UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**Faculdade de Medicina de São Paulo
Programa de Pós-graduação em Patologia
Departamento de Patologia**

João Carlos dos Campos Guerra

**Fatores de risco hereditários e adquiridos na coagulação: impacto
no desenvolvimento de eventos tromboembólicos em pacientes com
lesão medular causada por trauma raquimedular**

**São Paulo
2014**

João Carlos dos Campos Guerra

**Fatores de risco hereditários e adquiridos na coagulação: impacto
no desenvolvimento de eventos tromboembólicos em pacientes com
lesão medular causada por trauma raquimedular**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de: Patologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Nascimento Burattini

**São Paulo
2014**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Guerra, João Carlos de Campos

Fatores de risco hereditários e adquiridos na coagulação : impacto no desenvolvimento de eventos tromboembólicos em pacientes com lesão medular causada por trauma raquimedular / João Carlos de Campos Guerra. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Patologia.

Orientador: Marcelo Nascimento Burattini.

Trabalho defendido e aprovado em:

Fatores de risco hereditários e adquiridos na coagulação: impacto no desenvolvimento de eventos tromboembólicos em pacientes com lesão medular causada por trauma raquimedular

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de: Patologia

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu Pai, Amigo e Mestre Celso Guerra, um Homem completo, sua obra é um exemplo para toda a vida.

Agradecimentos

A minha esposa Clarissa pelo amor, amizade, apoio incondicional e pela sua infinita paciência.

Aos meus filhos João Pedro e Isabella por me ensinarem o significado do amor incondicional e por entenderem os momentos de ausência.

A minha Mãe Leda pela sólida formação familiar.

A minha irmã Leda pela amizade e incentivo sempre.

Aos meus irmãos Celso e Carlos pelo convívio.

Aos meus Padrinhos Eurico e Maria Helena pelos ensinamentos e amizade.

Aos vários Professores que me orientaram em vários momentos da minha carreira, em especial aos Drs. Luiz Gastão Rosenfeld, Eurípides Ferreira e Jacyr Pasternack.

Aos Profs. Linamara Rizzo Battistella e Marcelo Burattini pela oportunidade e apoio no desenvolvimento deste estudo.

Aos Drs. Marcelo A. Mourão, Carolina Nunes França e Chennyfer D. P. da Rosa, pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Aos Drs. Cristovão Manguiera, Nelson Hamerschlak e Nydia Bacal pelo apoio e oportunidades de crescimento e aprimoramento na área da Hematologia / Coagulação.

Aos Médicos e colaboradores do Centro de Hematologia de São Paulo - CHSP, Departamento de Patologia Clínica do Hospital Albert Einstein - HIAE e do Instituto de Medicina Física e Reabilitação da Universidade de São Paulo - USP, Faculdade de Medicina do Hospital das Clínicas - IMREA / Rede Lucy Montoro; que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste estudo.

Ao Departamento de Pós Graduação - Programa Patologia da Universidade de São Paulo pela oportunidade e ajuda, em especial ao Secretário Thiago Rezende e ao Coordenador Prof. Raymundo Soares de Azevedo Neto.

Aos pacientes com Traumatismo Raquimedular, em especial aqueles que aceitaram participar deste estudo.

RESUMO

Guerra JCC. Fatores de risco hereditários e adquiridos na coagulação: impacto no desenvolvimento de eventos tromboembólicos em pacientes com lesão medular causada por trauma raquimedular. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

Objetivo: Avaliar o impacto de fatores de risco no desenvolvimento de eventos tromboembólicos em pacientes com lesão medular. **Métodos:** Estudo observacional, prospectivo e cruzado. Pacientes elegíveis (n=100) tinham lesão medular por trauma raquimedular e mais de 18 anos. O grau de lesão sensorial e motora foi avaliado com base na escala ASIA (ASIA Impairment Scale - AIS). Amostras de sangue foram coletadas para exames de coagulação, hemogramas, análises bioquímicas e laboratoriais. Exames de ultrassonografia foram realizados nos sistemas venosos superficial e profundo dos membros inferiores. Experimentos de PCR em tempo real foram realizados com o intuito de investigar mutações nos genes da protrombina (G20210A) e do fator V de Leiden (G1691A). **Resultados:** O principal achado deste estudo foi a maior ocorrência de Trombose Venosa Profunda (TVP) em pacientes com fator V de Leiden e hiperhomocisteinemia. Não houve associação entre Lesão Medular por TVP, Tromboembolismo Venoso (TEV) e trombofilia. Não houve também relação com lúpus anticoagulante e anti-cardiolipina. **Conclusões:** Houve importante diferença na incidência de TVP em pacientes com Lesão Medular, tanto aguda quanto crônica (após um ano da lesão). A investigação de trombofilia deve ter como base os fatores clínicos, fatores de risco para TVP e história familiar de trombose.

Palavras-chave: tromboembolismo, lesão medular, trauma raquimedular, fator V de Leiden, hiperhomocisteinemia

ABSTRACT

Guerra JCC. Hereditary and acquired clinical risk factors in the coagulation: impact in the development of thromboembolic events in patients with spinal injury caused by spinal cord injury [Thesis]. "São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2014.

Objective: Evaluate the impact of risk factors in the development of thromboembolic events in patients with spinal cord injury. **Design:** Observational, prospective and cross study. Eligible patients (n=100) had spinal injury (SI) by spinal cord injury (SCI), older than 18 years of age. The degree of motor and sensory lesion was evaluated based on ASIA Impairment Scale (AIS). Blood samples were collected for coagulation exams, hemogram, laboratory and biochemical analyses. Ultrasonography analyzes were performed from deep and superficial venous systems of lower limbs. Quantitative real-time PCR experiments were performed in order to investigate mutations in the prothrombin (G20210A) and Leiden factor V (G1691A) genes. **Results:** The main finding of this study was the higher occurrence of Deep Venous Thromboembolism (DVT) in patients with Leiden factor V and hyper homocysteinemia. There was no association between SI for DVT, venous thromboembolism (VT) and thrombophilia. Also, there was no relation between lupus anticoagulant and anti-cardiolipin. **Conclusions:** There is an important difference in the incidence of DVT in patients with SI by acute SCI and after 1 year. The conduct of the investigation for thrombophilia should be based on clinical factors, risk factors for DVT and family history of thrombosis.

Key Words: thromboembolism, spinal cord injury, Leiden factor V, hyper-homocysteinemia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Mecanismos principais envolvidos no controle normal da coagulação e trombofilias herdadas. O controle da coagulação é obtido pela via da proteína C e antitrombina. Na via da proteína C, trombina ligada à trombomodulina ativa a proteína C, que inativa os fatores V e VIII ativados na presença da proteína S, diminuindo a produção de trombina. A neutralização da trombina ocorre pela antitrombina ligada ao heparan sulfato. Nas trombofilias herdadas, a deficiência de antitrombina, proteínas C ou S, elevada atividade do fator V ou atividade aumentada da protrombina resulta em redução da neutralização de trombina ou aumento na geração de trombina.	20
Figura 2.	Algoritmo para o diagnóstico de TEV descrevendo a utilidade do teste do D-Dímero combinado com a probabilidade de pré-testes clínicos. TEV: Tromboembolismo venoso. Modificado de Tripodi <i>et al.</i>	27
Figura 3.	Componentes envolvidos na cascata de coagulação (Cópia de Rezende, 2010).	28
Figura 4.	Fluxograma do estudo. TRM: Trauma Raquimedular; TEV: Tromboembolismo Venoso; TP: Tempo de Protrombina; TTPA: Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada.	34
Figura 5.	Imagem de scan duplex venoso do membro inferior direito mostrando trombose proximal do sistema profundo, junto à junção safeno-femoral.	43
Figura 6.	Relação entre homocisteína e Tromboembolismo Venoso (TEV).	47
Figura 7.	Relação entre fator V de Leiden e Tromboembolismo Venoso (TEV).	47
Figura 8.	Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPaA). Houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. $p=0,03$. TEV: Tromboembolismo Venoso.	48
Figura 9.	Fator VIII. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.	48

Figura 10.	Tempo de atividade da protrombina. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.	49
Figura 11.	Fibrinogênio coagulável. Houve tendência à diferença quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. $p = 0,08$. TEV: Tromboembolismo Venoso.	49
Figura 12.	Proteína C da coagulação. Houve diferença na dosagem da proteína C da coagulação quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. $p < 0,0001$. TEV: Tromboembolismo Venoso.	50
Figura 13.	Proteína S antígeno livre. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.	50
Figura 14.	Antitrombina. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.	51
Figura 15.	<i>Scatter plot</i> mostrando a correlação direta entre idade e homocisteína, $p = 0,007$.	51
Figura 16.	<i>Scatter plot</i> mostrando a correlação direta entre idade e homocisteína, $p = 0,007$	52
Figura 17.	D-Dímero. Houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. $p = 0,01$. TEV: Tromboembolismo Venoso.	54
Figura 18.	<i>Scatter plot</i> mostrando a correlação direta entre dosagem de D-Dímero e Fibrinogênio coagulável ($p < 0,0001$).	56
Figura 19.	<i>Scatter plot</i> mostrando a correlação entre dosagem de D-Dímero e Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPaA). Houve correlação direta ($p = 0,01$).	57
Figura 20.	<i>Scatter plot</i> mostrando a correlação direta entre dosagem de D-Dímero e Dosagem do fator VIII ($p < 0,0001$).	58
Figura 21.	<i>Scatter plot</i> mostrando a correlação entre dosagem de D-Dímero e Anticorpos Anti cardiolipina IgG. Houve tendência à correlação direta ($p = 0,05$).	58
Figura 22.	<i>Scatter plot</i> mostrando a correlação entre dosagem de D-Dímero e Tempo de atividade da protrombina. Houve tendência à correlação inversa ($p = 0,05$).	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Fatores de risco significativos e razões de chances para tromboembolismo venoso desenvolvido pelo <i>National Trauma Data Bank</i> .	17
Tabela 2.	Causas de hiperhomocisteinemia.	18
Tabela 3.	Tabela 3. Limitações para o uso do D-Dímero no diagnóstico de TEV.	27
Tabela 4.	Sequências dos <i>primers</i> e sondas para fator V de Leiden.	37
Tabela 5.	Sequências dos <i>primers</i> e sondas para protrombina.	37
Tabela 6.	Fatores associados a Tromboembolismo Venoso – Análise simples.	45
Tabela 7.	Fatores associados a Tromboembolismo Venoso – Análise simples.	46
Tabela 8.	Fatores associados à TEV – Análise de regressão múltipla.	53
Tabela 9.	Associação entre características e alteração na dosagem de D- Dímero.	54

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Etiologias mais frequentes apresentadas pelos pacientes do estudo. TEV: Tromboembolismo Venoso. 1= ferimento com arma de fogo; 2= queda; 3= acidente automobilístico; 4= outras etiologias. **41**
- Gráfico 2.** Tempo em anos do Trauma Raquimedular em pacientes com e sem Tromboembolismo Venoso (TEV). **42**
- Gráfico 3.** Classificação ASIA. 1= ASIA A (comprometimento sensorial e motor completos); 2= ASIA B (perda de função motora com função sensitiva preservada abaixo do nível neurológico incluindo a sensibilidade do nervo sacral S4-S5); 3= ASIA C (mais de 50% dos músculos principais abaixo da lesão neurológica apresentando força menor que grau 3); 4= ASIA D (mais de 50% dos músculos principais abaixo da lesão neurológica apresentando força maior ou igual que grau 3). TEV: Tromboembolismo Venoso. **57**

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AIS: ASIA Impairment Scale

ASIA: American Spinal Injury Association

EDTA: Etilenodiaminotetraacetato

EP: Embolia pulmonar

FVL: Fator V de Leiden

HBPM: Heparina de baixo peso molecular

HNF: Heparina não fracionada

ICAM: Molécula de adesão intracelular

Ig: Imunoglobulina

IIQ: intervalos interquartis

IL: Interleucina

LM: Lesão Medular

PCR: Reação em cadeia da polimerase

pb: pares de bases

PAI: Plasminogênio

TEV: Tromboembolismo Venoso

Tm: melting temperature

TNF: Fator de necrose tumoral

t-PA: Tissue plasminogen activator

TP: Tempo de Protrombina

TRM: Trauma Raquimedular

TTPA: Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

TVP: Trombose Venosa Profunda

SUMÁRIO

<u>1. INTRODUÇÃO</u>	<u>15</u>
1.1 TROMBOEMBOLISMO VENOSO	16
1.2 LESÃO MEDULAR E TRAUMA RAQUIMEDULAR	22
<u>2. OBJETIVOS</u>	<u>30</u>
<u>3. MÉTODOS</u>	<u>32</u>
3.1 DELINEAMENTO E POPULAÇÃO DO ESTUDO	33
3.2 VARIÁVEIS DO ESTUDO.....	35
3.3 EXAMES LABORATORIAIS	35
3.4 PCR EM TEMPO REAL	36
3.5 EXAMES DE ULTRASSONOGRAFIA.....	37
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
<u>4. RESULTADOS.....</u>	<u>40</u>
4.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA	41
4.2 FATORES ASSOCIADOS A TROMBOEMBOLISMO VENOSO	43
4.3 D-DÍMERO	53
<u>5. DISCUSSÃO</u>	<u>60</u>
<u>6. CONCLUSÕES</u>	<u>72</u>
<u>7. REFERÊNCIAS.....</u>	<u>74</u>

1. INTRODUÇÃO

1.1 TROMBOEMBOLISMO VENOSO

O tromboembolismo venoso (TEV), que engloba a trombose venosa profunda (TVP) e a embolia pulmonar (EP), é considerado uma doença comum, com incidência anual de um a três casos por 1000 indivíduos (AITO et al., 2002; SILVERSTEIN et al., 1998).

Vários trabalhos têm mostrado os fatores de risco para TEV, incluindo idade, gênero feminino, fraturas pélvicas e das extremidades inferiores, dano cerebral traumático e lesão medular (PAFFRATH et al., 2010; AZU et al., 2007; JONES et al., 2005). Outros fatores de risco adquiridos para TEV incluem hábitos sedentários e tabagismo, anti-coagulante tipo lúpico, anticorpo anti-cardiolipina, hiperhomocisteinemia e aumento de fatores da coagulação, principalmente fator VIII e fator I (GREEN et al., 2003; BRANDT et al., 1995). A tabela 1 mostra uma análise dos fatores de risco para TEV em pacientes incluídos no *American College of Surgeons National Trauma Data Bank* (KNUDSON et al., 2004)

Tabela 1. Fatores de risco significativos e razões de chances para tromboembolismo venoso desenvolvido pelo *National Trauma Data Bank*.

Fator de risco (número em risco)	Razão de chances (95% IC)
Idade $\geq$ 40 anos (n = 178.851)	2.29 (2.07-2.55)
Fratura pélvica (n = 2707)	2.93 (2.01-4.27)
Fratura da extremidade inferior (n = 63.508)	3.16 (2.85-3.51)
Lesão medular com paralisia (n = 2852)	3.39 (2.41-4.77)
Lesão na cabeça (escore AIS $\geq$ 3) (n = 52.197)	2.59 (2.31-2.90)
Dias no ventilador > 3 (n = 13.037)	10.62 (9.32-12.11)
Lesão venosa (n = 1450)	7.93 (5.83-10.78)
Choque na admissão (PS < 90 mm Hg) (n = 18.510)	1.95 (1.62-2.34)
Procedimento cirúrgico principal (n = 73.974)	4.32 (3.91-4.77)

p<0,001 para todos os fatores

AIS, *American Injury Scale*, PS, pressão sanguínea

Modificado de KNUDSON et al, 2004.

