

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

**Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en
pacientes con cirrosis**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Raquel Latorre Martínez

Directoras

Rafael Bañares Cañizares
Cristina Ripoll Noiseaux

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**EVALUACIÓN DE LOS FACTORES
DETERMINANTES DEL RECuento DE
PLAQUETAS EN PACIENTES CON
CIRROSIS**

TESIS DOCTORAL

RAQUEL LATORRE MARTÍNEZ, Madrid 2015.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
A. CIRROSIS HEPÁTICA.....	5
i. Historia natural de la cirrosis hepática	5
ii. Fisiopatología de la hipertensión portal	6
iii. Fisiopatología de la insuficiencia hepática	9
iv. Coagulación en la cirrosis	11
B. LAS PLAQUETAS.....	12
i. Estructura de las plaquetas	13
ii. Funciones de las plaquetas	14
iii. Trombopoyesis	16
iv. Regulación de la trombopoyesis	17
Trombopoyetina	18
Otros factores de crecimiento	21
C. TROMBOCITOPENIA	25
i. Definición y fisiopatología	25
ii. Trombocitopenia en la cirrosis hepática	27
iii. Mecanismos de trombocitopenia en la cirrosis hepática	28
2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS	36
3. OBJETIVOS.....	39
4. PACIENTES Y MÉTODOS	40
D. DISEÑO DEL ESTUDIO Y SELECCIÓN DE PACIENTES	40
E. VARIABLES DE ESTUDIO.....	41
F. ESTUDIO HEMODINÁMICO	42
G. VALORACIÓN DE CITOQUINAS EN SANGRE PERIFÉRICA Y SUPRAHEPÁTICA POR ELISA	43
H. TÉCNICA DE LA VOLUMETRÍA ESPLÉNICA	44

I.	DEFINICIÓN DEL GRUPO CONTROL SIN CIRROSIS	45
J.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
5.	RESULTADOS.....	47
K.	CARACTERÍSTICAS BASALES	48
L.	FACTORES ASOCIADOS AL RECUENTO DE PLAQUETAS.....	50
M.	COMPARACIÓN DE LOS FACTORES ASOCIADOS AL RECUENTO DE PLAQUETAS SEGÚN LA FASE DE LA ENFERMEDAD.....	56
N.	VALORACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LA SÍNTESIS HEPÁTICA DE TPO Y EL GRADO DE DETERIORO DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA.....	64
O.	COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE TROMBOPOYETINA EN SANGRE SUPRAHEPÁTICA Y EN SANGRE PERIFÉRICA.....	67
P.	VALORACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE TPO EN VENA HEPÁTICA Y PERIFÉRICA EN UN GRUPO CONTROL Y COMPARACIÓN CON LOS PACIENTES CIRRÓTICOS	69
Q.	EVALUACION DE LA POSIBLE INFLUENCIA DE OTRAS CITOQUINAS EN LA TROMBOCITOPENIA DE LA CIRROSIS	71
6.	DISCUSIÓN.....	75
7.	CONCLUSIONES	86
8.	SUMMARY	87
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	91
10.	LISTADO DE ABREVIATURAS.....	104

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ripoll Noiseaux, eje impulsor de este trabajo, compañera y amiga. Cris, gracias por tu paciencia, energía y buen ejemplo. Tanto cerca como lejos, gracias por tu estímulo constante.

Al Dr. Bañares Cañizares, gracias por tu confianza, tus buenas palabras y buen hacer. Ha sido una gran oportunidad poder trabajar contigo y aprender de ti.

A Diego Rincón, Marta Puerto, Javier Vaquero, María D. Ponce, Fernando Sarnago, Jose A. Matamoros, Enrique Ramón, Jaime Elizaga. Gracias por vuestro esfuerzo y dedicación.

A mis compañeros de viaje, que no han cesado de alentarme y animarme. Teresa, gracias por tu amistad, tu cariño y cercanía. Oreste, gracias por tu apoyo constante y tu confianza. Leire, gracias por tu ironía, aliento y buen humor. Aurora y Jesu, por vuestra firme amistad. A todos mis compañeros del Hospital Gregorio Marañón, donde he pasado uno de los periodos más estimulantes y enriquecedores de mi vida. A mis colegas de Zambiacongo, en especial a Fantasma y a Dona, porque siempre es necesario desconectar y con vosotros ha sido muy sencillo. A mis compañeras de la sección de hepatología del Hospital Son Espases y a Alfredo, gracias por vuestra acogida y apoyo. A David, porque sólo aquellos que se arriesgan a ir lejos pueden descubrir hasta dónde se puede llegar, gracias por esas grandes conversaciones. A Mirella, por ser sin ninguna duda un amarillo para mí, por tu amistad y tu bondad. A Pe Grande, gracias por tu energía, tu cariño y por transmitirme siempre el afán constante de superación.

A mis padres y a mi hermana, gracias por vuestro amor y por estar siempre a mi lado.

1. INTRODUCCIÓN

A. CIRROSIS HEPÁTICA

i. HISTORIA NATURAL DE LA CIRROSIS HEPÁTICA

La cirrosis hepática es el resultado último de toda lesión hepática crónica y se caracteriza por la presencia de fibrosis, nódulos de regeneración, y alteraciones vasculares irreversibles que se distribuyen de forma difusa en el hígado. Múltiples agentes pueden dar lugar a esta entidad si bien en nuestro medio más del 90% de los casos se deben a la hepatitis crónica B y C y al consumo crónico de alcohol; además en las últimas décadas se ha producido un aumento en la proporción de la enfermedad hepática por depósito de grasa [1-2].

A lo largo de la historia natural de la cirrosis se suceden primero una fase compensada, en la que la enfermedad es asintomática u oligosintomática y posteriormente una fase descompensada, definida por el desarrollo de complicaciones asociadas a la enfermedad hepática avanzada, como la hemorragia por varices esofagogástricas, la encefalopatía hepática, la ascitis y/o la ictericia. La distinción entre estas dos fases de la enfermedad tiene relevancia pronóstica, ya que los pacientes en la fase compensada tienen una supervivencia mediana por encima de 12 años, mientras que los pacientes en la fase descompensada tienen una supervivencia mediana de aproximadamente 2 años [3].

