progressive disease in patients with lung cancer. *Lung Cancer* 2006.
35. Blackwell K, Hurwitz H, Lieberman G, et al. Circulating D-dimer levels are better predictors of overall survival and disease progression than carcinoembryonic antigen levels in patients with metastatic colorectal carcinoma. *Cancer* 2004;101:77-82.
36. Newman DJ, et al. Particle enhanced light scattering

- immunoassay. *Ann Clin Biochem.* 1992;29:22-42.
37. Ferrigno D, Buccheri G, Ricca I. Prognostic significance of blood coagulation tests in lung cancer. *Eur Respir J* 2001;17:667-673.
 38. Buccheri G, Ferrigno D, Ginardi C, Zuliani C. Haemostatic abnormalities in lung cancer: prognostic implications. *Eur J Cancer* 1997;33:50-55.
 39. Kakkar AK, DeRuvo N, Chinswangwatanakul V, et al. Extrinsic-pathway activation in cancer with high factor VIIa and tissue factor. *Lancet* 1995;346:1004-1005.
 40. Gavazza EC, Taguchi O, Yamakami T, et al. Alteration of coagulation and fibrinolysis systems after multidrug anticancer therapy for lung cancer. *Eur J Cancer* 1994;30A:1276-1281.
 41. Rella C, Coviello M, De Frenza N, et al. Plasma D-dimer measurement as a markers of gynaecologic tumors:

comparison with Ca 125. *Tumori* 1993;79:347-351.

42. Rose PG, Terrien JM, Baker S. Plasma D-dimer and peritoneal CA-125 levels as predictors of disease status in ovarian carcinoma. *J Surg Oncol.* 1994; 56: 168-171.
43. Nakashima J, Tachibana M, Ueno M, et al. Tumors necrosis factor and coagulopathy in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 1995;55:4881-4885.
44. Gouin-Thibault I, Samama MM. Laboratory diagnosis of the thrombophilic state in cancer patients. *Semin Thromb Hemost.* 1999;25:167-172.
45. Kwaan HC, Keer HN. Fibrinolysis and cancer. *Semin Thromb Hemost.* 1990;16:230-235.
46. Francio CW, Marder VJ. Mechanism of fibrinolysis. In: McGraw Hill., ed. *Williams Hematology.* 1995;1252-60.
47. Altıay G, Ciftci A, Demir M, Kocak Z, et al. High plasma D-dimer level is associated with decreased survival in

- patients with lung cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2007; 19(7): 494-8.
48. Khangarot SS, Gupta N, Goswami B et al. Correlation of D dimer and factor VIII levels with histopathology in patients with breast carcinoma. *Cancer Biomark* 2010; 7(6): 305-14.
 49. Tomimaru Y, Yano M, Takachi K et al. Correlation between pretherapeutic d-dimer levels and response to neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced esophageal cancer. *Dis Esophagus*. 2008; 21:481-7.
 50. Khoury JD, Adcock DM, Chan F et al. Increases in quantitative D-Dimer levels correlate with progressive disease better than circulating tumor cell counts in patients with refractory prostate cancer. *American J of Clin Pathol* 2010; 134: 964-969.
 51. Takeshi Morii, Kazuo Mochizuki, Masazumi Kotera et al. Perioperative D-dimer levels in patients with

musculoskeletal tumors. *The Open Orthopaedics Journal* 2008;2:130-132.

52. Takeshi Morii, Kazuo Mochizuki, Takashi Tajima et al. D-dimer levels as a prognostic factor for determining oncological outcomes in musculoskeletal sarcoma. *BMC Musculoskelet Disord* 2011; 12: 250.
53. Gadducci A, Baicchi U, Marrai R, Ferdeghini M, Bianchi R, Facchini V. Preoperative evaluation of D-dimer and CA 125 levels in differentiating benign from malignant ovarian masses. *Gynecol Oncol.* 1996;60:197–202.
54. Oya M, Akiyama Y, Yanagida T, Akao S, Ishikawa H. Plasma D-dimer level in patients with colorectal cancer: its role as a tumor marker. *Surg Today.* 1998;28:373–378.
55. Kwon HC, Oh SY, Lee S, Kim SH, Han JY, Koh RY, Kim MC, Kim HJ. Plasma levels of prothrombin fragment F1+2, D-dimer and prothrombin time correlate with clinical stage and lymph node metastasis in operable

gastric cancer patients. *Jpn J Clin Oncol.* 2008;38:2–7.