A hiperhomocisteinemia ocorre quando o rim deixa de excretar homocisteína ou quando defeitos metabólicos levam ao excesso de homocisteína na corrente sanguínea (SELHUB, 1999). A hiperhomocisteinemia modifica os mecanismos homeostáticos levando à trombose. Trabalhos mostram que o estado protrombótico observado na hiperhomocisteinemia surge devido a diferentes fatores, como disfunção endotelial, ativação da coagulação e também alterações na fibrinólise (KOLODZIEJCZYK et al., 2010). Na tabela 2 estão representadas algumas causas para hiperhomocisteinemia (LENTZ; HAYNES, 2004).

Tabela 2. Causas de hiperhomocisteinemia.

<i>Hiperhomocisteinemia severa (> 100 umol/L)</i>
Homocisteinúria hereditária (ex, homozigoto para defeitos no metabolismo da metionina)
Desordens hereditárias na utilização da vitamina B ₁₂
Deficiência grave de vitamina B ₁₂
<i>Hiperhomocisteinemia moderada (30-100 umol/L)</i>
Insuficiência renal
Deficiência moderada de vitamina B ₁₂
Deficiência grave de ácido fólico
<i>Hiperhomocisteinemia leve (10-30 umol/L)</i>
Insuficiência renal
Transplante renal
Deficiência leve de ácido fólico
Deficiência leve de vitamina B ₁₂
Deficiência de vitamina B ₆
Hipotireoidismo
Alcoolismo
Medicações (niacina, fibratos, metotrexato, dentre outras)

Modificado de LENTZ; HAYNES (2004).

Além disso, diversos componentes genéticos também constituem fatores de risco para TEV. A maioria afeta as vias naturais de anti-coagulação, em particular o sistema da proteína C (BERTINA et al., 1994; FRANCO et al., 1999b). Resistência à proteína C ativada é o estado de hipercoagulabilidade mais frequentemente associado ao desenvolvimento

de TEV (BERTINA et al., 1994; TANG et al., 2012). É causada por uma mutação no gene do fator V de Leiden (FVL), em que ocorre a substituição de um único nucleotídeo (G1691A) no gene do fator V, promovendo a substituição do aminoácido Arg506Gln, o que provoca a ruptura do sítio de clivagem reconhecido pela proteína C ativada (FRANCO et al., 1999b). A mutação faz com que o Fator V fique resistente à clivagem e inativação pela proteína C ativada, condição conhecida como resistência à APC (SHAHEEN et al., 2012). A mutação só é encontrada em caucasianos, mas a sua prevalência varia entre os diferentes países (GREEN et al., 2003 a; FRANCO et al., 1999b).

O FVL é a mais comum trombofilia herdada, com prevalência de 3 a 7 % na população dos Estados Unidos, chegando a 50% em pacientes com TEV (REES et al., 1995; RIDKER et al., 1997; ROSENDAL et al., 1995). O Fator V possui papel fundamental tanto em vias pró-coagulantes quanto anticoagulantes e resulta em estado de hipercoagulabilidade tanto por aumentar a coagulação quanto por diminuir a anti-coagulação (JUUL et al., 2005; BERTINA et al., 1994; DAHLBÄCK, 1995).

A segunda mutação mais frequente é a que ocorre na posição 3 na região não traduzida do gene da protrombina (G 20210 A) (FRANCO et al., 1999c). Alterações genéticas menos frequentes são as deficiências nas proteínas naturais anticoagulantes, como a antitrombina, proteína C e proteína S (SELIGSOHN; LUBETSKY, 2001). A figura 1 mostra os mecanismos principais envolvidos no controle normal da coagulação e trombofilias herdadas (SELIGSOHN; LUBETSKY, 2001).

Figura 1. Mecanismos principais envolvidos no controle normal da coagulação e trombofilias herdasdas. O controle da coagulação é obtido pela via da proteína C e antitrombina. Na via da proteína C, trombina ligada à trombomodulina ativa a proteína C, que inativa os fatores V e VIII ativados na presença da proteína S, diminuindo a produção de trombina. A neutralização da trombina ocorre pela antitrombina ligada ao heparan sulfato. Nas trombofilias herdasdas, a deficiência de antitrombina, proteínas C ou S, elevada atividade do fator V ou atividade aumentada da protrombina resulta em redução da neutralização de trombina ou aumento na geração de trombina.

Embora vários estudos tenham avaliado fatores de risco genéticos e adquiridos em diversas populações mundiais, dados referentes a indivíduos brasileiros ainda são escassos. Além disso, a presença desses fatores no Brasil pode variar de forma expressiva devido à grande heterogeneidade da população (GUIMARÃES et al., 2009; RODRIGUES et al., 2004).

A TVP é definida como a interrupção do fluxo sanguíneo através das veias profundas devido à formação de um trombo ou coágulo, ocorrendo tipicamente após imobilização, trauma ou cirurgia, sendo mais frequente nos membros inferiores, porém pode-se formar também em veias dos membros superiores, mesentérica e cerebral (WARING; KARUNGA, 1991; MYLLYNEN et al., 1985; KUCHER, 2011).

Na parte venosa do sistema vascular, pode ocorrer uma série de alterações, acarretando uma maior possibilidade de evolução para quadros de TVP. Entre estas estão a paralisia parcial ou total dos músculos, afetando o

sanguíneo por alteração da competência venosa, ocasionando a diminuição da capacidade e distensibilidade do leito vascular e aumento na resistência ao fluxo venoso. Estes fenômenos desencadeiam mudanças metabólicas nos vasos sanguíneos gerando hipóxia que está associada à lesão nas células endoteliais da parede vascular, iniciando o processo de adesividade e agregação plaquetária, ativação da cascata da coagulação local; podendo levar a um quadro de trombose venosa (MERLI et al., 1993; GEERTS et al., 1994).

A EP surge em decorrência de complicações da TVP, com uma incidência anual estimada de aproximadamente 70 casos por 100 mil (SILVERSTEIN et al., 1998). Consiste na obstrução da artéria pulmonar ou suas ramificações, ocorrendo mais frequentemente quando um trombo ou parte dele forma um êmbolo, que percorre o sistema venoso através do ventrículo direito (BOPPARAJU et al., 2013; TORBICKI et al., 2008). O risco de recorrência é similar para EP e TVP, sendo maior nos primeiros 6 a 12 meses após um primeiro episódio (LAPORTE et al., 2008).

1.2 LESÃO MEDULAR E TRAUMA RAQUIMEDULAR

A medula espinhal é o órgão do sistema nervoso central responsável pela condução de todos os impulsos sensitivos até o encéfalo e das respostas efetoras descendentes do mesmo, controlando atividades motoras e viscerais (sistema nervoso autônomo). Na medula espinhal localizam-se os neurónios motores (somáticos) responsáveis pela inervação dos músculos e também os eferentes autônomos (simpáticos e parassimpáticos) (SILVERSTEIN et al., 1998 HEIT et al., 2000).

A Lesão Medular (LM) é o dano provocado ao tecido medular que acarreta alterações, em maior ou menor grau, em grande parte das funções fisiológicas de vários órgãos e sistemas, incluindo o sistema vascular. É mais comumente evidenciada por perda de sensibilidade e

motricidade abaixo do nível da lesão clinicamente avaliada (AHMAD et al., 2011).

A incidência de LM no mundo é aproximadamente 20 casos por milhão de habitantes, e nos Estados Unidos, de 40 casos por milhão. Caracteriza-se por ser a única doença com comprometimento de vários órgãos e sistemas do organismo simultaneamente, representando uma das mais catastróficas doenças da sociedade moderna, estando, nos dias de hoje, intimamente relacionada à violência, principalmente urbana (AHMAD et al., 2011).

A LM pode ser completa, quando o indivíduo não é capaz de exercer nenhum movimento voluntário abaixo da lesão, ou incompleta, quando é possível realizar algum movimento voluntário ou há alguma sensibilidade abaixo do nível da lesão. Causas não traumáticas que podem lesionar a medula são, por exemplo, hemorragias, tumores e infecções por vírus (CRONAN et al., 1987).

Com relação à patofisiologia da LM, estudos têm mostrado a existência de dois mecanismos de lesão, primária e secundária. A lesão primária diz respeito à ruptura de estruturas neurais e vasculares. Segue-se ao trauma inicial o mecanismo patogênico secundário, que envolve eventos moleculares e bioquímicos, como por exemplo, a infiltração de microglia/macrófagos e neutrófilos, levando à progressão da lesão primária (AKKOC et al., 2012; TATOR; KOYANAGI, 1997; DUCKER; ASSENMACHER, 1969; NOBLE et al., 2002; SAVILLE et al., 2004).

Por outro lado, microglia/macrófagos e células T podem secretar fatores promotores de neuroproteção e neuroregeneração após LM,

sugerindo uma função bilateral das células imunes no processo de LM (STIRLING et al., 2004; GUTH et al., 1994; RAPALINO et al., 1998; MOALEM et al., 1999; HAUBEN et al., 2001; LI et al., 2001; CRUTCHER et al., 2006). Várias citocinas pro-inflamatórias participam desse processo, como IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-2 e moléculas de adesão como ICAM-1 e também citocinas anti-inflamatórias, como IL-1RA e autoanticorpos contra a glicoproteína associada à mielina (YIN et al., 2006).

A incidência total de TVP dentro de três meses após LM é de 38% e a frequência de EP é de 5%, sendo o risco ainda maior nas primeiras duas semanas após a lesão (BOUTITIE et al., 2011; GEERTS et al., 2001; GREEN et al., 1990). Vários fatores associados à paralisia crônica podem justificar a menor incidência de EP após três meses de lesão, como por exemplo, atrofia muscular e o desenvolvimento de novas veias colaterais de menor calibre ao redor do trombo. Além disso, a espasticidade é uma das mais debilitantes complicações decorrentes de LM, sendo caracterizada por tônus muscular aumentado, que interfere com a mobilidade e atividades de vida diária dos pacientes (GREEN et al., 1988).

Simultaneamente à LM, ocorrem alterações na homeostase cardiovascular, incluindo hipotensão, bradiarritmia e até parada cardíaca nos estágios iniciais. Alguns trabalhos têm mostrado um maior risco de acidente vascular encefálico isquêmico após LM (PARZIALE et al., 1993).

O sistema fibrinolítico é composto pelo plasminogênio, que é uma pró-enzima, sendo convertida por ativadores a plasmina, que é a enzima

ativa. O principal ativador do plasminogênio na fibrinólise intravascular é o t-PA (*tissue plasminogen activator*) (GÜNDÜZ et al., 1993). A combinação dos fatores de risco explica o motivo pelo qual a terapia profilática anticoagulante não é eficiente em fornecer completa proteção contra TVP em pacientes com LM (WU et al., 2012).

O Trauma Raquimedular (TRM) é a lesão medular traumática, que afeta principalmente adultos jovens do sexo masculino entre 15 e 40 anos de idade. As causas primárias de TRM são acidentes de trânsito, lesões esportivas, agressões com armas de fogo, quedas domésticas e traumas no trabalho, que levam à lesão das estruturas medulares, interrompendo a passagem dos estímulos nervosos pela medula (CRONANN et al., 1987).

Rudolph Virchow em 1884 sugeriu que a trombose seria o resultado de pelo menos um de três fatores etiológicos: alterações de fluxo sanguíneo, lesão de células endoteliais e elaboração de pró-coagulantes levando ao estado de hipercoagulabilidade. As sequelas do TRM podem afetar os componentes da tríade clássica de Virchow responsáveis pela gênese de TEV (KYRLE et al., 2010; SEGAL et al., 2009). Já EP é a complicação grave sendo a segunda maior causa de morte nestes pacientes (RAMOS et al., 2006; KYRLE et al. 2010). A incidência de EP varia de 4,6 a 14% dos casos, sendo fatal entre 1,7-4,7% (RAMOS et al., 2006; Lijnen, 2002).

O estado de hipercoagulabilidade presente nos pacientes com TRM é resultante de múltiplos mecanismos, incluindo a ativação da cascata de coagulação, alterações nas células endoteliais e das células

do sangue (KEARON et al., 2012; KYRLE et al., 2010). A obstrução do vaso, a inatividade e a atrofia muscular levam a uma adaptação vascular e estase crônica; assim, os pacientes ficam susceptíveis a novos quadros trombóticos (KIM et al., 1994, MYLLYNEN et al., 1985).

Sabe-se que as variações circadianas dos vários fatores da hemostasia e do sistema fibrinolítico estão prejudicadas nos pacientes com TRM (WU et al., 2012; FRANCO et al., 1999a). Já está bem estabelecido na literatura que a atividade fibrinolítica e hemostática estão alteradas em pacientes com TRM, embora a maioria dos estudos limite-se à avaliação de poucos parâmetros para determinar um possível estado protrombótico nos pacientes. Alguns trabalhos mostraram elevados níveis do cofator ristocetina, fator VIII e D-Dímero (WU et al., 2012; KIM et al. 1994).

O D-Dímero é um produto decorrente da decomposição da fibrina que sofre ação de três enzimas: trombina, fator XIII ativado e plasmina, sendo por isso elevado em pacientes com TVP, especialmente 48 horas após a lesão (IVERSEN et al., 2002). O D-Dímero também é encontrado em altas concentrações em eventos não trombóticos, como câncer, acidente vascular encefálico, insuficiência cardíaca congestiva, síndrome do desconforto respiratório agudo, dentre outros. Embora não seja específico para o diagnóstico de condições trombóticas como TEV, possui alto valor preditivo negativo (figura 2 e tabela 3) (ROSSI et al., 1980).

Figura 2. Algoritmo para o diagnóstico de TEV descrevendo a utilidade do teste do D-Dímero combinado com a probabilidade de pré-testes clínicos. TEV: Tromboembolismo venoso. Modificado de TRIPODI et al. 2011.

Tabela 3. Limitações para o uso do D-Dímero no diagnóstico de TEV.

<p>D-Dímero não pode ser usado com segurança nas seguintes situações:</p> <ul style="list-style-type: none"> Pacientes com sintomas de TEV > 14 dias Pacientes com hipofibrinólise Pacientes com suspeita de TEV recebendo heparina ou anticoagulantes orais
<p>D-Dímero deve ser usado com cautela nas seguintes situações:</p> <ul style="list-style-type: none"> Pacientes com TEV recorrente Pacientes idosos Pacientes hospitalizados

TEV: Tromboembolismo venoso. Modificado de TRIPODI et al. 2011.

Nos últimos anos, houve grande avanço na busca por tratamentos tromboprolifáticos, e a heparina de baixo peso molecular (HBPM) e a

administração diária de enoxaparina 40 mg mostrou-se benéfica para a trombopprofilaxia de pacientes com LM aguda (FRISBIE; SASAHARA, 1981).

A avaliação da melhor terapia para cada paciente e análise da gravidade da LM progrediram após a criação da escala de Deficiência da Associação Americana de LM - ASIA (*American Spinal Injury Association*) ou AIS (*ASIA Impairment Scale*) criada em 1992, com revisão mais recente em 2011, e adotada mundialmente nos centros especializados de atendimento de pessoas com LM. Esta classificação é definida, segundo modificação de Frankel, como ASIA A: comprometimento motor e sensorial completos; ASIA B: perda de função motora com função sensitiva preservada abaixo do nível neurológico incluindo a sensibilidade do nervo sacral S4-S5; ASIA C: mais de 50% dos músculos principais abaixo da lesão neurológica apresentando força menor que grau 3; ASIA D: mais de 50% dos músculos principais abaixo da lesão neurológica apresentando força maior ou igual que grau 3; ASIA E: função normal sensória e motora. Em resumo as classificações ASIA A e B são lesão motora completa e ASIA C e D lesão motora incompleta (MAURO et al., 2004).