Los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a la cirrosis son la insuficiencia hepática y la hipertensión portal. Datos indirectos sugieren que estos dos mecanismos no tienen un desarrollo paralelo a lo largo de la historia natural de la enfermedad, sino que la hipertensión portal tiene un papel predominante en la determinación del curso de la enfermedad en la fase compensada mientras que en la fase descompensada, la

insuficiencia hepática cobra mayor relevancia. De hecho los factores pronósticos que se identifican con mayor frecuencia en estudios con pacientes en la fase compensada están asociados con la presencia de la hipertensión portal [3]. Por otro lado, en la fase descompensada los principales factores pronósticos identificados se relacionan con el deterioro de la función hepática, la disfunción circulatoria asociada a deterioro de la función renal y el desarrollo de hepatocarcinoma [4-8].

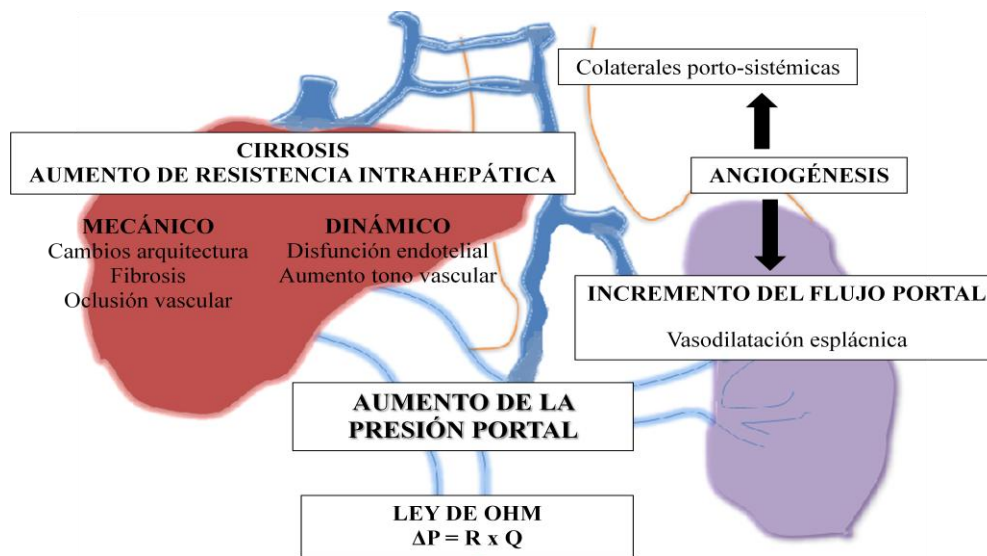
ii. FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN PORTAL

La hipertensión portal corresponde a un aumento de la presión hidrostática en el sistema venoso portal con respecto al sistema venoso sistémico. Según la ley de Ohm, la presión viene definida por el producto entre el flujo (Q) y la resistencia que se opone a dicho flujo (R):

$$\Delta P = R \times Q$$

En la cirrosis existe un aumento de la resistencia intrahepática con un componente estático (debido a la oclusión vascular por la fibrosis, los cambios arquitecturales con la formación de nódulos de regeneración y trombosis en la microcirculación hepática) y por un componente dinámico (a causa de disfunción endotelial y de un desbalance entre factores vasoconstrictores y vasodilatadores a favor de los primeros) [9-13] (Figura 1). Clásicamente el componente mecánico se ha considerado irreversible, mientras que el dinámico podría ser modulado con diferentes agentes terapéuticos [12, 14-16]

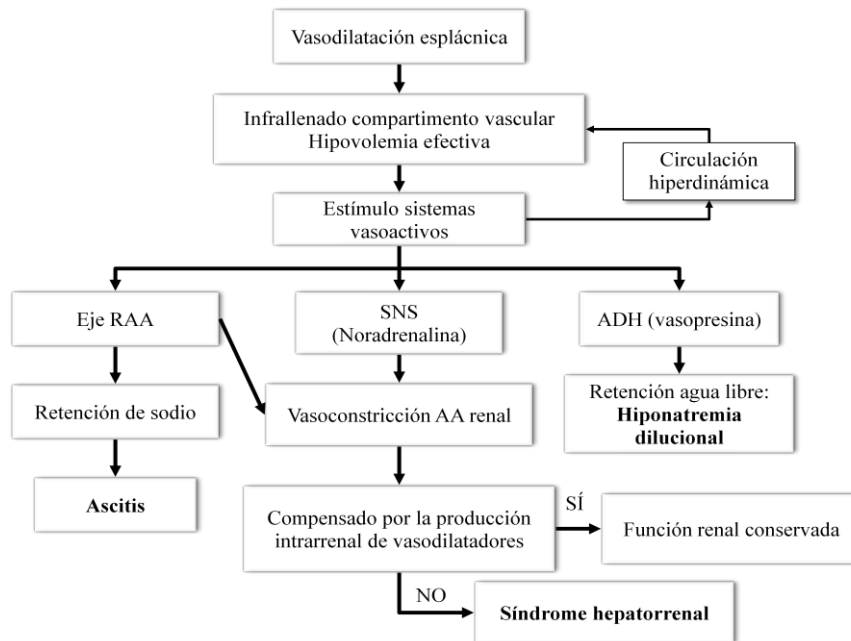
Figura 1. Fisiopatología de la hipertensión portal.



Abreviaturas: ΔP : gradiente de presión, R : resistencia, Q : flujo

Por otro lado, existe un incremento en el flujo de sangre en la vena porta debido a la vasodilatación esplácnica y al aumento del gasto cardíaco. A nivel del lecho esplácnico existe un marcado aumento de las sustancias vasodilatadoras como el óxido nítrico, el glucagón y la prostaciclina junto con una menor respuesta a sustancias vasoconstrictoras [17-19]. La vasodilatación en el territorio esplácnico se acompaña de una disminución de las resistencias vasculares periféricas originando un estado de hipovolemia central efectiva que da lugar a una activación de sistemas vasoactivos [el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), el sistema nervioso simpático (SNS) y la secreción no osmótica de vasopresina (ADH, hormona antidiurética)]. Estos mecanismos compensatorios permiten inicialmente mantener una adecuada presión de perfusión en los órganos diana (cerebro, riñón), pero a medida que la vasodilatación esplácnica avanza y con el posible desarrollo de una alteración en la función cardíaca, estos mecanismos se tornan insuficientes dando lugar a las complicaciones características de la enfermedad hepática avanzada como por ejemplo el síndrome hepatorenal y la hiponatremia dilucional [20-21] (Figura 2).