56. Batschauer AP, Figueiredo CP, Bueno EC, Ribeiro MA, Dusse LM, Fernandes AP, Gomes KB, Carvalho MG. D-dimer as a possible prognostic marker of operable hormone receptor-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21:1267–1272.
57. Hong SK, Ko DW, Park J et al. Alteration of Antithrombin III and D-dimer levels in clinically localized prostate cancer. *Korean JUrol* 2010; 51(1):25-29.

Tabelle e Grafici

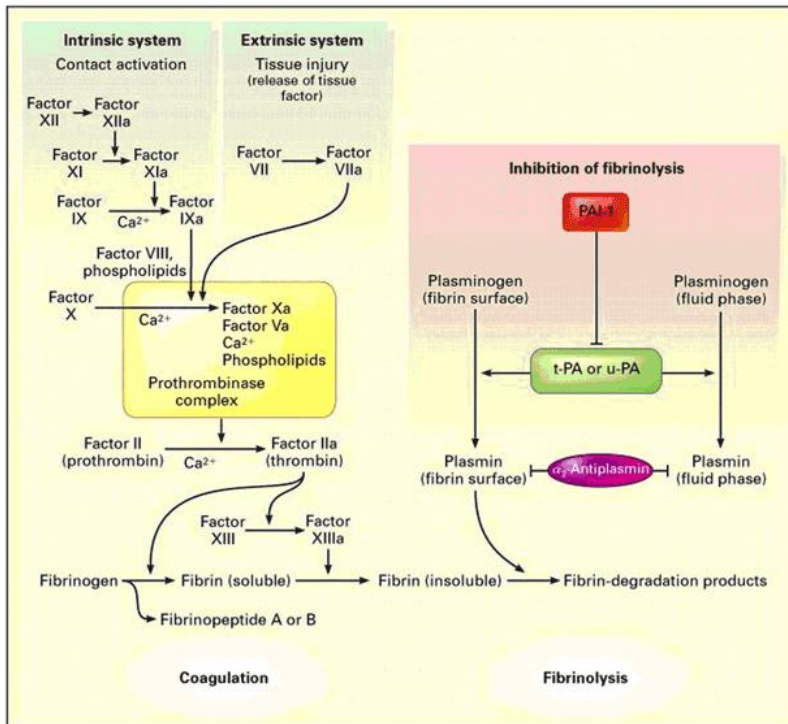