Apesar do conhecimento vigente acima descrito sobre os fatores de risco e TEV na população em geral, pouco se sabe sobre o impacto dos mesmos no desenvolvimento de fenômenos tromboembólicos em pacientes com LM, objeto do presente estudo.

2. OBJETIVOS

Considerando que os dados disponíveis são escassos o objetivo deste trabalho é descrever o impacto das deficiências dos fatores da coagulação adquiridas ou hereditárias no desenvolvimento de fenômenos tromboembólicos em pacientes portadores de Trauma Raquimedular.

3. MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO E POPULAÇÃO DO ESTUDO

Estudo observacional, prospectivo e cruzado. Os pacientes (n=100) foram recrutados do Instituto de Medicina Física e Reabilitação da Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina do Hospital das Clínicas – IMREA / Rede Lucy Montoro, de Janeiro de 2011 a Abril de 2012. O protocolo foi conduzido de acordo com as normas éticas do instituto de experimentação humana e a aprovação foi obtida junto ao Comitê de Ética local (1201/09). O consentimento informado foi obtido de todos os pacientes anteriormente à inclusão. Pacientes elegíveis tinham Lesão Medular por Trauma Raquimedular, idade superior a 18 anos; os critérios de exclusão foram pacientes com Lesão Medular por outras razões (não por Trauma Raquimedular), como câncer, lúpus, esclerose múltipla compressão espinhal por herniação discal, sequelas motoras de Acidente Vascular Encefálico, ou sujeitos que apresentavam sinais clínicos compatíveis com infecção. O fluxograma está representado na Figura 4.

Figura 4. Fluxograma do estudo. TRM: Trauma Raquimedular; TEV: Tromboembolismo Venoso; TP: Tempo de Protrombina; TTPA: Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada.

3.2 VARIÁVEIS DO ESTUDO

As variáveis investigadas foram: idade, gênero, raça, tipo de Lesão Medular (paraplegia ou tetraplegia); tempo de lesão, etiologia da Lesão Medular e grau de lesão sensorial e motora, utilizando o *ASIA Impairment Scale (AIS)*, ou Escala de Deficiência da Associação Americana de Lesão Medular (ASIA) (GEERTS et al., 2001).

Outras variáveis analisadas foram: avaliação de trombose venosa por Ultrassonografia Duplex Scan, exames laboratoriais, tempo de protrombina, fibrinogênio coagulável, dosagem de fator VIII, proteína C da coagulação, proteína S antígeno livre, antitrombina, pesquisa para lúpus anticoagulante, anticorpos cardiolipina IgG, IgM e IgA, fator V de Leiden, mutação da protrombina (fator II) e dosagem de Dímero D.

3.3 EXAMES LABORATORIAIS

Amostras de sangue foram colhidas para exames de coagulação, hemograma, PCR em tempo real e análises bioquímicas. Plasma foi congelado a -70°C para avaliar o tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), fibrinogênio, Fator VIII, Dímero D quantitativo, proteínas C, S e AT e pesquisa para lúpus anticoagulante. Soro foi refrigerado a -4°C para análise de anticorpos cardiolipina IgG, IgM e IgA e homocisteína. O DNA foi obtido de amostras colhidas em

tubos EDTA e refrigeradas a -4°C, para análise da presença de mutações no fator V de Leiden factor V e protrombina (G20210 A).

As análises laboratoriais foram realizadas no Departamento de Patologia Clínica do Hospital Israelita Albert Einstein para determinação da Razão Normalizada Internacional, fibrinogênio, dosagem de fator VIII, proteínas C, S e AT, Dímero D quantitativo, pesquisa para lúpus anticoagulante, anticorpos cardiolipina IgG, IgM e IgA, homocisteína e testes genéticos.

3.4 PCR EM TEMPO REAL

DNA genômico foi obtido de 200 uL de sangue periférico usando o bioMérieux NucliSens easyMAG. PCR em tempo real foi realizado para investigar as mutações nos genes da protrombina (G20210A) e fator V de Leiden (G1691A), usando sondas Taqman ABI7500 e kits para discriminação alélica ABI Taqman (Applied Biosystem). As sequências dos *primers* e sondas são mostradas nas tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Sequências dos *primers* e sondas para fator V de Leiden.

Sequência	Fator V de Leiden				
Tipo	Nome	Sequência	pb início	pb parada	Tm
<i>Forward Primer</i>	FVPF	CGCCTCTGGGC TAATAGGACTA	70	91	59
<i>Reverse Primer</i>	FVPR	TGTTCTAGCCAGAA GAAATTCTCAGAA	194	168	60
Sonda 1	FVS1	CCTGGACAG GCAAG	115	128	66
Sonda 2	FVS2	CCTGGACAG GCGAG	115	128	67

pb: pares de bases, Tm: *melting temperature*.

Tabela 5. Sequências dos *primers* e sondas para protrombina.

Sequência	Fator V de Leiden				
Tipo	Nome	Sequência	pb início	pb parada	Tm
<i>Forward Primer</i>	PROTF	GGAACCAATCCC GTGAAAGA	76	91	59
<i>Reverse Primer</i>	PROTR	TGAATAGCACTG GGAGCATTGA	173	168	60
Sonda 1	PRO1	TAAAAGTGACT CTCAGCAAG	130	128	66
Sonda 2	PRO2	TAAAAGTGAC TCTCAGCGAG	130	128	67

pb: pares de bases, Tm: *melting temperature*.

3.5 EXAMES DE ULTRASSONOGRRAFIA

Foi realizado estudo ultrassonográfico dos sistemas venoso superficial e profundo dos membros inferiores empregando-se transdutor linear de 7,5 MHz, utilizando-se equipamento da Siemens – Sonoline G40. Foram empregadas as técnicas ecográficas Bidimensional, Doppler

pulsado e Doppler com mapeamento de fluxo e cores. As sondas apropriadas foram selecionadas de acordo com a profundidade dos vasos examinados.

Realizou-se uma análise ultrassonográfica cuidadosa do sistema venoso dos membros inferiores, incluindo as veias proximais e distais de acordo com protocolo padronizado. Ultrassonografia com Doppler foi realizada na veia femoral comum para análise do fluxo como uma medida de avaliação da perviedade da veia ilíaca, bem como imagem ao modo B.

Todo sistema venoso foi avaliado bilateralmente. As veias da panturrilha, que incluem as veias tibial posterior e anterior, e as veias fibulares até sua confluência, as veias dos gastrocnêmios (medial e lateral) e músculos sóleo (musculares); foram estudadas usando várias incidências: ântero-medial, posterior e pósterio-lateral. As veias foram investigados ao longo do seu trajeto, em vista transversal e longitudinal. As veias safenas magnas e parvas em suas junções com o sistema venoso profundo também foram estudadas. Os critérios de diagnóstico utilizados para confirmar ou excluir TVP basearam-se no teste de compressão e na ausência ou a presença de material endoluminal. O teste foi considerado negativo quando as veias estavam totalmente compressíveis e sem trombo. O teste foi considerado positivo quando havia incompressibilidade da veia combinada com a imagem direta de um trombo endoluminal.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram descritos por frequências absolutas e porcentagens, no caso das variáveis qualitativas ou por medianas e intervalos interquartis (IIQ) no caso das variáveis quantitativas, devido à assimetria observada nestas variáveis. A investigação dos fatores associados à ocorrência de trombose foi feita em duas etapas: análise simples, utilizando testes Qui-quadrado de Pearson, testes exatos de Fisher ou testes de Mann-Whitney para avaliar a associação entre as características de interesse e a ocorrência de trombose, e análise múltipla, utilizando modelos de regressão logística para verificar a influência conjunta das variáveis de interesse na ocorrência de trombose. As variáveis que apresentaram valor p menor ou igual a 0,20 na abordagem simples foram incluídas no modelo de análise múltipla, que foi submetido à seleção de variáveis passo a passo, que manteve no modelo apenas as variáveis com valor p menor que 0,05, além das variáveis de controle ASIA, Idade, Tipo de lesão e altura da lesão. As análises foram realizadas com o auxílio do programa SPSS versão 17.0 (SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.).

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Foram selecionados 100 indivíduos, sendo 72% do gênero masculino, 65% de cor branca, 51% tinham 39 anos ou menos, 46% entre 40 e 69 anos e 3% possuíam 70 anos ou mais. Todos eram portadores de Trauma Raquimedular (TRM), sendo que 63% apresentavam paraplegia e as etiologias mais frequentes estão representadas no gráfico 1. Este gráfico mostra as etiologias mais frequentes, em porcentagem, apresentadas pelos pacientes do estudo, separando os casos com e sem TEV.

Gráfico 1. Etiologias mais frequentes apresentadas pelos pacientes do estudo. TEV: Tromboembolismo Venoso. 1= ferimento com arma de fogo; 2= queda; 3= acidente automobilístico; 4= outras etiologias.

Quanto ao tempo de lesão, observou-se mediana de 1,3 anos entre os pacientes sem TEV e mediana de 2,4 anos entre os pacientes com TEV (Gráfico 2).

Gráfico 2. Tempo em anos do Trauma Raquimedular em pacientes com e sem Tromboembolismo Venoso (TEV).

A ocorrência de Tromboembolismo Venoso (TEV) foi confirmada em 17% dos pacientes que fizeram ultrassonografia (Doppler) de membro inferior bilateral. Apresentações clínicas foram ASIA A (41%), seguida por B (23%), C (19%) e D (17%); 9% dos pacientes tinham ossificação heterotrópica e 83% fizeram reabilitação. Todos os pacientes realizaram exames laboratoriais e de imagem (Figura 5).

Figura 5. Imagem de scan duplex venoso do membro inferior direito mostrando trombose proximal do sistema profundo, junto à junção safeno-femural.

4.2 FATORES ASSOCIADOS A TROMBOEMBOLISMO VENOSO

A investigação dos fatores associados mostrou que a ocorrência de trombose é mais frequente em indivíduos com paresia, que realizaram grandes cirurgias, com dosagem das proteínas C e S diminuídas (Tabela 6).

Após análise multivariada, foi encontrado que a ocorrência de Tromboembolismo Venoso (TEV) é maior entre indivíduos com homocisteína entre 15 e 30 micromol/L (razão de chances: 25,67; $p < 0,001$) e entre indivíduos com fator V de Leiden (razão de chances: 51,51; $p = 0,013$) (Tabela 7 e Figuras 6 e 7).

As figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14 mostram outros fatores relacionados ao TEV. Quando os dois grupos (com e sem

Tromboembolismo Venoso – TEV) foram comparados, houve diferenças significativas no tempo de tromboplastina parcial ativada ($p = 0,03$; Figura 8), tendência à diferença na dosagem do fibrinogênio coagulável ($p = 0,08$; Figura 11) e na proteína C da coagulação ($p < 0,0001$; Figura 12).

As correlações entre alguns fatores associados ao TEV são representadas nas Figuras 15 e 16. Houve correlação entre idade e homocisteína ($p = 0,007$) e tendência à correlação entre homocisteína e tempo de atividade da protrombina ($p = 0,08$).

Tabela 6. Fatores associados a Tromboembolismo Venoso – Análise simples.

	TEV				p
	Não		Sim		
	n	%	n	%	
Gênero					0,555
Feminino	22	78,6	6	21,4	
Masculino	61	84,7	11	15,3	
Idade					0,775
Até 39 anos	41	80,4%	10	19,6%	
Entre 40 e 69 anos	39	84,8%	7	15,2%	
70 anos ou mais	3	100,0%	0	0,0%	
Obesidade					>0,99
Não	81	82,7%	17	17,3%	
Sim	2	100,0%	0	0,0%	
Paresia					0,182
Não	19	95,0%	1	5,0%	
Sim	64	80,0%	16	20,0%	
Trauma					0,742
Não	16	80,0%	4	20,0%	
Sim	67	83,8%	13	16,2%	
Grandes cirurgias					0,020
Não	21	100,0%	0	0,0%	
Sim	62	78,5%	17	21,5%	
Falência respiratória					0,531
Não	80	83,3%	16	16,7%	
Sim	3	75,0%	1	25,0%	
Fratura de ossos longos					0,585
Não	78	82,1%	17	17,8%	
Sim	5	100,0%	0	0,0%	
Infecção grave e/ou hospitalar					>0,99
Não	24	82,8%	5	17,2%	
Sim	59	83,1%	12	16,9%	
Fibrinogênio Coagulável mg / dl					0,284
Até 399	46	86,8%	7	13,2%	
400 ou mais	37	78,7%	10	21,3%	
Dosagem do Fator VIII %					0,357
Até 149	64	85,3%	11	14,7%	
150 ou mais	19	76,0%	6	24,0%	
Dosagem da Proteína C da Coagulação %					0,170
Até 59	0	0,0%	1	100,0%	
60 ou mais	83	83,8%	16	16,2%	
Proteína S Antígeno Livre %					0,015
Até 54	1	25,0%	3	75,0%	
55 ou mais	82	85,4%	14	14,6%	

Continua

Tabela 7. Fatores associados a Tromboembolismo Venoso – Análise simples.

	TEV				p
	Não		Sim		
	n	%	n	%	
Homocisteína micromol/L					<0,001
Até 14	76	90,5%	8	9,5%	
15 a 30	7	43,8%	9	56,2%	
31 a 100	0	0,0%	0	0,0%	
>100	0	0,0%	0	0,0%	
Pesquisa de Anticoagulante Lúpico					>0,99
Negativo	79	82,3%	17	17,7%	
Positivo	4	100,0%	0	0,0%	
Anticorpos Anti cardiolipina IgG GPL					0,320
Até 14,9	75	82,4%	16	17,6%	
15 - 20	2	66,7%	1	33,3%	
20,1 ou mais	6	100,0%	0	0,0%	
Anticorpos Anti cardiolipina IgM MPL					0,683
Até 12,4	78	83,0%	16	17,0%	
12,5 - 20,0	2	66,7%	1	33,3%	
20,1 ou mais	3	100,0%	0	0,0%	
Fator V de Leiden					0,074
Não	82	84,5%	15	15,5%	
Sim	1	33,3%	2	66,7%	
Mutação da Protrombina (Fator II)					0,432
Não	81	83,5%	16	16,5%	
Sim	2	66,7%	1	33,3%	
Dosagem de D-Dímero ng / ml					0,050
<=500	47	90,4%	5	9,6%	
500-1000	19	86,4%	3	13,6%	
1000-2000	13	65,0%	7	35,0%	
2000-3000	3	75,0%	1	25,0%	
>3000	1	50,0%	1	50,0%	
Dosagem de D-Dímero ng / ml					0,041
<=500	47	90,4%	5	9,6%	
>500 (alterado)	36	75,0	12	25,0	
ASIA					0,869
A	33	80,5%	8	19,5%	
B	19	82,6%	4	17,4%	
C	17	89,5%	2	10,5%	
D	14	82,4%	3	17,6%	
Altura Lesão					0,218
Cervical	43	84,3%	8	15,7%	
Torácica	33	86,8%	5	13,2%	
Lombar	7	63,6%	4	36,4%	
Dosagem de hemoglobina – Mediana (IIQ)	14 (13 – 15)		14 (13 – 14)		0,874
Contagem de plaquetas x10 ³ / uL – Mediana (IIQ)	258 (218 – 301)		280 (195-335)		0,701
Tempo de lesão (anos) - Mediana (IIQ)	1,3 (0,8 – 2,5)		2,4 (1,6 – 4,0)		0,014

Figura 6. Relação entre homocisteína e Tromboembolismo Venoso (TEV).