Figura 2. Fisiopatología de la hipertensión portal.



Abreviaturas. RAA: renina angiotensina aldosterona, SNS: sistema nervioso simpático, ADH: hormona antidiurética, NO: óxido nítrico, AA: arteriola aferente

Además existe un proceso de angiogénesis patológica que influye en el aumento de la resistencia intrahepática [22-23] y que favorece la hiperemia esplácnica, el aumento del flujo portal y la formación de colaterales porto-sistémicas [24-26].

Estimación de la presión portal: el gradiente de presión venosa hepática (GPVH)

El desarrollo de la medida del gradiente de presión venosa hepática [27-28] como método indirecto de estimación de la presión portal supuso un hito en el estudio de la hipertensión portal. Para su realización se canaliza la vena yugular derecha o la vena femoral derecha y se introduce un catéter balón hasta las venas suprahepáticas (generalmente la media o la derecha) bajo control radiológico. Mediante el inflado del balón se obtiene la presión suprahepática enclavada (PSHE) que equivale a la presión sinusoidal, y cuando la resistencia al flujo se encuentra a este nivel, también equivale a la presión venosa portal. Con el desinflado del balón se mide la presión suprahepática

libre (PSHL) que equivale a la presión en la vena cava inferior (VCI) siempre que no exista una obstrucción al flujo en las venas suprahepáticas. La diferencia entre la PSHE y la PSHL es el gradiente de presión venosa hepática cuyo valor normal es entre 1-5 mmHg [27]. Esta técnica ha demostrado una excelente reproducibilidad y se ha asociado a la presión portal medida de forma directa en la cirrosis hepática de origen alcohólico y viral [29-32].

La presencia de hipertensión portal clínicamente significativa determinada por un umbral de gradiente de presión venosa hepática por encima de 10-12 mmHg es necesaria tanto para el desarrollo de varices como para el desarrollo de complicaciones de la cirrosis [33-38]. Además cambios en el gradiente de presión venosa hepática mediante la intervención farmacológica con betabloqueantes con o sin nitratos tiene implicaciones pronósticas de manera que pacientes con un descenso del GPVH < 12 mmHg o $> 20\%$ del basal (también llamados respondedores) permite reducir el riesgo de hemorragia por varices, ascitis, peritonitis bacteriana espontánea, bacteriemia o encefalopatía hepática en comparación con los pacientes no respondedores con significativa mejoría de la supervivencia a largo plazo [39-41].

iii. FISIOPATOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA HEPÁTICA

En contraposición a la de la hipertensión portal, la fisiopatología de la insuficiencia hepática es relativamente desconocida, debido a su enorme complejidad. El hígado tiene numerosas funciones de síntesis y de depuración/biotransformación así como funciones inmunológicas.

En la práctica clínica habitual la insuficiencia hepática se mide mediante parámetros analíticos como el tiempo de protrombina o el INR que reflejan el grado de coagulopatía secundaria al déficit de síntesis hepática de los factores de coagulación, la

albúmina cuya síntesis disminuye en la cirrosis y la bilirrubina que es un marcador de síntesis y sobre todo de depuración hepática [5, 7, 42-43]. Estos marcadores séricos son los integrantes de los dos índices pronósticos más utilizados en la cirrosis, la puntuación de Child-Pugh y el MELD score. La encefalopatía hepática y la ictericia son complicaciones de la cirrosis con mayor asociación a la insuficiencia hepática. Sin embargo la historia natural de la insuficiencia hepática es relativamente desconocida, a excepción de que la disminución de la síntesis de la albúmina es un evento precoz [44-45], y que la presencia de hipoglucemia, consecuencia de una gluconeogénesis insuficiente, es un evento que ocurre solo en fases terminales de la enfermedad [46].

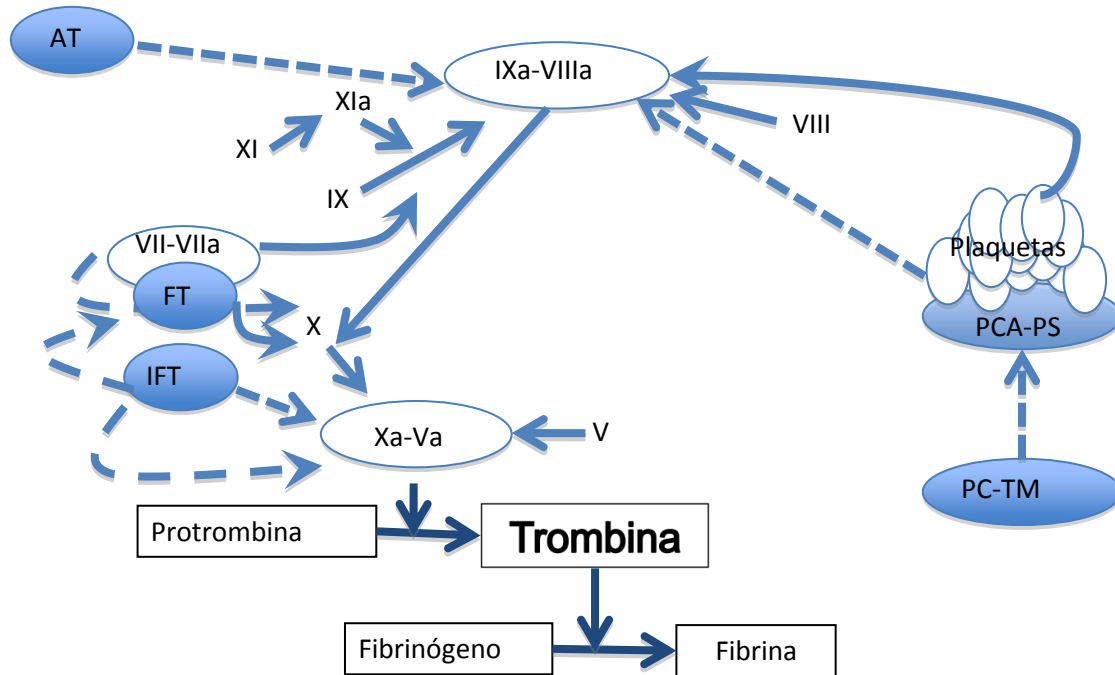
En la investigación, la insuficiencia hepática puede ser evaluada por diferentes métodos que se basan en la administración de sustancias que sufren metabolismo hepático y posteriormente monitorizar su eliminación, a saber el aclaramiento del verde de indocianina o el MEGX (monoetilglicinxilidido, metabolito de la lidocaína tras el primer paso hepático). Estos métodos se han introducido lentamente en la práctica clínica, y hoy en día se pueden usar para valorar el grado de insuficiencia hepática en pacientes con fallo hepático agudo, o bien para valorar la reserva funcional hepática tras la quimioembolización transarterial o la cirugía y para estimar la función del injerto en el postoperatorio del trasplante hepático [47-51].