Fig. 1 Coagulazione e fibrinolisi

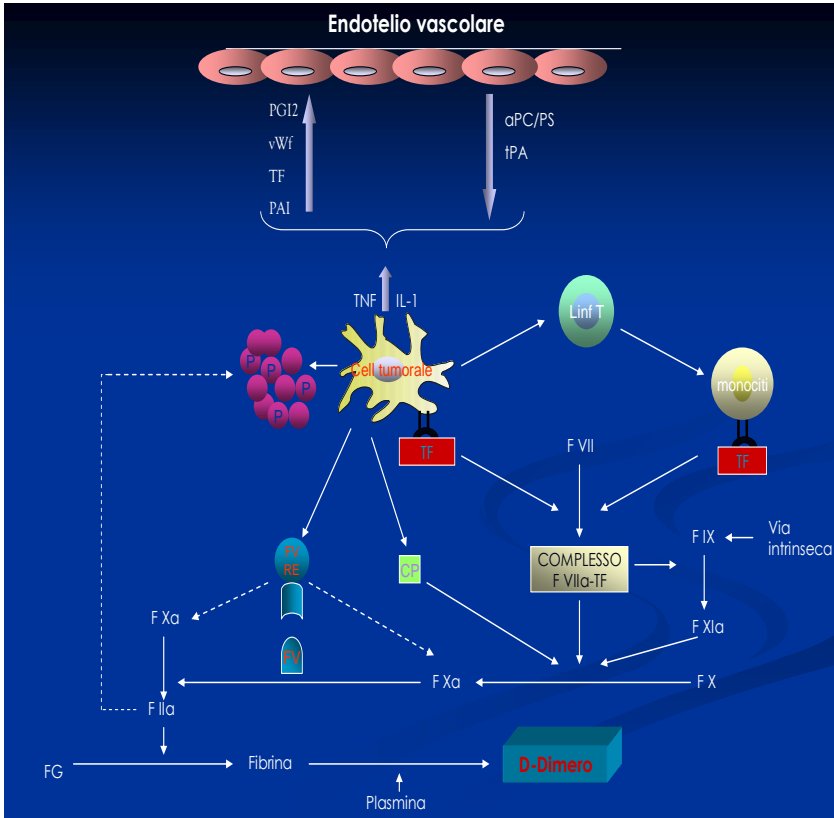


Fig. 2 Cellula tumorale e attivazione della coagulazione

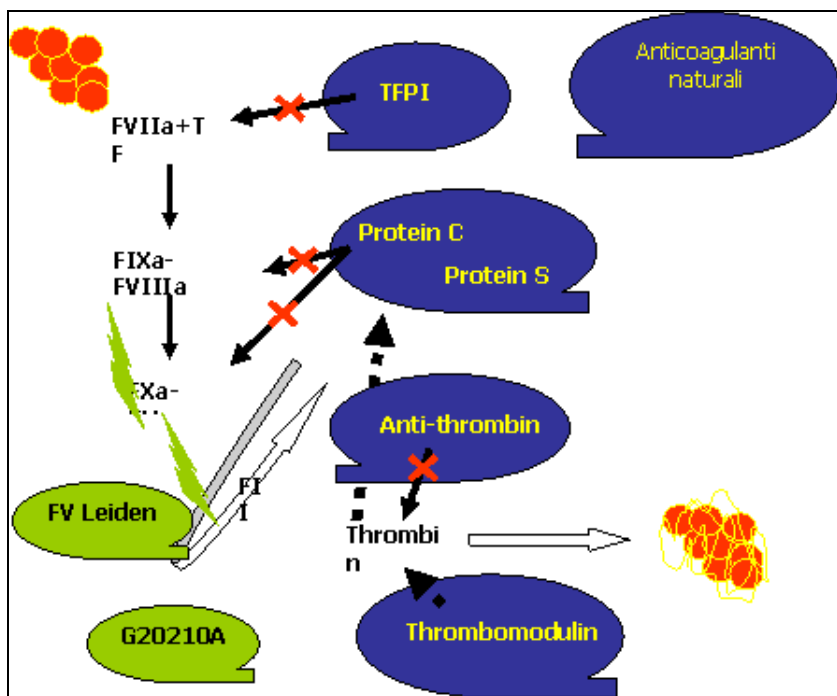


Fig. 3 Meccanismo antitrombotico

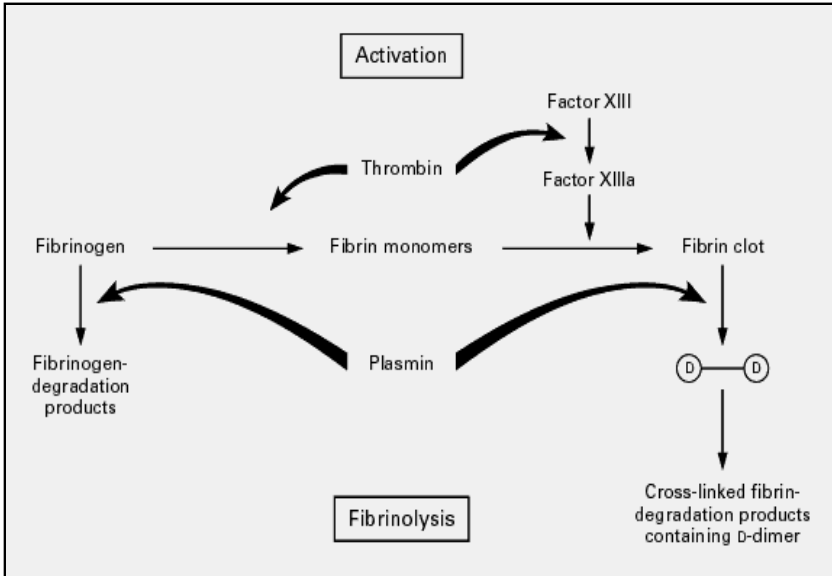


Fig. 4 Formazione del D-dimero

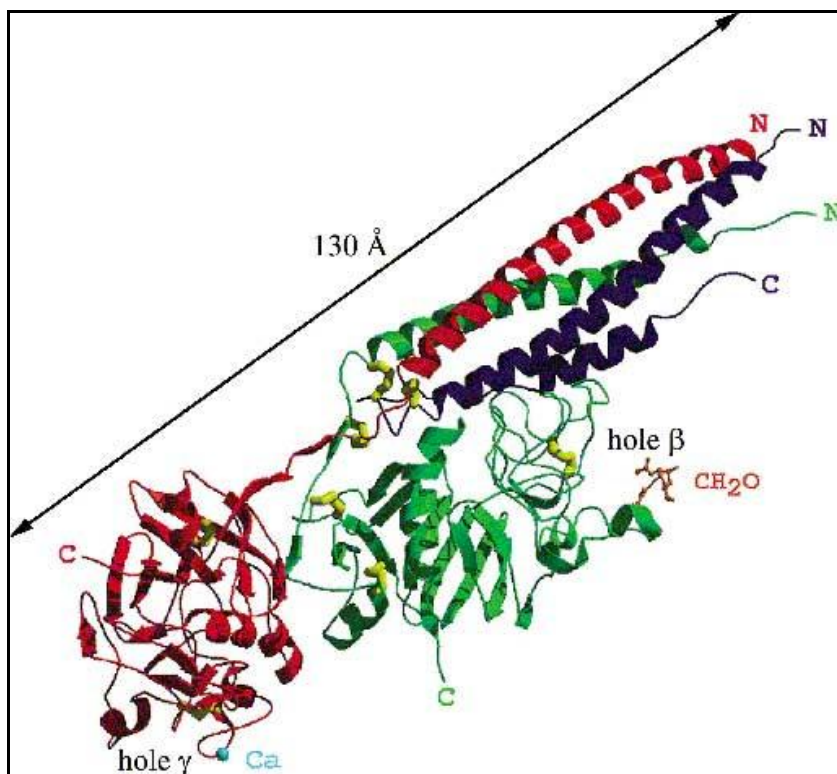


Fig. 5 Struttura molecolare del D-dimero

Caratteristiche	N° pazienti	% pazienti
Sesso M/F	76/54	58/42
Età media	66 (37-88)	
Tumore primitivo		
Colon-retto	30	23%
Mammella	25	19.2%
Polmone	22	16.9%
Prostata	14	10.8%
Stomaco	10	7.7%
Colecisti	6	4.6%
Melanoma	3	2.3%
Pleura	3	2.3%
Fegato	3	2.3%
Urotelio	3	2.3%
Sarcoma	3	2.3%
Primitivo sconosciuto	2	1.5%
Laringe	2	1.5%
Pancreas	2	1.5%
Rene	1	0.8%
Rinofaringe	1	0.8%
N° delle sedi di meastasi		
Una sede	82	63.3%
Piu' di una sede	48	36.7%
Sedi di metastasi		
Viscerali	65	50%
Ossee	32	25%
Linfonodali	30	23.5%
Cerebrali	3	1.5%
D-dimero		
<280 ng/ml	47	36%
>280 ng/ml	83	64%