Figura 7. Relação entre fator V de Leiden e Tromboembolismo Venoso (TEV).

Figura 8. Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPaA). Houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. $p=0,03$. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 9. Fator VIII. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 10. Tempo de atividade da protrombina. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 11. Fibrinogênio coagulável. Houve tendência à diferença quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. $p = 0,08$. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 12. Proteína C da coagulação. Houve diferença na dosagem da proteína C da coagulação quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. $p < 0,0001$. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 13. Proteína S antígeno livre. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 14. Antitrombina. Não houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 15. *Scatter plot* mostrando a correlação direta entre idade e homocisteína, $p = 0,007$.

Figura 16. *Scatter plot* mostrando a correlação entre homocisteína e tempo de atividade da protrombina. Houve tendência à correlação inversa ($p = 0,08$).

Entre outras características associadas à ocorrência de TEV, observou-se a presença do polimorfismo genético Fator V de Leiden em 3 pacientes, sendo 2 com TEV (66,7%) e do fator II da protrombina em 3 dos indivíduos, sendo 1 com TEV (33,3%).

Os fatores selecionados na abordagem simples foram avaliados conjuntamente na abordagem multivariada, em que se conclui que a ocorrência de TEV é maior entre indivíduos com hiperhomocisteinemia com valores entre 15 e 30 micromol/L (Razão de chances 25,67 – valor $p < 0,001$) e em indivíduos com Fator V de Leiden presente (Razão de chances 51,51 – valor $p = 0,013$). Observou-se grande variabilidade das estimativas de efeito, devido ao pequeno número de ocorrências de TEV (Tabela 8).

Tabela 8. Fatores associados à TEV – Análise de regressão múltipla.

	RC	95% IC para RC		p
		LI	LS	
Idade (Referência: Até 39 anos)				
40 ou mais	0,486	0,111	2,125	0,337
Homocisteína (Referência até 14)				
15 a 30	25,670	5,110	128,948	<0,001
Fator V Leiden (Referência: Não)				
Sim	51,508	2,333	1137,433	0,013
ASIA (Referência: A)				0,731
B	1,435	0,255	8,071	0,682
C	0,407	0,049	3,372	0,405
D	0,622	0,069	5,622	0,672
Tipo de Lesão (Referência: Paraplegia)				
Tetraplegia	0,338	0,049	2,347	0,273
Altura Lesão (Referência: Lesão Cervical)				0,575
Lesão Torácica	0,595	0,104	3,384	0,558
Lesão Lombar	1,674	0,160	17,471	0,667

4.3 D-DÍMERO

Investigou-se a presença de associação entre algumas características observadas e a alteração nos valores de D-Dímero (Tabela 9). Valores de D-Dímero acima da referência foram encontrados em 46% dos pacientes com paraplegia e em 51,4% dos pacientes com tetraplegia, porém não houve diferença significativa ($p = 0,607$). Além disso, alteração nos valores de D-Dímero quantitativo (acima de 500 mg/dL) foi vista em 70,6% dos pacientes que apresentaram TEV e em 43,4% dos que não apresentaram. Neste modelo, houve diferença significativa entre os grupos quando os valores de D-Dímero foram avaliados (Figura 17).

Tabela 9. Associação entre características e alteração na dosagem de D-Dímero.

	Dosagem de D-Dimero ng / mL				Valor p
	< =500		> 500		
	n	%	n	%	
Tipo de lesão medular					0,607
Paraplegia	34	54,0%	29	46,0%	
Tetraplegia	18	48,6%	19	51,4%	
ASIA					0,921
A	20	48,8%	21	51,2%	
B	12	52,2%	11	47,8%	
C	10	52,6%	9	47,4%	
D	10	58,8%	7	41,2%	
Idade					0,707
Até 39 anos	28	54,9%	23	45,1%	
40 a 69	23	50,0%	23	50,0%	
70 ou mais	1	33,3%	2	66,7%	
Fibrinogênio					
Coagulável mg / dl					<0,001
Até 399	39	73,6%	14	26,4%	
400 ou mais	13	27,7%	34	72,3%

Figura 17. D-Dímero. Houve diferença significativa quando os dois grupos foram comparados. Teste t não pareado. p= 0,01. TEV: Tromboembolismo Venoso.

Quanto à classificação ASIA, notou-se que as alterações tornaram-se menos frequentes à medida que o risco diminuiu, sendo que entre aqueles com classificação A, B, C e D, 51,2%, 47,8%, 47,4% e 41,2% respectivamente, apresentaram a alteração do D-Dímero maior que o valor de referência. Porém, não houve significância estatística ($p = 0,921$).

Observou-se que quanto maior a idade, mais frequente é a alteração do D-Dímero, embora não fosse estatisticamente significativo, sendo que entre indivíduos com idade até 39 anos 45,1%, entre 40 e 69 anos 50% e entre os 3 pacientes com mais de 70 anos 2 (66,7%) apresentaram a alteração ($p = 0,15$). Houve correlação direta entre alterações nos valores de D-Dímero e fibrinogênio ($p < 0,001$; Figura 18), sendo que alterações de D-Dímero em pacientes com valores acima de 500 são mais frequentes (72,3%) que entre os pacientes com dosagens normais (26,7%).

Figura 18. *Scatter plot* mostrando a correlação direta entre dosagem de D-Dímero e Fibrinogênio coagulável ($p < 0,0001$).

No Gráfico 3 estão representadas as porcentagens para a classificação ASIA e nas Figuras 19, 20, 21 e 22 as correlações entre D-Dímero e os fatores associados ao TEV. Houve correlações diretas entre D-Dímero e tempo de tromboplastina parcial ativada - TTPaA (Figura 19, $p = 0,01$) e entre D-Dímero e Fator VIII (Figura 20, $p < 0,0001$). Houve tendência à correlação direta entre D-Dímero e anticorpos anticardiolipina IgG (Figura 21, $p = 0,05$) e tendência à correlação inversa entre D-Dímero e tempo de atividade da protrombina (Figura 22, $p = 0,05$).

Gráfico 3. Classificação ASIA. 1= ASIA A (comprometimento sensorial e motor completos); 2= ASIA B (perda de função motora com função sensitiva preservada abaixo do nível neurológico incluindo a sensibilidade do nervo sacral S4-S5); 3= ASIA C (mais de 50% dos músculos principais abaixo da lesão neurológica apresentando força menor que grau 3); 4= ASIA D (mais de 50% dos músculos principais abaixo da lesão neurológica apresentando força maior ou igual que grau 3). TEV: Tromboembolismo Venoso.

Figura 19. *Scatter plot* mostrando a correlação entre dosagem de D-Dímero e Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPaA). Houve correlação direta ($p = 0,01$).

Figura 20 *Scatter plot* mostrando a correlação direta entre dosagem de D-Dímero e Dosagem do fator VIII ($p < 0,0001$).

Figura 21. *Scatter plot* mostrando a correlação entre dosagem de D-Dímero e Anticorpos Anti cardiolipina IgG. Houve tendência à correlação direta ($p = 0,05$).

Figura 22. *Scatter plot* mostrando a correlação entre dosagem de D-Dímero e Tempo de atividade da protrombina. Houve tendência à correlação inversa ($p = 0,05$).

5. DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo foi a alta ocorrência de TVP em pacientes com fator V de Leiden e hiperhomocisteinemia. Não houve associação entre LM e TVP, TEV ou trombofilia, ao contrário do que se esperava no início do estudo. Embora esta população tenha um estado de estase venosa em membro inferior (em decorrência da imobilidade) como um fator de risco crônico, a presença de outros fatores de risco, adquiridos e genéticos, não foi preponderante para o episódio trombótico, o que é diferente da população em geral.

Por meio de ultrassonografia com Doppler encontrou-se quadro de TEV em 17% dos pacientes estudados, em consulta de rotina no ambulatório. Porém, em nenhum dos casos havia uma suspeita clínica evidente, ou uma evolução e complicação para embolia pulmonar ou piora do quadro, sugerindo que existe uma adaptação do sistema vascular e provavelmente do sistema fibrinolítico, com atividade exacerbada, como um mecanismo protetor. Além disso, não houve relação entre o anticoagulante lúpico e anti-cardiolipina. Foram encontrados quatro casos com valores abaixo da referência de proteína C e S livre (sendo apenas um caso com dosagem inferior a 20% o que, do ponto de vista funcional, justificaria a ocorrência de trombose), seis casos com valores acima da referência de Fator VIII (um caso acima de 200%) e um caso com presença da mutação da protrombina. Não se evidenciou associação com anticoagulante tipo lúpico e anticardiolipina.

A TVP é uma doença multigênica e multifatorial; a inter-relação dos fatores de risco leva à trombose (ZOILER et al., 1999) Além disso, a idade é um risco isolado para TVP, principalmente a partir dos 40 anos

de idade (Guyatt et al., 2012). Em nosso estudo, 51% dos pacientes tinham idade inferior a 40 anos (80,4% sem TVP e 19,6% com TVP). Embora os resultados não tenham apresentado significância estatística, a população do estudo, composta principalmente por jovens do sexo masculino, pode ter afetado os resultados, impactando a baixa frequência de trombose (17%). Estudo experimental utilizando fibrinogênio marcado com I¹²⁵ mostrou a presença de TVP em 100% dos pacientes avaliados com TRM agudo (AMERICAN SPINAL INJURY ASSOCIATION, 2011).

Vários fatores associados ao maior risco de TVP estão presentes em pacientes com LM. A estase venosa devido a repouso forçado e ausência de contração muscular frequentemente presentes no paciente com LM promovem a trombose venosa (SEGUAL et al., 1997; NICOLAIDES et al., 1972). Em estudo desenvolvido por Green e colaboradores (2003) foram descritos 243 pacientes com LM aguda, sendo que 21% tiveram TEV e os maiores fatores de risco nesta população foram idade acima de 35 anos associada a diagnóstico de câncer (GREEN et al., 2003).

Alguns trabalhos sugerem que é necessária a presença de mais de um fator de risco para a ocorrência de TEV, e que tais fatores podem ser temporários (reversíveis) ou persistentes (irreversíveis). Tal distinção é fundamental, já que a recorrência de TEV é maior nos casos associados a fatores de risco irreversíveis. Em algumas situações como deficiência de antitrombina e das proteínas C e S (que são fatores hereditários, portanto irreversíveis), o risco pode ser 10 vezes maior do que a população em geral. Já o fator V de Leiden e a mutação no gene

da protrombina estão associados a um risco de duas a cinco vezes maior do que na população sem tais alterações (SEGAL et al., 2009; FRANCO et al., 1999^a).

Um estudo desenvolvido por Guimarães e colaboradores (2009) analisou a frequência do fator V de Leiden e da mutação no gene da protrombina (G20210A) em 1103 indivíduos com suspeita de tromboembolismo em Minas Gerais, e foi encontrado que o fator V de Leiden é um importante fator de risco entre indivíduos com suspeita clínica de trombofilia (GUIMARÃES et al., 2009). Ramos e colaboradores (2006) analisaram a frequência do fator V de Leiden em 292 indivíduos sob investigação de trombofilia, residentes em Pernambuco, e 13,3% deles possuíam a mutação. Destes, 71,8% eram do sexo feminino e com idade mediana de 30 anos (RODRIGUES et al., 2004).

Outro trabalho também desenvolvido no Brasil avaliou as mesmas mutações em 42 pacientes com trombose venosa cerebral, comparados a 137 indivíduos saudáveis e foi encontrada a mutação G20210A da protrombina em 16,7% dos pacientes (e apenas 0,7% no grupo controle) e o fator V de Leiden em 4,8% da população analisada (e 2,2% no grupo saudável); os autores concluíram que apenas a mutação da protrombina é um fator de risco para trombose venosa cerebral (RAMOS et al., 2006).

A maioria dos estudos na literatura avaliaram pacientes com TRM agudo (GREEN et al., 2003; GEERTS et al., 1994; MYLLYNEN et al., 1985). No dia do estudo, os pacientes com tempo de lesão de mais de um ano (mediana de 1,3 anos entre os pacientes sem TVP e 2,4 anos entre os pacientes com TVP) foram analisados. Estudos anteriores

demonstraram uma adaptação de muitos sistemas biológicos e funcionais em pacientes com TRM (MYLLYNEN et al. 1985; KIM et al., 1994).

Estudos têm mostrado que a TVP ocorre com maior frequência em pacientes com TRM aguda, em consequência de paralisia e imobilização associados com tônus vascular diminuído e hipercoagulabilidade. A fase crônica da LM, por convenção, começa três meses depois da paralisia. Nesse período os pacientes começam a ser mobilizados, geralmente após a estabilização da coluna vertebral lesionada.

Em estudo recente, Pierfranceschi e colaboradores (2013) avaliaram o risco em curto e longo prazo de TEV em 94 indivíduos portadores de TRM, e os dados mostraram que mesmo sob tratamento profilático para trombose, a ocorrência de TEV nesses pacientes é elevada (23,4%), declinando após os três primeiros meses da lesão, atingindo níveis muito baixos após esse período nos pacientes avaliados (0,3 casos de TEV para cada 100 pacientes por ano).

A TVP na fase crônica do TRM é bem menos frequente em comparação com a fase aguda (KIM et al., 1994). Os fatores de risco encontrados na literatura para TVP são bem conhecidos e estão associados com muitas anormalidades de homeostase (MAMMEN, 1992; HIRSH et al., 1987). Fatores de risco para TVP em pacientes com TRM podem incluir qualquer um dos fatores mencionados anteriormente, mas principalmente paralisia, imobilidade prolongada, alterações da coagulação, e trauma (KIM et al., 1994).

Muitos fatores podem contribuir para a ocorrência relativamente elevada de trombose nestes pacientes. O estado permanente de

vasodilatação venosa nos membros inferiores promove uma velocidade menor do fluxo sanguíneo e estase como constantes fatores de risco. Estudos experimentais de transecção espinal em camundongos mostraram aumento de 1,5 vezes nos diâmetros das veias femoral e safena (MYLLYNEN et al., 1985).

Pacientes com TRM apresentam frequentemente desidratação e aumento secundário da viscosidade do sangue, levando a complicações da estase e hipóxia locais. Estudo desenvolvido por Ersoz e colaboradores (1999) demonstrou estado de hiper-agregação plaquetária induzida pelo colágeno por até 48 semanas após a LM (ERSOZ et al., 1999).

A lesão da camada íntima vascular pode ocorrer após traumas sobre os membros inferiores durante a movimentação dos pacientes, durante as transferências da cama para cadeira de rodas e vice-versa. Estas lesões podem levar a ativação dos mecanismos da coagulação e gerar um estado protrombótico (GREEN et al., 2003).