iv. COAGULACIÓN EN LA CIRROSIS

Una de las funciones del hígado incluye la síntesis de factores de coagulación (I, II, V, VII, IX, X, XI) así como de anticoagulación (antitrombina III, proteína C y proteína S). En la figura 3 se representan los factores de coagulación implicados en el proceso de hemostasia secundaria. Los pacientes con cirrosis presentan frecuentemente alteraciones en las pruebas de hemostasia primaria y de hemostasia secundaria (coagulación). Por este motivo tradicionalmente se ha considerado la cirrosis como una

enfermedad con predisposición para el sangrado. En la tabla 1 se muestran los diferentes factores pro- y antihemostáticos en la cirrosis hepática.

Figura 3. Mecanismos implicados en la generación de trombina (flechas sólidas) e inhibición de la trombina (flechas discontinúas).



Los factores de coagulación se representan con números romanos. Abreviaturas: PCA-PS: Proteína C activada-Proteína S. PC-TM: Proteína C, trombomodulina. AT: antitrombina. IFT: inhibidor del factor tisular. FT: Factor tisular

Tabla 1. Factores prohemostáticos y antihemostáticos en las diferentes fases de la hemostasia en pacientes con cirrosis [52].

Fase de hemostasia	Factores prohemostáticos	Factores antihemostáticos
Hemostasia primaria	↑ FvW ↓ ADAMTS 13	↓ Plaquetas
Coagulación (generación de trombina)	↓ Factores anticoagulantes: proteína C, antitrombina ↑ Factores procoagulantes: VIII	↓ Factores procoagulantes: fibrinógeno, II,V, VII, IX, X, XI
Fibrinólisis (disolución del coágulo)	↓ Plasminógeno ↑ PAI	↑ T-PA ↓ TAFI, inhibidor de plasmina

FvW: factor de von Willebrand. ADAMTS: A Disintegrin And Metalloproteinase. PAI: inhibidor del activador del plasminógeno. T-PA: activador del plasminógeno tisular. TAFI: inhibidor del factor tisular.

Sin embargo recientemente se ha cuestionado este dogma. En un estudio que compara la generación de trombina in vitro en presencia de plasma libre de plaquetas con factores pro y anticoagulantes de pacientes cirróticos y controles, se observó que en ausencia de trombosmodulina (glicoproteína presente en la membrana del endotelio vascular y principal activador de la proteína C) los pacientes con cirrosis generaron menos trombina que los controles, sin embargo esta diferencia desapareció en presencia de trombosmodulina [53]. En un segundo ensayo con plasma rico en plaquetas se observó que la generación de trombina depende de la cifra de plaquetas, de manera que se generó menos trombina en aquellos pacientes con cirrosis y trombocitopenia grave (plaquetas $<65 \times 10^3/\text{mm}^3$) en comparación con los controles, incluso en presencia de trombosmodulina [54]. Estos resultados sugieren en primer lugar que en la cirrosis, a pesar de la alteración en las pruebas de coagulación (que miden los factores procoagulantes), se mantiene un equilibrio entre factores procoagulantes y anticoagulantes. En segundo lugar, el número / funcionalidad de las plaquetas puede tener un papel central en el proceso de formación de la trombina.

Por tanto la hipótesis actual es que en la cirrosis hepática este equilibrio entre factores pro y anticoagulantes es muy delicado y que en determinadas situaciones la coagulación del paciente con cirrosis puede inclinarse a un perfil trombotico o un perfil hemorrágico [52, 55].

B. LAS PLAQUETAS

Las plaquetas constituyen, junto a los eritrocitos y los leucocitos, los elementos celulares de la sangre. En condiciones fisiológicas circulan en la sangre un número variable de plaquetas, entre 150×10^3 - $400 \times 10^3/\text{mm}^3$ [56]. El recuento de plaquetas

permanece relativamente constante en cada individuo salvo que se vea perturbado por eventos fisiológicos (embarazo) o patológicos [57].

Las plaquetas participan en la hemostasia, teniendo un papel fundamental en la formación del tapón plaquetario y el inicio de la cascada de la coagulación. Además, desempeñan otras funciones como por ejemplo en la respuesta inmune (innata y adquirida) e inflamatoria [58-59] e incluso en la regeneración hepática [60-61].

i. ESTRUCTURA DE LAS PLAQUETAS

Las plaquetas son células anucleadas que se originan por fragmentación de los megacariocitos en la médula ósea. Tras abandonar la médula ósea, las plaquetas circulan en la sangre en forma de disco biconvexo durante 7 a 10 días. Normalmente, sólo una pequeña parte de la masa total de plaquetas se consume en el proceso de la hemostasia, de tal forma que la mayoría de las plaquetas circulan hasta que envejecen y son eliminadas por los macrófagos del hígado y en menor parte del bazo o de los pulmones [62].

En el citoplasma de las plaquetas se localizan organelas específicas de las plaquetas como los gránulos alfa y los gránulos densos. Los gránulos alfa contienen proteínas importantes en el proceso de adhesión plaquetaria, como el fibrinógeno, la fibronectina, la vitrotectina, el vWF. Sus membranas contienen GPIIb/IIIa, pequeñas cantidades de GPIb, GPIX y P selectina. Tienen una participación relevante en el funcionamiento celular, al propiciar la interacción entre plaquetas y entre las plaquetas y el endotelio vascular dañado. Los gránulos densos se caracterizan por el elevado contenido en calcio y fósforo inorgánico, además de ADP y otras sustancias importantes en la activación y agregación plaquetaria [63-64].