Tab.1 Caratteristiche dei pazienti

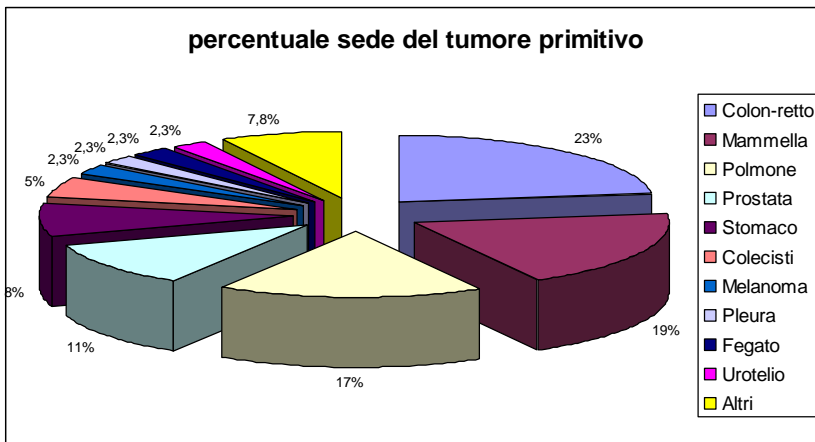


Fig. 6 Sedi di tumore primitivo

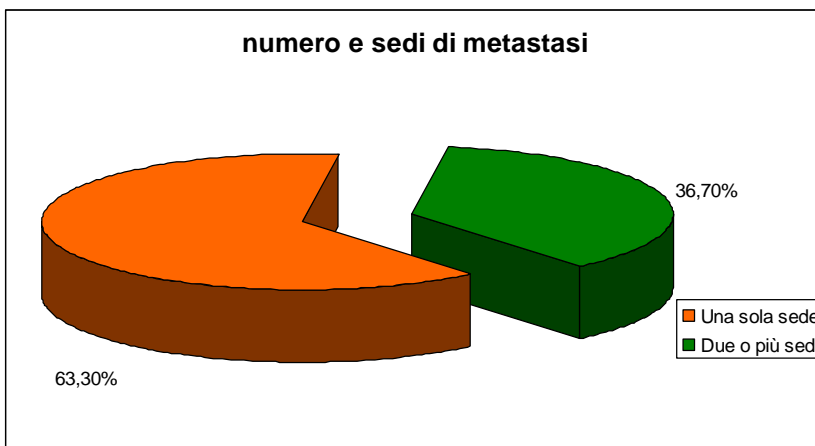


Fig. 7 Numero sedi di metastasi

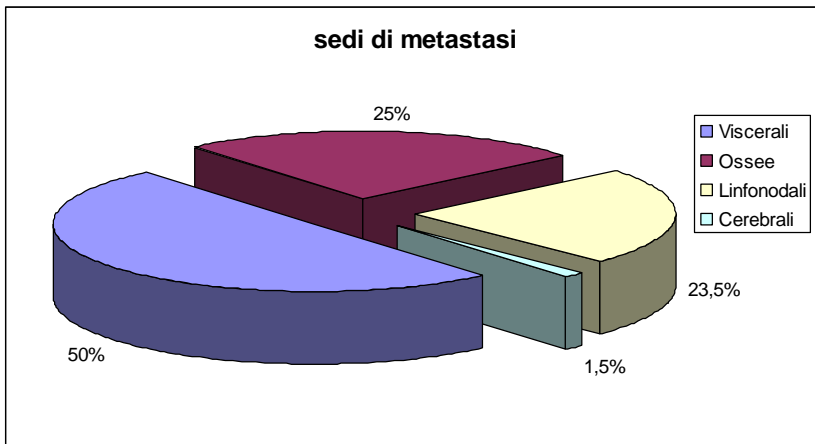


Fig. 8 Sedi di metastasi

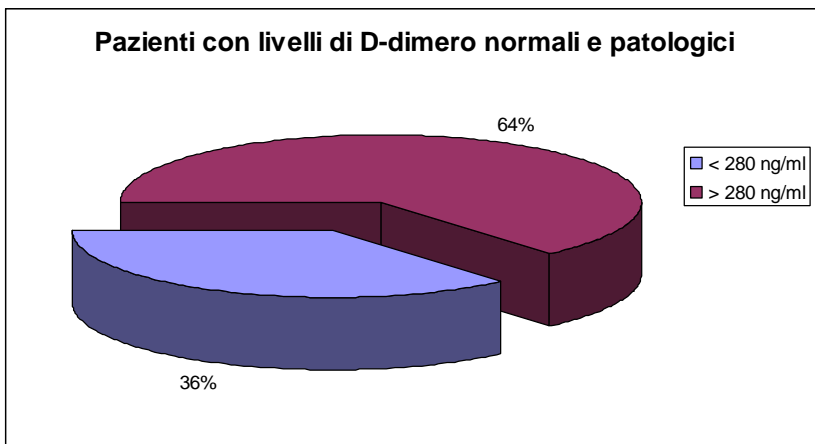


Fig. 9 Pazienti con livelli di D-dimero normali e patologici

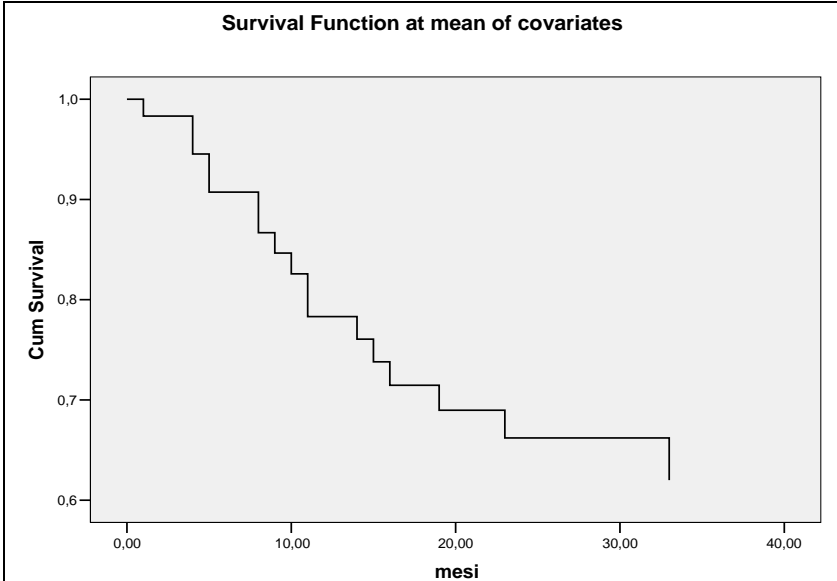


Fig. 10

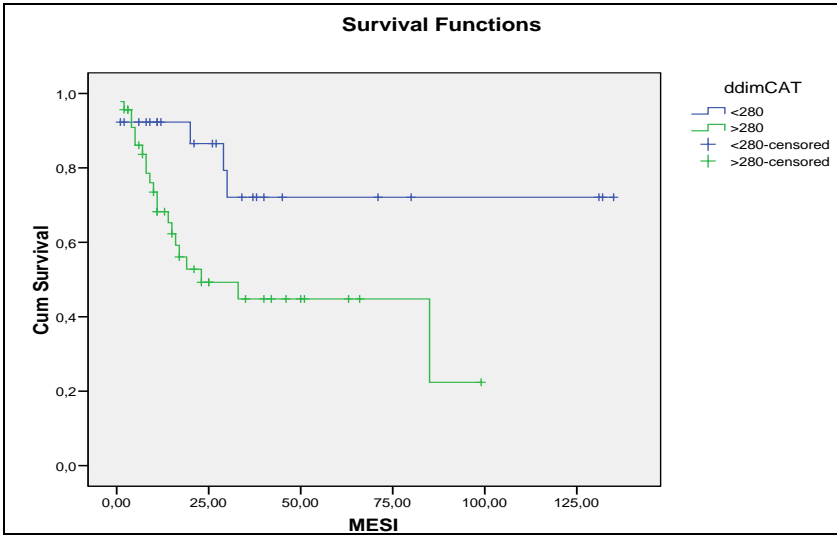


Fig. 11 Long-rang Test (p=0.01)

Tumore primitivo	D-dimero	
	<u><280 ng/ml</u>	<u>>280 ng/ml</u>
Mammella	12 (25.5%)	13 (15.7%)
Prostata	9 (19.1%)	5 (6%)
Colon-retto	0	30 (36.1%)
Polmone	0	22 (26.5%)
Stomaco	0	10 (12 %)
Primitivo sconosciuto	1 (2.1%)	1 (1.2%)
Laringe	2 (4.2%)	0
Pancreas	1 (2.1%)	1 (1.2%)
Melanoma	3 (6.4%)	0
Colecisti	5 (10.6%)	1 (1.2%)
Fegato	2 (4.2%)	1 (2.1%)
Rene	1 (2.1%)	0
Mesotelioma Pleura	3 (6.4%)	0
Rinofaringe	2 (4.2%)	0
Urotelio	3 (6.4%)	0
Sarcoma	3 (6.4%)	0

Tab. 2 Tumore primitivo e valori normali e patologici di D-dimero