O grau de paralisia muscular é diretamente proporcional ao estado de estase por diminuição do fluxo sanguíneo, devido à perda do efeito compressivo de bombeamento dos músculos. Esta relação explica a maior ocorrência de TVP na paralisia flácida (MIRANDA; HASSOUNA, 2000). Estudo realizado por Boudaoud e colaboradores (1997), simulou estado de venoestase em membro superior e inferior, em 15 pacientes com paraplegia ou tetraplegia, até seis meses do TRM, comparando com 10 voluntários normais. O objetivo do estudo foi avaliar o sistema fibrinolítico e o risco de trombose venosa profunda após o TRM. Após a

venoestase nos membros superiores, o ativador do plasminogênio tecidual (tPA) aumentou significativamente em pacientes em comparação com o grupo controle, mas não foram observadas alterações significativas nos membros inferiores. A estase prolongada não permitiu que o nível de resposta fibrinolítica nos membros inferiores fosse o mesmo que o observado nos membros superiores. A dosagem do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI- 1) não se alterou significativamente após a indução de um estado hipóxico, embora houvesse variação de doses entre os indivíduos. Nesse estudo, 75% dos pacientes com trombose tinham níveis aumentados de D-Dímero, mas todos os pacientes apresentavam níveis normais de complexo trombina-antitrombina e fragmentos de protrombina 1+2. A permanência do processo trombótico, caracterizado por níveis aumentados de D-Dímero sem recuperação do sistema fibrinolítico sugere tratamento antitrombóticos perene em doses terapêuticas (BOUDAUD et al., 1997).

Há trabalhos mostrando que a interrupção dos impulsos neurológicos e consequente paralisia nos pacientes com LM causa modificações metabólicas nos vasos sanguíneos responsável pela trombose venosa (WU et al., 2012; BOUDAUD et al., 1997). Neste contexto, a deficiência da atividade fibrinolítica resulta em perda de proteção contra trombose. A fibrinólise não é relacionada à hipercoagulabilidade, porém está intimamente relacionada à integridade das células endoteliais e contribui para a persistência da oclusão venosa pela trombose (GÜNDÜZ et al. 1993).

Iversen publicou um estudo em 2002 avaliando a relação entre anormalidades hemostáticas e tetraplegia, concluindo que variações circadianas em vários fatores de coagulação e do sistema fibrinolítico são aumentadas em pacientes com TRM. Os autores encontraram níveis aumentados pela manhã da atividade do Fator VIII, fragmentos 1+2 da protrombina, D-Dímero e PAI-1 nos indivíduos controles. A hipofibrinólise ocorrendo simultaneamente à aparente hipercoagulabilidade pode estar relacionada à maior ocorrência de TEV. Este efeito é devido a uma possível alteração do reflexo do sistema nervoso autônomo, levando a uma disfunção entre os osciladores circadianos central e periférico (IVERSEN et al., 2002).

Green e colaboradores (1992) relataram que o desenvolvimento da espasticidade não parece prevenir a trombose. Kim e colaboradores (1994) descreveram prevalência de 19% de TVP em 43 pacientes com TRM crônica, conforme determinado por angiografia de radionuclédeos. Os resultados deste estudo foram semelhantes aos nossos resultados de 17%, em que a Ultrassonografia com Doppler foi utilizada para diagnosticar TVP.

Lamb e colaboradores (1993) identificaram 10% de TVP em 287 pacientes com média de 13,7 anos após a lesão. A incidência de TEV clinicamente significativa no TRM diminui dramaticamente após os primeiros seis meses para um nível semelhante ao que ocorre na população em geral (0,18 por cento). Os autores fornecem três possíveis explicações para esses achados: 1) a TVP está relacionada a anormalidades no processo de coagulação sanguínea associadas à lesão

aguda e não seria diretamente influenciada pela imobilização; 2) podem surgir adaptações fisiológicas na lesão crônica que previnem a TVP; 3) a TVP ocorre nos pacientes crônicos, mas permanece subclínica.

A TRM afeta 10 mil pacientes por ano nos Estados Unidos. A incapacidade associada com TRM (tetraplegia e paraplegia) depende do nível da lesão (cervical, torácica, ou lombar), e se a lesão é completa ou incompleta. Sem profilaxia, taxas de TVP foram relatadas em até 100 % dos pacientes com TRM (BRACH et al., 1977; MYLLYNEN et al., 1985). Dados mais recentes da literatura continuam a apresentar uma taxa elevada de TEV que varia de 5% a 70%, em pacientes com TRM aguda (JONES et al., 2005; SPINAL CORD INJURY THROMBOPROPHYLAXIS INVESTIGATORS, 2003). No entanto, vários estudos têm relatado que a incidência de TEV é maior em pacientes com paraplegia em comparação com tetraplegia, uma constatação um tanto contraditória (JONES et al., 2005; WARING et. al., 1991; CHEN et al., 1999)

Maung e colaboradores (2011), por meio de um estudo retrospectivo, analisaram um banco de dados de 18.302 pacientes com uma idade mediana de 43 anos, que foram admitidos com LM aguda por diferentes razões, não só trauma medular. A taxa global de TEV foi de 4,3%, o que é considerado baixo segundo a literatura. Os autores avaliaram a hipótese de que o nível da LM também influencia a probabilidade de TEV. Pacientes com LM ao nível da coluna cervical (C1-4) tiveram uma taxa de TEV de 3,4%, enquanto os pacientes com LM ao nível da coluna torácica (T1-6) tiveram a maior taxa de TEV, em 6,3%. A menor taxa de TEV foi encontrada em pacientes com lesão lombar

(3,2%). Os autores sugerem que indivíduos que sofrem lesão cervical morrem precocemente, o que poderia justificar a menor porcentagem de desenvolvimento de TEV nesse grupo.

Em nosso estudo, usando uma análise de regressão múltipla, foi demonstrado que não houve significância estatística nos fatores associados ao TEV: idade, classificação ASIA, tipo e nível da lesão. Apenas hiperhomocisteinemia e a mutação do fator V Leiden foram estatisticamente significativos. Quanto ao nível de lesão, o achado mais comum foi na coluna cervical, seguida pela coluna torácica e lombar. No entanto, os casos de TVP foram proporcionalmente mais comuns na coluna lombar (36,4 %), seguidos pela cervical (5,7%) e torácica (13,2%). Os resultados não foram estatisticamente significativos. O tamanho da amostra foi limitante para esta análise, a idade média dos pacientes era de 18 anos, e o tempo médio desde a lesão era mais de um ano.

Anteriormente à trombopprofilaxia pela utilização de heparina ter sido introduzida, pacientes portadores de TRM agudo tinham a maior incidência de trombose entre os pacientes hospitalizados (JONES et al., 2005; BOUTITIE et al., 2011; SEGAL et al., 2009; WARING et al., 1991; TRIPODI, 2011). Entre os pacientes que não receberam trombopprofilaxia, mais de 62% apresentavam TVP ou EP após TRM agudo (WARING et al., 1991). A heparina atua como anticoagulante, por formar um complexo com a antitrombina, catalisando a inibição de alguns fatores de coagulação: XIIa, XIa, IXa, Xa e trombina (conforme mostrado anteriormente na Figura 3). É utilizada em condições agudas, por ter ação imediata (GEERTS et al., 2004).

Rubin-Asher e colaboradores (2010) avaliaram a prevalência de fatores de risco herdados e adquiridos para trombose em pacientes portadores de TRM agudo que desenvolveram TVP mesmo após tratamento com heparina, comparados a indivíduos que receberam o mesmo tratamento, porém não desenvolveram TVP. Após avaliação de 276 pacientes, 22 deles desenvolveram TVP mesmo após tratamento adequado com heparina (RUBIN-ASHER et al., 2010)

Embora nossa amostra tenha sido relativamente pequena, a TVP em pacientes com TRM crônica parece ter pouca ou nenhuma relação com o tempo transcorrido desde o episódio causador da TRM (LAMB et al., 1993).

Em nosso estudo 75% dos pacientes com D-Dímero alterado (>500 ng/ml), não apresentaram TEV, comprovada por Ultrassom com Doppler; o que poderia sugerir que alteração no sistema fibrinolítico pode ser um mecanismo protetor para pacientes fora da fase aguda do TRM (> 1 ano de LM). O estudo citado anteriormente de Boudaoud e colaboradores (1997), simulou estado de venoestase em membro superior e inferior, em 15 pacientes com paraplegia ou tetraplegia. Neste grupo, 3 pacientes apresentavam TVP e todos apresentavam D-Dímero alterado (> 500 ng/ml), 12 pacientes não apresentavam TVP, sendo que 11 pacientes apresentavam D-Dímero alterado (91%), 6 (> 700 ng/ml) e 5 (> 1.000 ng/ml). Segundo este estudo, altos níveis de D-Dímero podem também ser devido à formação de trombina no extravascular, nas áreas de isquemia relacionadas com úlceras de pressão, que são comuns em pacientes com lesão medular e favorecido pelo período de repouso na

cama e o edema dos membros inferiores e às vezes pelo quadro de ossificação heterotrófica (BOUDAUD et al., 1997).

Não encontramos na literatura estudos que comprovem a hipótese de um estado de hiperfibrinólise como um mecanismo protetor de trombose e novas pesquisas nesta área serão importantes para melhor compreensão da adaptação do sistema da coagulação nos pacientes com TRM, principalmente com mais de 1 ano de lesão medular.

6. CONCLUSÕES

Existe uma importante diferença na incidência de TEV nos pacientes com LM por TRM agudo e após 1 ano.

A investigação laboratorial para trombofilia, que inclui os exames genéticos, imunológicos, coagulação e bioquímico; não devem ser solicitados de maneira sistemática para pacientes com LM por TRM. A decisão desta conduta deve estar embasada em fatores clínicos, fatores de risco associados para TEV e histórico familiar de trombose.

A adaptação do sistema venoso vascular e alterações do sistema fibrinolítico precisam ser melhor compreendidos e estudados nos pacientes com LM por TRM > 1ano.

Os pacientes do nosso estudo são acompanhados num importante Centro de Reabilitação Nacional, onde possuem todo o suporte clínico, psicológico e principalmente fisioterápico, com total orientação para pacientes e cuidador. Este fato pode ter impactado em nossos resultados e talvez não reflita a realidade de outros serviços.

7. REFERÊNCIAS

AHMAD, F.; WANG, M.Y.; LEVI, A.D. Hypothermia for Acute Spinal Cord Injury – A Review. **Neurotherapeutics**. v.8(2), p.229-239, 2011.

AITO, S.; PIERI, A.; D'ANDREA, M.; MARCELLI, F.; COMINELLI, E. Primary prevention of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in acute spinal cord injured patients. **Spin Cord**. v. 40 (6), p.300-303, 2002.

AKKOC, Y.; CINAR, Y.; KISMALI, E. Should complete and incomplete spinal cord injury patients receive the same attention in urodynamic evaluation and ultrasonography examinations of the upper urinary tract? **Int J Rehabil Res**. v.35(2), p.178-180, 2012.

AMERICAN SPINAL INJURY ASSOCIATION. International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury. Revised 2011, Atlanta, GA.

AZU, M.C.; MCCORMACK, J.E.; HUANG, E.C.; LEE, T.K.; SHAPIRO, M.J. Venous thromboembolic events in hospitalized trauma patients. **Am Surg**. v.73, p.1228-1231, 2007.

BERTINA, R.M.; KOELEMAN, B.P.; KOSTER, T.; ROSENDAA, L. F.R.; DIRVEN, R.J.; DE RONDE, H.; VAN DER VELDEN, P.A.; REITSMA, P.H. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance of activate protein C. **Nature**. v.369(6475), p.64-67, 1994.

BOPPARAJU, S.; VARON, J.; SURANI, S. Pulmonary embolism with vertebral augmentation procedures. **Case Rep Pulmonol**. 785307, 2013.

BOUDAUD, L.; ROUSSI, J.; LORTAT-JACOB, S.; BUSSEL, B.; DIZIEN, O.; DROUET L. Endothelial fibrinolytic reactivity and the risk of deep venous thrombosis after spinal cord injury. **Spinal Cord**. v.35, p.151-157, 1997.

BOUTITIE, F.; PINEDE, L.; SCHULMAN, S.; AGNELLI, G.; RASKOB, G.; JULIAN, J.; HIRSH, J.; KEARON, C. Influence of preceding length of

anticoagulant treatment and initial presentation of venous thromboembolism on risk of recurrence after stopping treatment: analysis of individual participants' data from seven trials. **Br Med J.** v.342, d3036, 2011.

BRACH, B.B.; MOSER, K.M.; CEDAR, L.; MINTEER, M.; CONVERY, R. Venous thrombosis in acute spinal cord paralysis. **J Trauma.** v.17, p.289 –292, 1997.

BRANDT, J.T.; TRIPLETT, D.A.; ALVING, B.; SCHARRER, I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: An Update on behalf of the subcommittee on lupus anticoagulant/ Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. **Thromb Haemost.** v.74(4), p.1185-1190, 1995.

CHEN, D.; APPLE, D.F. JR.; HUDSON, L.M.; BODE, R. Medical complications during acute 402 rehabilitation following spinal cord injury— current experience of the Model 403 Systems. **Arch Phys Med Rehabil.** v. 80, p.1397–1401, 1999.

CRONAN, J.J.; DORFMAN, G.S.; SCOLA, F.H.; SCHEPPS, B.; ALEXANDER, J. Deep venous thrombosis: US assessment using vein compression. **Radiology.** v.162(1 Pt 1), p. 191–194, 1987.

CRUTCHER, K.A.; GENDELMAN, H.E.; KIPNIS, J.; PEREZ-POLO, J.R.; PERRY, V.H.; POPOVICH, P.G.; WEAVER, L.C. Debate: “is increasing neuroinflammation beneficial for neural repair?”. **J Neuroimmune Pharmacol.** v.1, p.195–211, 2006.

DAHLBÄCK, B. New molecular insights into the genetics of thrombophilia. Resistance to activated protein C caused by Arg506 to Gln mutation in factor V as a pathogenic risk factor for venous thrombosis. **Thromb Haemost.** v.74, p.139–148, 1995.

DEEP, K.; JIGAJINNI, M.V.; MCLEAN, N.A.; FRASER, M.H. Prophylaxis of thromboembolism in spinal injuries ± results of enoxaparin used in 276 patients. **Spinal Cord**. v.39, p.88-91, 2001.

DUCKER, T.B.; ASSENMACHER, D.R. Microvascular response to experimental spinal cord trauma. **Surg Forum**. v.20:428-30, 1969

ERSOZ, G.; FICICILAR, H.; PASIN, M.; YORGANCIOGLU, R.; YAVUZER, S. Platelet aggregation in traumatic spinal cord injury. **Spinal Cord**. v. 37, p. 644-647, 1999.

FRANCO, R.F.; ELLION, J.; SANTOS, S.E.E.; ARAUJO, A.G.; TAVELLA, M.H. Heterogeneous ethnic distribution of the factor V leiden mutation. **Genet Mol Biol**. v..22 (2),p.143-5, 1999 a.

FRANCO, R.F.; ELLION, J.; TAVARELIA, M.H.; SANTOS, S.E.B.; ZAGO, M.A. The prevalence of fator V Arg~ —Thr (Factor V Cambridge) and fator V Arg~—Gly mutations in different human populations. **Thromb Haemost** . v. 81(2), p. 312-313, 1999 b.

FRANCO, R.F.; TRIP, M.D.; TEN CATE, H.; VAN DEN ENDEM, A.; PRINS, M.H.; KASTELEIN, J.J.; REITSMA, P.H. The 20210 G→A mutation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene and risk for arterial thrombotic disease. **Br J Haematol**. v.104, p.50-54, 1999 c.

FRISBIE, J.H.; SASAHARA, A.A. Low dose heparin prophylaxis for deep venous thrombosis in acute spinal cord injury patients: a controlled study. **Paraplegia**. v.19, p.343–346, 1981.