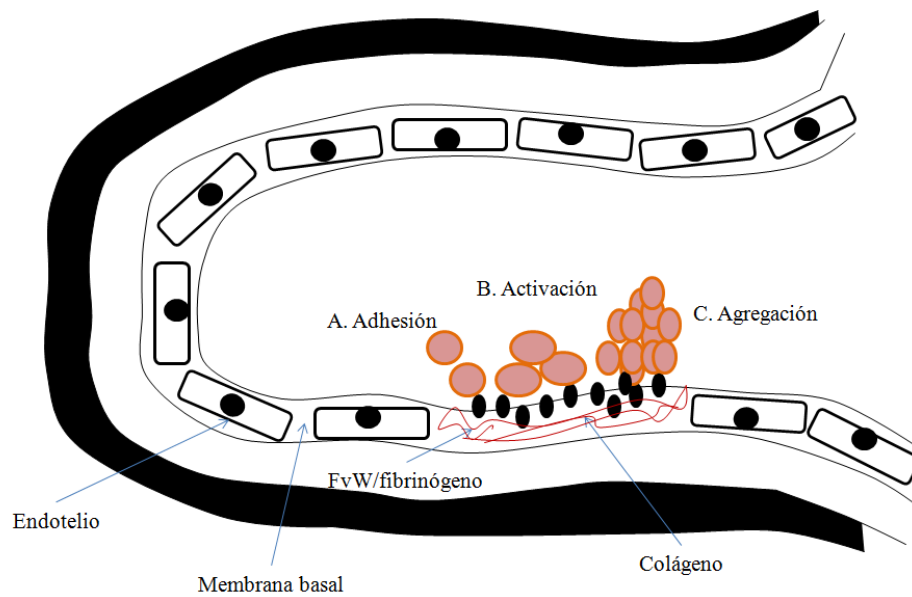
ii. *FUNCIONES DE LAS PLAQUETAS*

La función principal de las plaquetas tiene lugar en el proceso de hemostasia. En caso de daño del endotelio vascular se produce la formación del tapón plaquetario y el inicio de la cascada de la coagulación. Las fases de la hemostasia primaria se muestran en la Figura 4.

Normalmente las plaquetas circulan en la sangre sin entrar en contacto con la matriz del tejido conectivo que se encuentra bajo las células endoteliales. Al producirse una lesión de la integridad del endotelio vascular, las plaquetas interaccionan con el colágeno subendotelial. Para ello, las plaquetas utilizan como ligando al fibrinógeno, a través de su unión a la GPIIb/IIIa, y al vWF a través de su unión con la GPIb, ambos disponibles en el plasma (adhesión plaquetaria).

La adhesión de la plaqueta al colágeno y otros agonistas del revestimiento vascular dañado desencadena señales intracelulares que dan lugar a la activación plaquetaria. La primera manifestación física de la activación es el cambio de forma de discoide a esferocito, que genera un incremento de su superficie. Se estimulan una serie de cascadas intracelulares que finalmente producen la secreción del contenido de los gránulos densos y gránulos alfa, como el ADP y el TXA₂, sustancias fundamentales para el proceso de agregación plaquetaria.

Figura 4. Fases de la hemostasia primaria.



A. Adhesión: La alteración de la integridad del endotelio vascular da lugar a la interacción entre las plaquetas con el colágeno subendotelial mediante los ligandos fibrinógeno y el FvW del plasma. B. Activación: la adhesión de la plaqueta al colágeno da lugar a un cambio de forma y la activación de cascadas intracelulares que producen la secreción de los gránulos densos y alfa (con sustancias como el tromboxano A2 y el ADP). C. Agregación: Las plaquetas adheridas y activadas producen abundantes sustancias amplificadoras de la señal inicial de activación (TXA2 y ADP) que favorecen la estimulación de otras plaquetas y aumentan la expresión de la GPIIb/IIIa en la membrana plaquetaria y por medio de segundos mediadores intracelulares transforman esta proteína de membrana en un receptor competente para enlazar el fibrinógeno circulante, que a la vez se unirá a los receptores de membrana de otras plaquetas circulantes, constituyendo el tapón plaquetario [63].

Las plaquetas desempeñan además funciones en la respuesta inmune e inflamatoria mediante la interacción con los leucocitos y con las células endoteliales vasculares [65]. En la respuesta inmune innata (la más temprana a la infección y el daño vascular) las plaquetas facilitan la adhesión de los neutrófilos al subendotelio, mediante la liberación de citoquinas y quimioquinas que atraen a los leucocitos activados e induciendo la expresión de moléculas de adhesión por el endotelio. También liberan mediadores como la IL-1-B que favorece la producción de proteínas de fase aguda que

inhiben el crecimiento microbiano y además secuestran los patógenos en el interior de agregados plaquetarios o por internalización directa [66-67]. En la respuesta inmune adquirida, las plaquetas liberan mediadores como el PF-4 (factor plaquetario 4) que al unirse a su receptor en la superficie de los linfocitos CD4+ Th1 favorece su activación y la regulación de la respuesta inmune [68].

Recientemente se ha atribuido también a las plaquetas un papel en la regeneración hepática en modelos animales con hepatectomía parcial o isquemia hepática, mediante distintos mediadores entre los que destaca la serotonina [69-72] .

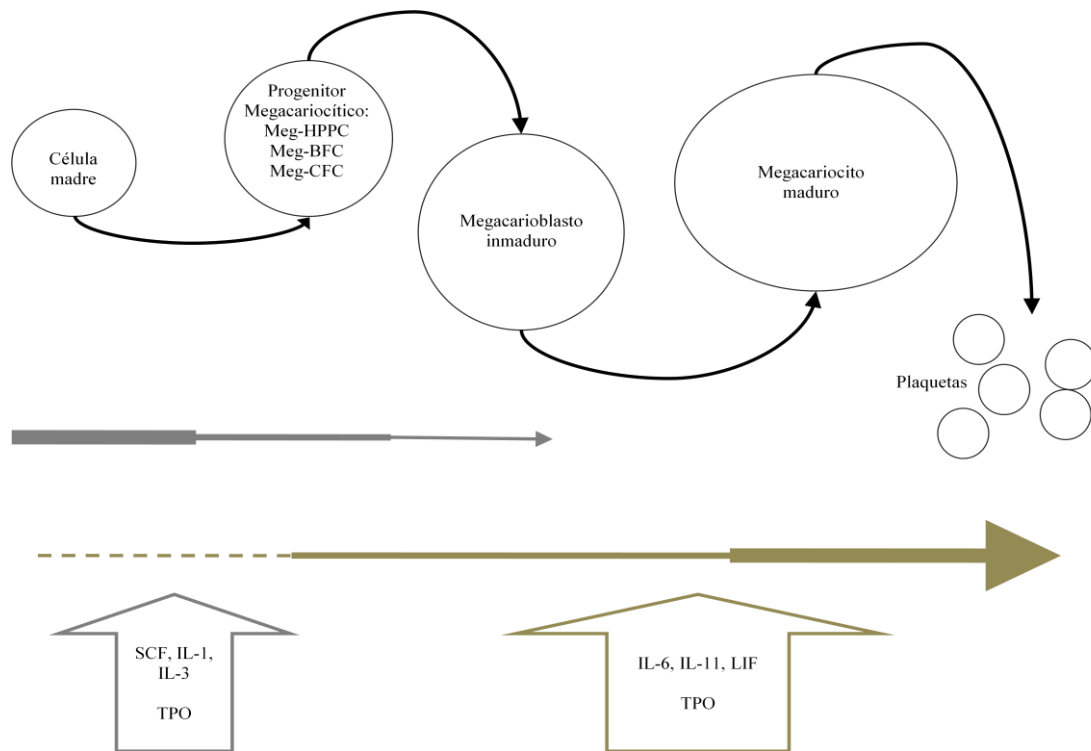
iii. TROMBOPOYESIS

Las plaquetas son producidas en la médula ósea a partir de células madre pluripotentes. El progenitor megacariocítico primitivo es el meg-HPPC (Unidad de Alto Potencial Proliferativo, Megakaryocyte High Proliferative Potencial Cell) que se aísla exclusivamente en la médula fetal. Esta célula precursora se transforma posteriormente hacia el meg-BFC (Unidad Formadora de Estallidos de Megacariocitos, Megakaryocyte Burst-forming Cell) y el meg-CFC (Unidad Formadora de Colonias de Megacariocitos, Megakaryocyte Colony-forming Cell). Estas células precursoras se identifican también en la médula del adulto. Las meg-CFC se transforman en megacarioblastos que en presencia de los factores de crecimiento apropiados maduran a megacariocitos. Finalmente, la maduración de los megacariocitos incluye una maduración nuclear (aumento progresivo de la ploidía por endomitosis o replicación cromosómica sin división nuclear ni citoplasmática) y una maduración citoplasmática (aumento del volumen citoplasmático, desarrollo del sistema de demarcación de la membrana, formación de gránulos y finalmente fragmentación en plaquetas) [63].

iv. *REGULACIÓN DE LA TROMBOPOYESIS*

El desarrollo de las plaquetas es un proceso complejo que depende de las células madre hematopoyéticas, diversos factores de crecimiento y células del estroma del microambiente de la médula ósea. Los factores de crecimiento pueden ser a su vez estimuladores o inhibidores y pueden actuar en diferentes fases del desarrollo plaquetario, de forma que algunos predominan en el desarrollo temprano y otros en el desarrollo tardío (ver figura 5 y tabla 2) [64, 73-74].

Figura 5. Múltiples niveles de regulación de la trombopoyesis.



La célula madre hematopoyética se desarrolla hacia la estirpe megacariocítica perdiendo su potencial de diferenciación. Algunos factores actúan en fases iniciales de la trombopoyesis (SCF, IL-1, IL-3) y otros principalmente en fases tardías (IL-6, IL-11, LIF). La TPO tiene actividad sobre todas las estirpes celulares. SCF: factor de células madre, stem cell factor. IL: interleuquina. TPO: trombopoyetina. LIF: factor inhibidor de leucocitos. Meg-HPPC: Unidad de Alto Potencial Proliferativo, Megakaryocyte High Proliferative Potencial Cell. Meg-BFC: Unidad Formadora de Estallidos de Megacariocitos, Megakaryocyte Burst-forming Cell. Meg-CFC: Unidad Formadora de Colonias de Megacariocitos, Megakaryocyte Colony-forming Cell.

Tabla 2. Factores de crecimiento implicados en la trombopoyesis.

Factores de crecimiento implicados en la trombopoyesis		Momento de actuación	
		Temprano	Tardío
Tipo de acción	Estimulador	IL-1 IL-3 SCF TPO EPO TNF-alfa HGF	IL-6 IL-11 LIF TPO HGF
	Inhibidor*	TGF-B1 IFN alfa IFN beta	

Los factores estimuladores pueden ejercer su influencia en fases precoces o tardías de la trombopoyesis.

*Se desconoce la acción de los factores inhibidores en función de la fase de la trombopoyesis. IL: interleuquina. SCF: factor de células madre, stem cell factor. TPO: trombopoyetina. EPO: eritropoyetina. TNF: factor de necrosis tumoral, tumor necrosis factor. HGF: factor de crecimiento hepatocitario, hepatocyte growth factor. LIF: factor inhibidor de leucocitos. TGF: factor de crecimiento transformante, transforming growth factor. IFN: interferon.

Trombopoyetina (TPO, también conocido como ligando de c-mpl, Megakaryocytic Growth and Differentiation Factor MGDF, Megapoyetina)

La trombopoyetina fue descubierta en los años 90, si bien su existencia se sospechó desde los años 50 [75]. Inicialmente se identificó su receptor llamado c-Mpl (cytoplasmic-myeloproliferative leukemia virus oncogene) que fue descubierto en un modelo animal de síndrome mieloproliferativo agudo [76]. Se observó que este receptor se expresaba en células precursoras CD34+, megacariocitos y plaquetas [77] y que su eliminación en ratones manipulados genéticamente producía un descenso en el crecimiento de precursores megacariocíticos (meg-CFU) [78]. A partir del receptor c-Mpl, se identificó su ligando, el cual estimulaba el desarrollo de las plaquetas, y de ahí su nombre: trombopoyetina (TPO) [79-80].

La trombopoyetina está formada por 353 aminoácidos y su gen se encuentra en el brazo largo del cromosoma 3 (3q27-28) [81]. Estimula in vitro la maduración de los megacariocitos (aumentando la ploidía, el tamaño y la expresión de glicoproteínas de membrana) [82-85], previene la apoptosis de megacariocitos [86] e induce la formación y la liberación de plaquetas a partir de células precursoras CD34+ [87]. La trombopoyetina también es un potente factor estimulador de todos los progenitores de megacariocitos y del resto de progenitores hematopoyéticos, actuando sinérgicamente con otros factores estimuladores (IL-3, IL-11, SCF y EPO) [74, 88-92].