GEERTS, W.H.; CODE, K.I.; JAY, R.M.; CHEN, E.; SZALAI, J.P. A prospective study of venous Thromboembolism after major trauma. **N Engl J Med**. v.331(24), p.1601-1606, 1994.

GEERTS, W.H.; HEIT, J.A.; CLAGETT, P.G.; PINEO, G.F.; COLWELL, C.W.; FREDERICK, F. A. JR.; BROWNELL WHEELER, H.B. Prevention of venous thromboembolism. **Chest**. v.119(1 Suppl), p.132S-175S, 2001.

GEERTS, W.H.; PINEO, G.F.; HEIT, J.A.; BERGQVIST, D.; LASSEN, M.R.; COLWELL, C.W.; RAY, J.G. The Seventh ACCP Consensus on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: Prevention of Venous Thromboembolism. **Chest**. v.126, p.338S–400S, 2004.

GREEN, D.; HARTWIG, D.; CHEN, D.; SOLTYSIK, R.C.; YARNOLD, P.R. Spinal Cord Injury Risk Assessment for Thromboembolism (SPIRATE Study). **Arch J Phys Med Rehabil**. v.82(12):950-956, 2003.

GREEN, D.; HULL, R.D.; MAMMEN, E.F.; MERLI, G.J.; WEINGARDEN, S.I.; YAO, J.S. Deep vein Thrombosis in spinal cord injury. Summary and recommendations. **Chest**. v.102 (Suppl): 633S-635S, 1992.

GREEN, D.; LEE, M.Y.; ITO, V.Y.; COHN, T.; PRESS, J.; FILBRANDT, P.R.; VANDENBERG W.C.; YARKONY, G.M.; MEYER, P.R. JR. Fixed- vs adjusted-dose heparin in the prophylaxis of thromboembolism in spinal cord injury. **JAMA**. v.260(9), p.1255–1258, 1988.

GREEN, D.; LEE, M.Y.; LIM, A.C.; CHMIEL, J.S.; VETTER, M.; PANG, T.; CHEN, D.; FENTON, L.; YARKONY, G.M.; MEYER, P.R. JR. Prevention of thromboembolism after spinal cord injury using low-molecular-weight heparin. **Ann Intern Med**. v.113(8), p.571–574, 1990.

GUIMARÃES, S.P.; SOARES, J.B.B.; OLIVEIRA, V.C.; PARDINI, V.C.; FERREIRA, A.C.S. Mutações predisponentes à trombofilia em indivíduos de Minas Gerais – Brasil com suspeita clínica de trombose. **Rev Bras Hematol Hemoter**. v.31(1), p.19-24, 2009.

GÜNDÜZ, S.; OGUR, E.; MÖHÜR, H.; SOMUNCU, I.; AÇJKSÖZ, E.; USTÜNSÖZ, B. Deep vein thrombosis in spinal cord injured patients. **Paraplegia**. v.31(9), p.606-10, 1993.

GUTH, L.; ZHANG, Z.; DIPROSPERO, N.A.; JOUBIN, K.; FITCH, M.T. Spinal cord injury in the rat: treatment with bacterial lipopolysaccharide and indomethacin enhances cellular repair and locomotor function. **Exp Neurol**. v.126(1), p.76–87, 1994.

GUYATT GH, EIKELBOOM JW, GOULD MK, GARCIA DA, CROWTHER M.; MURAD MH; KAHN, S.R.; FALCK-YTTER, Y. ; FRANCIS, C.W. ; LANSBERG, M.G.; AKL, E.A.; HIRSH, J.MD. Approach to Outcome Measurement in the Prevention of Thrombosis in Surgical and Medical Patients Approach to Outcome Measurement: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. **CHEST**, v.141(2 Suppl): e185S-e94S, 2012.

HAUBEN, E.; AGRANOV, E.; GOTHILF, A.; NEVO, U.; COHEN, A.; SMIRNOV, I. Posttraumatic therapeutic vaccination with modified myelin selfantigen prevents complete paralysis while avoiding autoimmune disease. **J Clin Invest** . v.108, p.591–599, 2001.

HEIT, J.A.; MOHR, D.N.; SILVERSTEIN, M.D.; PETTERSON, T.M.; O’FALLON, W.M.; MELTON, LJ 3RD. Predictors of recurrence after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based cohort study. **Arch Intern Med**. v. 160(6), p.761–768, 2000.

HIRSH, J.; MARDER, V.; SALZMAN, E. **Homeostasis and thrombosis**. In chapter: The epidemiology of venous thrombosis. Lippincott, Philadelphia. p.1185-98, 1987.

IVERSEN, P.O.; GROOT, P.D.; HJELTNES, N.; ANDERSON, T.O.; MOWINCKEL, M.C.; SANDSET, P.M. Impaired circadian variations of haemostatic and fibrinolytic parameters in tetraplegia. **Br J Haemat**. v.119(4), p.1011-1016, 2002.

JONES, T., UGALDE, V., FRANKS, P., ZHOU, H., WHITE, R.H. Venous thromboembolism after spinal cord injury: incidence, time course, and associated risk factors in 16,240 adults and children. **Arch Phys Med Rehabil.** v. 86, p.2240–2247, 2005.

JUUL, K.; TYBJAERG-HANSEN, A.; MORTENSEN, J.; LANGE, P.; VESTBO, J.; NORDESTGAARD, B.G. Factor V Leiden homozygosity, dyspnea, and reduced pulmonary function. **Arch Intern Med.** v. 165, p.2032-6, 2005.

KEARON, C.; AKL, E.A.; COMEROTA, A.J.; PRANDONI, P.; BOUNAMEAUX, H.; GOLDBERGER, S.Z.; NELSON, M.E.; WELLS, P.S.; GOULD, M.K.; DENTALI, F.; CROWTHER, M.; KAHN, S.R.; AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS. Antithrombotic therapy for VTE disease: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. **Chest.** v.141, p.e419S–e494S, 2012.

KIM, S.W.; CHARALLEL, J.T.; PARK, K.W.; BAUERLE, L.C.; SHANG, C.C.; GORDON, S.K.; BAUMAN, W.A. Prevalence of deep vein thrombosis in patients with chronic spinal cord injury. **Arch Phys Med Rehabil.** v.75(9), p.965-968, 1994.

KNUDSON, M.M.; IKOSSI, D.G.; KHAW, L.; MORABITO, D.; SPEETZEN, L.S. Thromboembolism after trauma: an analysis of 1602 episodes from the American College of Surgeons National Trauma Data Bank. **Ann Surg.** v.240(3), p.490-496, 2004.

KOŁODZIEJCZYK, J.; MALINOWSKA, J.; NOWAK, P.; OLAS, B. Comparison of the effect of homocysteine and its thiolactone on the fibrinolytic system using human plasma and purified plasminogen. **Mol Cell Biochem.** v. 344, p.217–20, 2010.

KUCHER, N. Clinical practice. Deep-vein thrombosis of the upper extremities. **N Engl J Med.** v.364(9), p.861–869, 2011.

KYRLE, P.A.; ROSENDAAL, F.R.; EICHINGER, S. Risk assessment for recurrent venous thrombosis. **Lancet**. v.376, p.2032–2039, 2010.

LAMB, G.C.; TOMSKI, M.A.; KAUFMAN, J.; MAIMAN, D.J. Is chronic spinal cord injury associated with increased risk of venous thromboembolism? **J Am Paraplegia Soc**. v.16(3), p.153-6, 1993.

LAPORTE, S.; MISMETTI, P.; DÉCOUSUS, H.; URESANDI, F.; OTERO, R.; LOBO, J.L.; MONREAL, M.; RIETE INVESTIGATORS. Clinical predictors for fatal pulmonary embolism in 15,520 patients with venous thromboembolism: findings from the Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbolica venosa (RIETE) **Registry. Circulation**. v.117(13), p. 1711–1716, 2008.

LENTZ, S.R.; HAYNES, W.G. Homocysteine: Is it a clinically important cardiovascular risk factor? **Clev Clin J Med**. v.71(9), p.729-734, 2004.

LI, M.; CARPIO, D.F.; ZHENG, Y.; BRUZZO, P.; SINGH, V.; OUAAZ, F.; STEINMAN, L.; SCHWARTZ, M. An essential role of the NF-kappa B/Toll-like receptor pathway in induction of inflammatory and tissue-repair gene expression by necrotic cells. **J Immunol**. v.166, p.7128–7135, 2001.

LIJNEN, H.R. Non-haemostatic role of blood coagulation proteases and their receptors. **Biochem Soc Trans**. v.30, p.1631–1667, 2002

MAMMEN, E.F. Pathogenesis of venous thrombosis. **Chest**. v.102(suppl):640S-644S, 1992.

MAUNG, A.A.; SCHUSTER, K.M.; KAPLAN, L.J.; MAERZ, L.L.; DAVIS, K.A. Risk of venous thromboembolism after spinal cord injury: not all levels are the same. **J Trauma**. v.71(5), p.1241-1245, 2011.

MAURO, M.F.Z.; WANG, R.; CRISTÓVÃO, S.A.B.; SALMAN, A.A.; DE OLIVEIRA, J.B.; MANGIONE, J.A. Novos inibidores da trombina: Qual o estado atual das pesquisas? **Rev Bras Cardiol Invas**. v.12(3), p.130-137, 2004.

MERLI, G.J.; CRABBE, S.; PALUZZI, R.G.; FRITZ, D. Etiology, incidence, and prevention of deep vein thrombosis in acute spinal cord injury. **Arch Phys Med Rehabil.** v.74(11), p.1199-1205, 1993.

MIRANDA, A.R.; HASSOUNA, H.I. Mechanisms of thrombosis in spinal cord injury. **Hematol Oncol Clin North Am.** v.14, p.401-416, 2000.

MOALEM, G.; LEIBOWITZ-AMIT, R.; YOLE, E.; MOR, F.; COHEN, I.R.; SCHWARTZ, M. Autoimmune T cells protect neurons from secondary degeneration after central nervous system axotomy. **Nat Med.** v.5(1), p.49–55, 1999.

MYLLYNNEN, P.; KAMMONEN, M.; ROKKANEN, P.; BÖSTMAN, O.; LALLA, M.; LAASONEN, E. Deep venous thrombosis and pulmonary embolism in patients with acute spinal cord injury: a comparison with nonparalyzed patients immobilized due to spinal fractures. **J Trauma.** v.25(6), 541-543, 1985.

NICOLAIDES, A.N.; KAKKAR, V.V.; FIELDS, E.S.; FISH, P. Venous stasis and deep vein thrombosis. **Br J Surg.** v.59, p.713-716, 1972.

NOBLE, L.J.; DONOVAN, F.; IGARASHI, T.; GOUSSEV, S.; WERB, Z. Matrix metalloproteinases limit functional recovery after spinal cord injury by modulation of early vascular events. **J Neurosci.** v.22(17), p.7526–7535, 2002.

PAFFRATH, T.; WAFSAIDE, A.; LEFERING, R.; SIMANSKI, C.; BOUILLON, B.; SPANHOLTZ, T.; WUTZLERB, S.; MAEGELE, M. Trauma Registry of DGU. Venous thromboembolism after severe trauma: incidence, risk factors and outcome. **Injury.** v.41(1), p.97–101, 2010.

PARZIALE, J.R.; AKELMAN, E.; HERZ, D.A. Spasticity: pathophysiology and management. **Orthopedics.** v.16(7):801–811. 1993.

PIERFRANCESCHI, M.G.; DONADINI, M.P.; DENTALI, F.; AGENO, W.; MARAZZI, M.; BOCCHI, R.; IMBERTI, D. The short- and long-term risk of venous thromboembolism in patients with acute spinal cord injury. **Thromb Haemost.** v.109, p.34-38,2013

RAMOS, C.P.S.; CAMPOS, J.F.; MELO, F.C.B.C.; DAS NEVES, W.B.; DOS SANTOS, M.E.; ARAÚJO, F.A.; MELO, R.A.M. Frequência do fator V Leiden em indivíduos sob investigação de trombofilia, Recife, Pernambuco. **Brasil Rev Bras Hematol Hemoter.** v.28(2), p.131-134, 2006.

RAPALINO, O.; LAZAROV-SPIEGLER, O.; AGRANOV, E.; VELAN, G.J.; YOLE, E.; FRAIDAKIS, M.; SOLOMON, A.; GEPSTEIN, R.; KATZ, A.; BELKIN, M.; HADANI, M.; SCHWARTZ, M. Implantation of stimulated homologous macrophages results in partial recovery of paraplegic rats. **Nat Med.** v.4, p.814–821, 1998.

REES, D.C.; COX, M.; CLEGG, J.B. World distribution of factor V Leiden. **Lancet.** v. 346:1133–1134, 1995.

REZENDE, S.M. Distúrbios da hemostasia:doenças hemorrágicas. **Rev Med Minas Gerais.** v.20(4), p.534-553, 2010.

RIDKER, P.M.; MILETICH, J.P.; HENNEKENS, C.H.; BURING, J.E. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. **JAMA.** v.277, p.1305–307, 1997.

RODRIGUES, C.A.; ROCHA, L.K.A.; MORELLI, V.M.; FRANCO, R.F.; LOURENÇO, D.M. Prothrombin G20210A mutation, and not factor V Leiden mutation, is a risk factor for cerebral venous thrombosis in Brazilian patients. **J Thromb Haemost.** v.2, p.1211–1212, 2004.

ROSENDAAL, F.R.; KOSTER, T.; VANDENBROUCKE, J.P.; REITSMA, P.H. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). **Blood.** v.85:1504–1508, 1995.

ROSSI, E.C.; GREEN, D.; ROSEN, J.S.; SPIES, S.M.; JAO, J.S. Sequential changes in factor VIII and platelets preceding deep vein thrombosis in patients with spinal cord injury. **Brit J Haematol.** v.45, p.143–51, 1980.

RUBIN-ASHER D, ZEILIG G, RATNER A, ASHER I, ZIVELIN A, SELIGSOHN U, LUBETSKY A. Risk factors for failure of heparin thromboprophylaxis in patients with acute traumatic spinal cord injury. **Thrombosis Research.** v.125, p. 501-504, 2010.

SAVILLE, L.R.; POSPISIL, C.H.; MAWHINNEY, L.A.; BAO, F.; SIMEDREA, F.C.; PETERS, A.A.; O'CONNELL, P.J.; WEAVER, L.C.; DEKABAN, G.A. A monoclonal antibody to CD11d reduces the inflammatory infiltrate into the injured spinal cord: a potential neuroprotective treatment. **J Neuroimmunol.** 2004;156:42–57, 2004.

SEGAL, J.B.; BROTMAN, D.J.; NECOCHEA, A.J.; EMADI, A.; SAMAL, L.; WILSON, L.M.; CRIM, M.T.; BASS, E.B. Predictive value of factor V Leiden and prothrombin G20210A in adults with venous thromboembolism and in family members of those with a mutation: a systematic review. **JAMA.** v.;301, p.2472–2485, 2009.

SEGUAL, J.L.; GONZALES, E.; YOUSEFI, S.; JAMSHIDIPOUR, L.; BRUNNEMANN, S.R. Circulating levels of IL-2R, ICAM-1, and IL-6 in spinal cord injuries. **Arch Phys Med Rehab.** v.78, p.44-47, 1997.

SELHUB, J. Homocysteine metabolism. **Annu Rev Nutr.** v.19:217-46, 1999.

SELIGSOHN, U.; LUBETSKY A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. **N Engl J Med.** v.344(16), p.1222-31, 2001.

SHAHEEN, K.; ALRAIES, M.C.; ALRAIYES, A.H.; CHRISTIE, R. Factor V Leiden: How great is the risk of venous thromboembolism? **Clev Clin J Med.** v.79(4), p.265-272, 2012.

SILVERSTEIN, M.D.; HEIT, J.A.; MOHR, D.N.; PETTERSON T.M.; O'FOLLON, W.M.; MELTON, III J. Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. **Arch Intern Med.** v.158(6), p.585-593, 1998.

SPINAL CORD INJURY THROMBOPROPHYLAXIS INVESTIGATORS. Prevention of venous thromboembolism in the acute treatment phase after spinal cord injury: a randomized, multicenter trial comparing low-dose heparin plus intermittent pneumatic compression with enoxaparin. **J Trauma.** v.54, p.1116–1124, 2003.

STIRLING, D.P.; KHODARAHMI K.; LIU, J.; MCPHAIL, L.T.; MCBRIDE, C.B.; STEEVES, J.D.; RAMER, M.S.; TETZLAFF, W. Minocycline treatment reduces delayed oligodendrocyte death, attenuates axonal dieback, and improves functional outcome after spinal cord injury. **J Neurosci.** v.24, p.2182–2190, 2004.

TANG, L.; GUO, T.; YANG, R.; MEI, H.; WANG, H.; LU, X.; YU, J.; WANG, Q.; HU, Y. Genetic Background Analysis of Protein C Deficiency Demonstrates a Recurrent Mutation Associated with Venous Thrombosis in Chinese Population. **Plos One.** v. 7(4), p.1-9, 2012.

TATOR, C.H.; KOYANAGI, I. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. **J Neurosurg.** v.86(3), p.483-492, 1997.

TORBICKI, A.; PERRIER, A.; KONSTANTINIDES, S.; AGNELLI, G.; GALIÈ, N.; PRUSZCZYK, P.; BENDEL, F.; BRADY, A.J.B.; FERREIRA, D.; JANSSENS, U.; KLEPETKO, W.; MAYER, E.; REMY-JARDIN, M.; BASSAND, J-P. Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: the Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC). **Eur Heart J.** v.29(18), p.2276–2315, 2008.

TRIPODI, A. D-Dimer testing in laboratory practice. **Clin Chem.** v.57(9), p.1256-1262, 2011.

WAHL, W.L.; AHRNS, K.S.; ZAJKOWSKI, P.J.; BRANDT, M.M.; PROCTOR, M.; ARBABI, S.; GREENFIELD, L.J. Normal D-dimer levels do not exclude thrombotic complications in trauma patients. **Surgery**. v.134(4), p.529–533, 2003.

WARING, W.P.; KARUNAS, R.S. Acute spinal cord injuries and the incidence of clinically occurring thromboembolic disease. **Paraplegia**. v.29, p.8–16, 1991.

WU, J.C.; CHEN, Y.C.; LIU, L.; CHEN, T.J.; HUANG, W.C.; CHENG, H.; TUNG-PING, S. Increased risk of stroke after spinal cord injury: a nationwide 4-year follow-up cohort study. **Neurology**. V.78, p.1051–1057, 2012.

YIN, Y.; HENZL, M.T.; LORBER, B.; NAKAZAWA, T.; THOMAS, T.T.; JIANG, F.; LANGER, R.; BENOWITZ, L.I. Oncomodulin is a macrophage-derived signal for axon regeneration in retinal ganglion cells. **Nat Neurosci**. v.9, p.843–852, 2006.

ZOILER, B.; GARCIA, DE FRUTOS P.; HILLARP, A.; DAHLBACK, B. Thrombophilia as a multigenic disease. **Haematologica**. v.84, p. 59-70, 1999.

Apêndice

ORIGINAL ARTICLE

Impact of coagulation in the development of thromboembolic events in patients with spinal cord injury

JC de Campos Guerra^{1,2}, MA Mourão³, CN França^{4,5}, CDP da Rosa⁶ and MN Burattini^{1,7}

Study design: Although the knowledge described about risk factors and venous thromboembolism (VT) in the general population, the impact of these factors in the development of thromboembolic events in patients with spinal injury (SI) caused by spinal cord injury (SCI) is poorly understood.

Objective: Evaluate the impact of risk factors in the development of thromboembolic events in patients with SCI.

Setting: Brazil, São Paulo.

Methods: Observational, prospective and cross-study. Eligible patients ($n = 100$) had SI by SCI, >18 years. The degree of motor and sensory lesion was evaluated based on American Spinal Injury Association (ASIA) Impairment Scale (AIS). Blood samples were collected for coagulation exams, hemogram, laboratory and biochemical analyses. Ultrasonography analyzes were performed from deep and superficial venous systems of lower limbs. Quantitative real-time PCR experiments were performed in order to investigate mutations in the prothrombin (G20210A) and Leiden factor V (G1691A) genes.

Results: The main finding of this study was the higher occurrence of deep venous thrombosis (DVT) in patients with Leiden factor V and hyperhomocysteinemia. There was no association between SI for DVT, VT and thrombophilia. Also, there was no relation between lupus anticoagulant and anti-cardiolipin.

Conclusion: There is an important difference in the incidence of DVT in patients with SI by acute and chronic SCI. Therefore, the conduct of the investigation for thrombophilia should be based on clinical factors, risk factors for DVT and family history of thrombosis.

Spinal Cord advance online publication, 11 February 2014; doi:10.1038/sc.2013.170

Keywords: thromboembolism; spinal cord injury; Leiden factor V; hyperhomocysteinemia.

The venous thromboembolism (VT), that involves deep venous thrombosis (DVT) and pulmonary embolism, is considered a common disease, with annual incidence of one to three cases per 1000 individuals.¹ There are many factors related to VT, including age, male gender, pelvic and lower limb fractures and spinal injury (SI).²

It is well established in the literature the relation between DVT and SI. This incidence has increased in the last years,³ ranging between 18 and 100%, depending on the diagnostic methods used, lesion time, associated risk factors and prophylactic treatment.⁴ Sequelae from SI can affect the three components from classic Virchow triad, responsible for the genesis of VT: blood flow changes, endothelial cell damage and production of procoagulants, leading to hypercoagulability state. Besides, pulmonary embolism is the serious complication and is the second leading death cause in these patients. The incidence of pulmonary embolism varies between 4.6 and 14% of the cases, being fatal between 1.7 and 4.7%.⁵

In the venous system vascular, many changes can induce DVT, for example, partial or total paralysis of the muscles, affecting the blood flow due changes in the venous competence, causing the reduction in the capacity and distensibility of vascular bed and increase in the

venous flow resistance. These factors promote metabolic changes in blood vessels generating hypoxia associated to endothelial cell damage in the vessel wall, adhesiveness and platelet aggregation, coagulation cascade activation and venous thrombosis. The hypercoagulability in the patients with SI is due to multiple mechanisms, including coagulation cascade activation, modifications in endothelial and other blood cells.⁶

Many genetic components constitute risk factors for VT. The majority affects the natural pathways of coagulation, mainly the C protein system. Resistance to activated C protein is the hypercoagulability state more frequently associated with the pulmonary embolism development, caused by a Leiden factor V gene mutation (Arg 506 for Gly).¹ This mutation is found only in Caucasians, but the prevalence varies among the different countries.⁷ The second most frequent mutation occurs in the not translated position 3 in the prothrombin gene (G 20210 A).⁸ Less frequent genetic changes are the scarcity in the natural anticoagulant proteins (anti-thrombin, C and S protein).¹ Other acquired risk factors are sedentarism and tabagism,⁹ lupus anticoagulant, anti-cardiolipin antibody, hyperhomocysteinemia and increase of coagulation factors, mainly factors I and VIII.¹

¹Department of Pathology, University of São Paulo, São Paulo, Brazil; ²Department of Clinical Pathology, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brazil; ³Clinics Hospital, University of São Paulo, São Paulo, Brazil; ⁴Cardiology Division, Department of Medicine, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil; ⁵Santo Amaro University, São Paulo, Brazil; ⁶Institute of Physical Medicine and Rehabilitation, University of São Paulo, São Paulo, Brazil and ⁷Department of Medicine, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

Correspondence: Dr JC de Campos Guerra, Albert Einstein Avenue, 627/700–2nd floor Block E, São Paulo, SP 05652-900, Brazil.

E-mail: jcgua@einstein.br

Received 13 March 2013; revised 17 December 2013; accepted 23 December 2013

Although the knowledge described about risk factors and VT in the general population, the impact of these factors in the development of thromboembolic events in patients with SI caused by spinal cord injury (SCI) is poorly understood, and is the object of this study.

Design and study population

Observational, prospective and cross-study. Patients ($n=100$) were recruited from the Physical Medicine and Rehabilitation Institute, University of Sao Paulo, Faculty of Medicine Clinics Hospital USP—IMREA/Lucy Montoro Network, from January 2011 to April 2012. Eligible patients had SI by SCI, > 18 years; the exclusion criteria were patients with SI for other reasons (not SCI), as cancer, lupus, multiple sclerosis, spinal compression by disc herniation, motor sequelae from stroke or subjects that presented clinical signs compatible with infection. The fluxogram is represented in Figure 1.

Figure 1 Fluxogram of the study. It was included SCI patients ($n=100$), with and without clinical suspicion for DVT. PT, prothrombin time; aPTT, activated partial thromboplastin time.

Variables from the study

The variables investigated were: age, gender, race, type of SI (paraplegia or tetraplegia), injury time, etiology of SI and degree of motor and sensory lesion, using the American Spinal Injury Association (ASIA) Impairment Scale (AIS), or Scale of Deficiency from ASIA, created in 1992, with review in 2011, and adopted worldwide in the specialized centers in the care subjects with SI. This classification is defined, according to modifications from Frankel,¹⁰ as ASIA A (complete motor and sensory impairments), ASIA B (loss of motor function with sensitive function preserved, below the neurological level, including the sensitive sacral nerve S4-S5), ASIA C (> 50% of the major muscles below of the neurological lesion, presenting strength less than degree 3), ASIA D (> 50% of the major muscles below of the neurological lesion, showing strength greater than or equal degree 3) and ASIA E (normal sensory and motor functions). Summarily, the classifications ASIA A and B are complete motor lesion and ASIA C and D incomplete motor lesion.

Other variables analyzed were VT evaluation by duplex scan ultrasonography, laboratory exams, prothrombin time, clottable fibrinogen, dosage of factor VIII, C protein of coagulation, antigen-free S protein, anti-thrombin, search for lupus anticoagulant, cardiolipin antibodies IgG, IgM, IgA, Leiden factor V, prothrombin mutation (factor II) and D-Dimer dosage.

Blood sampling and exam analyses

Blood samples were collected for coagulation exams, hemogram, real-time PCR and biochemical analyses. Plasma was frozen to -70°C for evaluating prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, Factor VIII, quantitative D-Dimer, C, S and anti-thrombin proteins, search for lupus anticoagulant. Serum was refrigerated to -4°C for searching of IgG and IgM anti-cardiolipin antibodies and homocysteine. DNA was obtained from samples collected in EDTA tubes refrigerated to -4°C , for analyzing the presence of mutations in Leiden factor V and prothrombin (G20210 A).

Laboratory exams

The analyses of laboratory exams were performed in the Clinical Pathology Department from Hospital Israelita Albert Einstein for determining the International Normalized Ratio, fibrinogen, factor VIII dosage, C, S and anti-thrombin proteins, quantitative D-Dimer, search for lupus anticoagulant, cardiolipin antibodies IgG, IgM, IgA, homocysteine and genetic tests.

Real-time PCR

Genomic DNA was obtained from 200 μl of peripheral blood using the bioMérieux NucliSens easyMAG. Quantitative real-time PCR experiments were performed in order to investigate mutations in the prothrombin (G20210A) and Leiden factor V (G1691A) genes, using Taqman probes ABI7500 instrument and kits for allelic discrimination ABI Taqman (Applied Biosystem, San Diego, CA, USA). Primer sequences and probes are shown in Tables 1 and 2.

Ultrasonography exams

Ultrasonography analyses were performed from deep and superficial venous systems of lower limbs (proximal and distal veins), using linear transducer of 7.5 MHz and Siemens equipment Sonoline G40 (Siemens, Malvern, PA, USA). Two-dimensional echocardiography, pulsed Doppler and Color Doppler flow mapping were employed. Appropriate probes were selected according to the depth of the vessels examined. Doppler ultrasonography was executed in common

Table 1 Primer sequences and probes for Leiden Factor V

Sequence	Leiden Factor V		Start bp	Stop bp	Tm
	Name	Sequence			
Forward primer	FVPF	CGCCTCTGGGCTAATAGGACTA	70	91	59
Reverse primer	FVPR	TGTTCTAGCCAGAGAAATCTCAGAA	194	168	60
Probe 1	FVS1	CCTGGACAGGCAAG	115	128	66
Probe 2	FVS2	CCTGGACAGGCGAG	115	128	67

femoral vein for analyzing the flow as a measure of evaluation of iliac vein pterygia, as well as b-mode image.

The venous system was evaluated bilaterally. Veins were investigated in longitudinal and transversal views. Diagnostic criteria used for confirming or exclude DVT was based on compression test and the absence or presence of endoluminal material. The test was considered negative if the veins were totally compressible and without thrombus, positive when the veins were incompressible combined with the direct image of an endoluminal thrombus.

Statistical analyses

Categorical variables are presented as n (%) and absolute frequencies and numerical variables are expressed as median (interquartile range). The investigation to the factors associated to the thrombosis occurrence was performed in two stages: simple analysis, using Pearson's Chi-square, exact Fisher or Mann-Whitney tests for evaluating the association between the characteristics of interest and the occurrence of thrombosis and multiple analysis, using logistic regression models for verifying the influence of the variables of interest in the thrombosis occurrence. Statistical significance was set at a P-value of <0.05. All analyses were made using the SPSS 17.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

The trial protocol was conducted in accordance with ethical standards of the institute on human experimentation and approval was obtained from the local ethics committee for analysis of research projects (1201/09). Informed consent was obtained from all participants prior to inclusion.

RESULTS

The subjects (n=100) were 72% men, 65% white race, 83% did rehabilitation, with a mean age of 39 years and a s.d. of 13.11 (range 20–76) years. Concerning the type of SI, 63% presented paraplegia and the most frequent etiologies were motor vehicle accident (35%), accidental fall (25%) and injury by firearms (17%). Other etiologies were observed in 23% of the patients (Table 3).

Clinical presentations were ASIA A (41%), followed by B (23%), C (19%) and D (17%); 9% of the patients had heterotopic ossification and 83% made rehabilitation. All the patients performed laboratory and image exams. The DVT occurrence was confirmed in 17% of the patients that made Doppler ultrasonography of bilateral lower limb.

The multivariate approach showed that the occurrence of DVT is bigger among individuals with homocysteinemia, with values between 15 and 30 $\mu\text{mol l}^{-1}$ (odds ratio 25.67, P-value <0.001) and among individuals with presence of Leiden factor V (odds ratio 51.51, P-value = 0.013) (Table 4, Figures 2 and 3).