La producción de la trombopoyetina se ha estudiado en modelos animales adultos sanos, habiéndose identificado RNA mensajero de la trombopoyetina principalmente en el hígado [93], y en menor medida en riñón, músculo liso, bazo, intestino, cerebro, pulmón y médula ósea [94]. En fetos humanos y en neonatos pretérmino se ha observado la expresión de RNAm de la trombopoyetina en médula ósea, bazo y principalmente en el hígado [95]. En estudios de hibridación in situ en tejido de adultos humanos sanos se ha demostrado que las principales células que expresan RNAm de trombopoyetina son los hepatocitos y en menor medida las células epiteliales del tubo contorneado proximal del riñón [96].

La producción de trombopoyetina por el hígado es constitutiva e independiente del número de plaquetas circulante, ya que la expresión de trombopoyetina en el hígado es similar en casos de trombocitopenia (no asociada a enfermedad hepática), recuento de plaquetas normal o de trombocitosis [96].

Una menor producción hepática de trombopoyetina da lugar a un descenso en el número de plaquetas. Ratones genéticamente modificados sin expresión hepática de trombopoyetina tienen una reducción de plaquetas de aproximadamente el 50%. Estos

resultados sugieren la ausencia de una secreción compensatoria de trombopoyetina por parte de otros órganos en este modelo animal (que tiene un hígado normal excepto por la disminución de la producción trombopoyetina) o por lo menos la compensación es insuficiente para sustituir la producción hepática [93]. De hecho, con técnicas de hibridación in situ en humanos se ha observado, en presencia de trombocitopenia grave, una mayor producción de trombopoyetina por las células del estroma de la médula ósea (las cuales sintetizan muy baja cantidad de trombopoyetina en condiciones normales) aunque los mecanismos moleculares de esta respuesta se desconocen [96].

El nivel circulante de trombopoyetina es determinado por la misma masa circulante de plaquetas mediante un mecanismo de retroalimentación negativa. Las plaquetas maduras que circulan en la sangre tienen el receptor c-mpl. La unión de la trombopoyetina a su receptor en la membrana plaquetaria da lugar a la internalización del complejo TPO-receptor y a su degradación [97-98]. De esta manera las plaquetas eliminan la trombopoyetina de la circulación evitando la estimulación de los precursores megacariocíticos en la médula ósea. En condiciones normales, este mecanismo permite eliminar la mayoría de trombopoyetina de la circulación dando lugar a una concentración baja de la misma que produce una estimulación basal de la médula ósea y una producción normal de plaquetas. Cuando hay menor cifra de plaquetas en sangre periférica, hay menor cantidad global de receptor c-mpl al que se pueda unir la trombopoyetina por lo que ésta no se elimina y así hay mayor cantidad de trombopoyetina que alcanza la médula ósea produciendo mayor estimulación de los precursores megacariocíticos [99-100]. De hecho, en un estudio que valoró la concentración de trombopoyetina sanguínea en controles sanos sin trombocitopenia, en pacientes con trombocitopenia central (anemia aplásica) y periférica (PTI) se observó unos niveles indetectables de trombopoyetina en los controles y en los pacientes con

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

trombocitopenia de origen periférico, mientras que en los pacientes con origen central se observaron unos niveles muy elevados de trombopoyetina. Esto sugiere que existe un aumento de degradación de la trombopoyetina unida a las plaquetas en el bazo en los pacientes con trombocitopenia periférica [101].

Existen excepciones a este mecanismo de regulación de la trombopoyetina, por ejemplo en la trombocitosis reactiva a procesos inflamatorios (infecciosos, inmunológicos y tumorales) se pierde la relación inversa entre trombopoyetina y plaquetas, por lo que existe una concentración de trombopoyetina en sangre periférica en estos procesos anormalmente alta. In vitro se ha observado que la IL-6 es el mediador que estimula la expresión del RNAm de trombopoyetina en el hígado en estas situaciones, además de otras proteínas de fase aguda de síntesis hepática (fibrinógeno, amiloide sérico) así como la estimulación de los progenitores megacariocíticos en la médula ósea (ver apartado siguiente) [58, 94, 102]. Por otra parte se ha observado que células endoteliales de diferentes tejidos expresan el receptor c-mpl en su superficie, sin embargo, sin producir cambios en los niveles circulantes de trombopoyetina [103].

Otros factores de crecimiento implicados en la trombopoyesis:

Además de la trombopoyetina hay otros factores de crecimiento implicados en la trombopoyesis, que son producidos por células sanguíneas (principalmente macrófagos y linfocitos) y por células del microambiente de la médula ósea (fibroblastos y células endoteliales) (Figura 6).

Entre los factores de crecimiento tempranos destacan la IL-3, el SCF (Stem Cell Factor o steel factor) y la IL-1. La IL-3 es producida principalmente por células endoteliales del estroma de la médula ósea. Estimula las células madre pluripotentes incluyendo la producción de meg-CFC (unidades formadoras de colonias de

megacariocitos) in vitro e in vivo [104-105] con un mecanismo dependiente de trombopoyetina [106-107]. El SCF, es producido por los fibroblastos y las células endoteliales de todo el organismo favoreciendo la proliferación, migración, supervivencia y diferenciación de las diferentes células incluyendo progenitores hematopoyéticos. Su receptor c-KIT (tirosinkinasa) existe en las células madre así como en los progenitores megacariocíticos. Sin embargo, a medida que avanza la diferenciación celular se produce una pérdida de la expresión de c-kit. La acción del SCF en estas células formadoras de colonias muy tempranas con alto potencial proliferativo es sinérgica con otras citoquinas como trombopoyetina, IL-3, IL-1 y GM-CSF (factor estimulador del crecimiento de monocitos y granulocitos) [108]. La IL-1 es producida por diferentes tipos celulares (células endoteliales, fibroblastos, macrófagos) de múltiples tejidos en respuesta a estímulos inflamatorios. Se encarga de la regulación del sistema inmune, inducción de la fiebre, producción de proteínas de fase aguda, reparación tisular y citotoxicidad. Además, actúa sobre las células madre hematopoyéticas de forma sinérgica con otros factores de crecimiento (GM-CSF, IL-3, SCF) para aumentar la proliferación de las unidades formadoras de colonias de alto potencial proliferativo [63].