The investigation of the factors associated to the occurrence of thrombosis showed more frequency in individuals with paresis, that made big surgeries, with lower C and S protein dosage, increased

Table 2 Primer sequences and probes for prothrombin

Sequence	Prothrombin		Start bp	Stop bp	Tm
	Name	Sequence			
Forward primer	PROTF	GGAACCAATCCGTGAAGA	76	95	58
Reverse primer	PROTR	TGAATAGCACTGGAGCATTGA	173	152	59
Probe 1	PRO1	TAAAGTGACTCTCAGCAAG	130	149	66
Probe 2	PRO2	TAAAGTGACTCTCAGCGAG	130	149	67

homocysteine (between 15 and 30 $\mu\text{mol l}^{-1}$). Other factors associated to DVT occurrence were the presence of genetic polymorphism of Leiden factor V (Table 5). There were changes in the quantitative D-Dimer in 70.6% of the patients that showed DVT and 43.4% in those patients without DVT. Concerning the time of lesion, the median was 1.3 years among patients without DVT and median of 2.4 years among patients with DVT.

It was investigated the association between some characteristics observed and changes in D-Dimer (Table 5). Values of D-Dimer above the reference were found in 46% of the patients with paraplegia and 51.4% of the patients with tetraplegia, showing that there were no differences in the lesions (P=0.607). There were no significant differences between D-Dimer greater than reference value and ASIA classification. There was association between changes in D-Dimer and fibrinogen (P<0.001), and the changes in D-Dimer in patients with values >400 are more frequent (72.3%) than between patients with normal dosages (26.7%). This evaluation was performed in the subgroup without DVT and the results were similar (not shown).

DISCUSSION

The main finding of this study was the higher occurrence of DVT in patients with Leiden factor V and hyperhomocysteinemia. There was no association between SI for DVT, VT and thrombophilia, contrary that was thought in the study design. Also, there was no relation between lupus anticoagulant and anti-cardiolipin.

DVT is a multigenic and multifactorial disease; the interrelation of the risk factors lead to the thrombosis.¹ Besides, age is an isolated risk for DVT, mainly after 40 years.¹¹ In this study, 51% of the patients had age <40 years (80.4% without DVT and 19.6% with DVT). Although the results not show statistical significance, the population was young, most men that can have association with the results, impacting in the low frequency of thrombosis, 17%. Experimental studies with fibrinogen scanning marked with I¹²⁵ showed presence of DVT in 100% of the patients with SI for acute SCI evaluated.¹²

The majority of the studies in the literature evaluated patients with SI for acute SCI.^{9,13–15} In this study, patients were analyzed with time lesion >1 year (median of 1.3 years among the patients without DVT and 2.4 years among patients with DVT). There are studies that show adaptation of many organic and functional systems in patients with SI.^{13,16} Many factors can contribute to the higher occurrence of thrombosis in these patients. The permanent venous vasodilation state in the lower limbs promotes lower speed of blood flow and stasis as constant risk factor. Experimental studies of spinal transection in mice showed increase in 1.5 times the diameter in femoral and saphenous veins.¹⁵ Patients with SI present frequently dehydration and secondary increase of blood viscosity that can complicate the stasis and local hypoxia.¹⁷

The higher the degree of muscle paralysis, the greater the tendency of slowing the blood flow, because of the loss of

Table 3 Factors associated to DVT – simple analysis

	DVT				P-value
	No		Yes		
	n	%	n	%	
Gender					0.555
Female	22	78.6	6	21.4	
Male	61	84.7	11	15.3	
Age					0.775
Until 39 years	41	80.4	10	19.6	
Between 40 and 69 years	39	84.8	7	15.2	
70 years or more	3	100	0	0	
Obesity					>0.99
No	81	82.7	17	17.3	
Yes	2	100	0	0	
Paralysis					0.182
No	19	95	1	5	
Yes	64	80	16	20	
Trauma					0.742
No	16	80	4	20	
Yes	67	83.8	13	16.2	
Big surgeries					0.02
No	21	100	0	0	
Yes	62	78.5	17	21.5	
Respiratory failure					0.531
No	80	83.3	16	16.7	
Yes	3	75	1	25	
Distal fracture					0.585
No	78	82.1	17	17.8	
Yes	5	100	0	0	
Severe and/or hospital infection					>0.99
No	24	82.8	5	17.2	
Yes	59	83.1	12	16.9	
Coagulable fibrinogen (mg dL ⁻¹)					0.284
Until 399	46	86.8	7	13.2	
400 or more	37	78.7	10	21.3	
Factor VIII dosage (%)					0.357
Until 149	64	85.3	11	14.7	
150 or more	19	76.0	6	24.0	
Protein C from coagulation dosage (%)					0.170
Until 59	0	0	1	100	
60 or more	83	83.8	16	16.2	
Antigen-free S protein (%)					0.015
Until 54	1	25	3	75	
55 or more	82	85.4	14	14.6	
Homocystein (μmol L ⁻¹)					<0.001
Until 14	76	90.5	8	9.5	

Table 3 (Continued)

	DVT				P-value
	No		Yes		
	n	%	n	%	
15–30	7	43.8	9	56.2	
31–100	0	0	0	0	
> 100	0	0	0	0	
Search of lupus anticoagulant					>0.99
Negative	79	82.3	17	17.7	
Positive	4	100	0	0	
Antibodies anti-cardiolipin IgG GPL					0.320
Until 14.9	75	82.4	16	17.6	
15–20	2	66.7	1	33.3	
20.1 or more	6	100	0	0	
Anticardiolipin anti-cardiolipin IgM MPL					0.683
Until 12.4	78	83	16	17	
Between 12.5–20	2	66.7	1	33.3	
20.1 or more	3	100	0	0	
Leiden Factor V					0.074
No	82	84.5	15	15.5	
Yes	1	33.3	2	66.7	
Prothrombin Factor II mutation					0.432
No	81	83.5	16	16.5	
Yes	2	66.7	1	33.3	
D-Dimer dosage (ng mL ⁻¹)					0.050
≤500	47	90.4	5	9.6	
500–1000	19	86.4	3	13.6	
1000–2000	13	65	7	35	
2000–3000	3	75	1	25	
>3000	1	50	1	50	
D-Dimer ng mL ⁻¹ dosage					0.041
≤500	47	90.4	5	9.6	
> 500 (unsettled)	36	75	12	25	
ASIA					0.869
A	33	80.5	8	19.5	
B	19	82.6	4	17.4	
C	17	89.5	2	10.5	
D	14	82.4	3	17.6	
Lesion level					0.218
Cervical spine injury	43	84.3	8	15.7	
(T1–T12) thoracic spine injury	33	86.8	5	13.2	
Lumbar spine injury	7	63.6	4	36.4	
Hemoglobin dosage – median (IQR)	14 (13–15)		14 (13–14)		0.874
Platelet count × 10 ³ μL ⁻¹ – median (IQR)	258 (218–301)		280 (195–335)		0.701
Lesion time (years) – median (IQR)	1.3 (0.8–2.5)		2.4 (1.6–4.0)		0.014

Abbreviations: GPL, IgG phospholipid units; IQR, interquartile range; MPL, IgM phospholipid units. Bold and italic values are statistically significant.

Abbreviations: GPL, IgG phospholipid units; IQR, interquartile range; MPL, IgM phospholipid units. Bold and italic values are statistically significant.

Table 4 Factors associated to DVT – multiple regression analysis

	Odds ratio	95% CI for odds ratio		P-value
		LL	UL	
Age (reference: until 39 years)				
40 or more	0.486	0.111	2.125	0.337
Homocystein (reference: until 14)				
15–30	25.670	5.110	128.948	<0.001
Leiden Factor V (reference: no)				
Yes	51.508	2.333	1137.433	0.013
ASIA (reference: A)				0.731
B	1.435	0.255	8.071	0.682
C	0.407	0.049	3.372	0.405
D	0.622	0.069	5.622	0.672
Lesion time (reference: paraplegia)				
Tetraplegia	0.338	0.049	2.347	0.273
Lesion level (reference: cervical spine injury)				0.575
(T1–T12) thoracic spine injury	0.595	0.104	3.384	0.558
Lumbar spine injury	1.674	0.160	17.471	0.667

Abbreviations: LL, lower limit; UL, upper limit.

Table 5 Association between characteristics and changes of D-Dimer dosage

	D-Dimer dosage (ngml ⁻¹)				P-value
	<500		>500		
	n	%	n	%	
Type of SI					0.607
Paraplegia	34	54	29	46	
Tetraplegia	18	48.6	19	51.4	
ASIA					0.921
A	20	48.8	21	51.2	
B	12	52.2	11	47.8	
C	10	52.6	9	47.4	
D	10	58.8	7	41.2	
Age					0.707
Until 39 years	28	54.9	23	45.1	
40-69	23	50	23	50	
70 or more	1	33.3	2	66.7	
Coagulable fibrinogen (mgdl ⁻²)					<0.001
Until 399	39	73.6	14	26.4	
400 or more	13	27.7	34	72.3

Figure 2 Relation between Leiden Factor V and DVT.

Figure 3 Relation between homocystein and DVT.

compressive effect of the muscle pumping, explaining higher occurrence of DVT in flaccid paralysis.¹⁸ Boudaoud *et al.* (1997) simulated venostase state in upper and lower limbs in 15 patients with paraplegia or tetraplegia, up to 6 months of SCI, compared with 10 normal volunteers. The aim of the study was to evaluate the fibrinolytic system and the risk of DVT after SCI. After venostase upper limbs, the tissue plasminogen activator increased significantly in patients as in the control group, but no significant changes in the lower limbs. The prolonged stasis not allowed that the fibrinolytic response level in the lower limbs was the same as observed in the upper limbs. The dosage of plasminogen activator inhibitor (PAI-1) did not change significantly after hypoxic state, although there was variation in dosages between individuals. In this study, 75% of patients with thrombosis had increased levels of D-Dimer but all patients had normal levels of thrombin-anti-thrombin complex, prothrombin fragments 1 + 2. The permanence of the thrombotic process characterized by increased levels of D-Dimer without recovery of the fibrinolytic system suggests perennial antithrombotic treatment in therapeutic doses.¹⁹

Iversen published a study in 2002 about hemostatic abnormalities and tetraplegia, concluding that circadian variations of several coagulation factors and fibrinolytic system are increased in patients with SI, due to a possible deregulation of the autonomic nervous system reflex, leading to a dysfunction between the variations central and peripheral circadian.²⁰ This could possibly reflect the deregulated autonomic nervous system, leading to a dysfunctional link between central and peripheral circadian oscillators.

In this study, 75% of patients with altered D-Dimer (>500 ngml⁻¹), had no DVT (Table 3), confirmed by Doppler ultrasonography, which could suggest that changes in the fibrinolytic system may be a protective mechanism for patients outside the acute phase of SCI (>1 year of SI).

CONCLUSIONS

There is an important difference in the incidence of DVT in patients with SI by acute and chronic SCI.

Laboratory investigation for thrombophilia, including genetic tests, immunologic, coagulation and biochemistry exams, should not be requested in a systematic manner for SI patients by SCI. The conduct of this decision should be based on clinical factors, risk factors for DVT and family history of thrombosis.

The adaptation of venous vascular system and changes in the fibrinolytic system need to be better understood and studied in SI patients by SCI for > 1 year.

Patients in this study are accompanied in an important National Rehabilitation Center, where all clinical support, mainly psychological and physical therapy, with complete guidance for patients and caregivers are provided. This might have impacted on the results and may not reflect the reality of other services.

DATA ARCHIVING

There were no data to deposit.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the Clinical Pathology Laboratory of Israelita Albert Einstein Hospital, Hematology Center of Sao Paulo, Physical Medicine and Rehabilitation Institute from Clinics Hospital of University of Sao Paulo, for the support in the development of this study. The study was sponsored by The Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa do Hospital Albert Einstein H—IEP-HIAE. Tubes for collecting blood were donated by Sarstedt LTDA and coolers for transporting samples were courtesy of Adame Group.

- Zoller B, Garcia de Fritas P, Hillarp A, Dahlback B. Thrombophilia as a multigenic disease. *Haematologica* 1999; 84: 59–70.
- Palluzzi T, Wafaisade A, Lefering R, Simanski C, Bouillon B, Spinholz T et al. Trauma Registry of DGU. Venous thromboembolism after severe trauma: incidence, risk factors and outcome. *Injury* 2010; 41: 97–101.

- Yao JST. Deep vein thrombosis in spinal cord-injured patients: evaluation and assessment. *Chest* 1992; 102(Suppl): 645S–648SS.
- Waring WP, Karunas RS. Acute spinal cord injuries and the incidence of clinically occurring thromboembolic disease. *Paraplegia* 1991; 29: 8–16.
- Merl GJ, Crabbe S, Palluzzi RG. Etiology, incidence, and prevention of deep vein thrombosis in acute spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1993; 74: 1199–1205.
- Iversen PO, Grot PO, Hjeltnes N, Anderson TO, Mowinkel MC, Sandset PM. Impaired circadian variations of haemostatic and fibrinolytic parameters in tetraplegia. *Br J Haematol* 2002; 119: 1011–1016.
- Bertina RM, Kosteren PC, Koster L, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance of activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64–67.
- Franco RF, Trip MD, van Cate H, van den Ende A, Prins MH, Kosteren JI et al. The 20210G→A mutation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene and risk for arterial thrombotic disease. *Br J Haematol* 1999; 104: 50–54.
- Gren D, Harberg D, Chen D, Soltyk RC, Yamold PR. Spinal cord injury risk assessment for thromboembolism (SPIRATE study). *Arch J Phys Med Rehabil* 2003; 82: 950–956.
- American Spinal Injury Association/International Medical Society of Paraplegia (ASIA/IMSP). *International Standards for Neurological and Functional Classification of spinal cord injury patients (revised)*. American Spinal Injury Association: Chicago, IL, 1992.
- Guyatt GH, Eikelboom JW, Gouti MK, Garcia DA, Crowther M, Murad MH et al. Approach to outcome measurement in the prevention of thrombosis in surgical and medical patients: approach to outcome measurements: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *CHEST* 2012; 141(2 Suppl): e185S–e189S.
- American Spinal Injury Association. *International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury*. Revised 2011 Atlanta, GA.
- Gaerds WH, Code KI, Jay RM, Chen E, Szalai JP. A prospective study of venous thromboembolism after major trauma. *NEJM* 1994; 331: 1601–1606.
- Chung S, Lee S, Kim E, Eoh W. Incidence of deep vein thrombosis after spinal cord injury: a prospective study in 37 consecutive patients with traumatic or nontraumatic spinal cord injury treated by mechanical prophylaxis. *J Trauma* 2011; 71: 867–870.
- Myrinen P, Kaminen M, Rikonen P. Deep venous thrombosis and pulmonary embolism in patients with acute spinal cord injury: a comparison with non-paralyzed patients immobilized due to spinal fractures. *J Trauma* 1985; 25: 541–554.
- Kim SW, Charalitis JT, Park KW, Bauerle LC, Shang CC, Gordon SK et al. Prevalence of deep vein thrombosis in patients with chronic spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1994; 75: 965–968.
- Enay G, Ficiölar H, Pisin M, Yorgancıoğlu R, Yavuzer S. Platelet aggregation in traumatic spinal cord injury. *Spinal Cord* 1999; 37: 644–647.
- Miranda AR, Hassouna HL. Mechanisms of thrombosis in spinal cord injury. *Hematol Oncol Clin North Am* 2000; 14: 401–416.
- Boudroux L, Roussi J, Lortat-Jacob S, Bassel B, Dixon O, Drouot L. Endothelial fibrinolytic reactivity and the risk of deep venous thrombosis after spinal cord injury. *Spinal Cord* 1997; 35: 151–157.
- Iversen P, Grot P, Hjeltnes N, Andersen T, Mowinkel M, Sandset P. Impaired circadian variations of haemostatic and fibrinolytic parameters in tetraplegia. *Br J Haematol* 2002; 119: 1011–1016.