Dentro de los factores de crecimiento que actúan en fases tardías de la trombopoyesis cabe destacar la IL-6, IL-11 y LIF (factor inhibidor de leucocitos). La IL-6 es producida por linfocitos T activados y células del estroma medular. Estimula la maduración de los megacariocitos aumentando el número de plaquetas in vitro y en modelos animales [104, 109] y forma parte de la respuesta inflamatoria estimulando la síntesis hepática de trombopoyetina y favoreciendo la trombocitosis reactiva [94, 102]. La IL-11 es una citoquina producida por fibroblastos de la médula ósea y por otros tipos celulares en diferentes tejidos (pulmón, sistema nervioso central, testículos, útero, piel).

Tiene múltiples efectos biológicos y desde el punto de vista de la trombopoyesis estimula la producción, diferenciación y maduración de los megacariocitos [110]. El factor inhibidor de leucemia (LIF), contribuye a la proliferación de las líneas celulares dependientes de IL-3 [63].

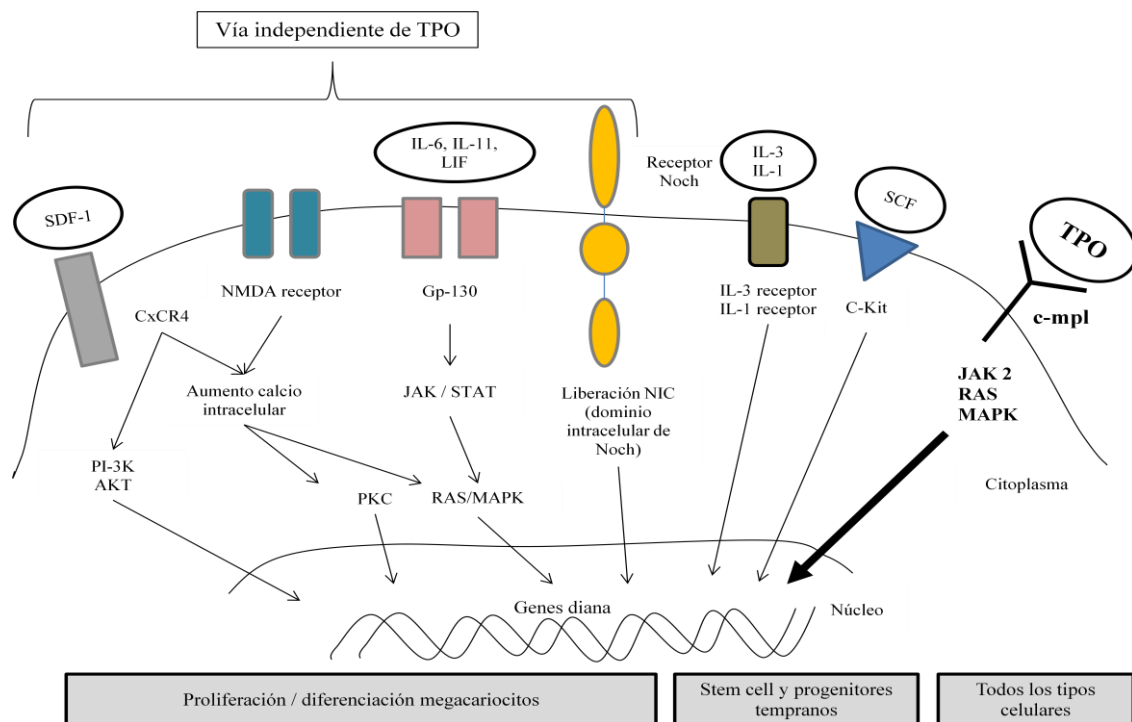
El TNF-alfa (Tumor Necrosis Factor-alfa), es una citoquina proinflamatoria producida por los macrófagos y los linfocitos activados en respuesta a infección, inflamación y daño tisular. Entre sus funciones cabe destacar la regulación de la hematopoyesis favoreciendo el estímulo o la inhibición de las células madre hematopoyéticas [111].

Por otro lado, el HGF (Hepatocyte Growth Factor) es un factor de crecimiento que es un potente activador de la regeneración hepatocelular. En ratones se ha observado su expresión en casi todos los órganos internos incluyendo el hígado y las células sanguíneas [112]. Su receptor es de tipo tirosinkinasa y se expresa en diferentes células epiteliales (hepatocitos, intestino, riñón, endotelio). Actúa como regulador de la eritropoyesis, estimulando la proliferación y diferenciación de células pluripotenciales y progenitores eritropoyéticos en la médula ósea; sin embargo, su contribución en la trombopoyesis no está completamente dilucidado [113]. En ratones manipulados genéticamente con mayor producción de este factor, se observó un aumento en el recuento de plaquetas y en la concentración de trombopoyetina. Se postula que su influencia en la trombopoyesis podría ser mediada por un aumento de la transcripción de la trombopoyetina por parte del hígado [112, 114].

Las citoquinas implicadas en la trombopoyesis actúan de forma sinérgica en el estímulo de los diferentes progenitores, y la trombopoyetina es el principal factor regulador. Sin embargo, se ha observado que ratones modificados genéticamente con déficit de trombopoyetina o de su receptor c-mpl presentan trombocitopenia grave pero

permanecen sanos y sin signos de hemorragia espontánea, lo cual sugiere la existencia de mecanismos de trombopoyesis independientes de trombopoyetina (Figura 6). En este sentido se han investigado 4 vías diferentes: la cascada de señalización de la gp-130 (cuyos ligandos son la IL-6, la IL-11 y el LIF), la cascada de señalización de los receptores NMDA y Noch y por último el receptor CxCR4 cuyo ligando es la molécula SDF-1 (Stromal cell-Derived Factor-1). Según estudios en ratones modificados genéticamente con déficit de trombopoyetina, se ha observado que las IL-6, IL-11 y LIF no presentan un papel esencial en el mantenimiento del recuento de plaquetas [115], sin embargo el SDF-1 (citoquina expresada por las células del estroma de la médula ósea) actúa sólo y sinérgicamente con la trombopoyetina para aumentar la formación de colonias de megacariocitos [116-118] y podría tener un papel más significativo en caso de déficit de trombopoyetina [119].

Figura 6. Factores de crecimiento y vías de señalización implicadas en la trombopoyesis.



La TPO estimula la proliferación y maduración de toda la estirpe megariocítica. Otros factores de crecimiento actúan de forma sinérgica con la TPO. En fases tempranas de la trombopoyesis destacan el SCF, la IL-1 y la IL-3. En fases más tardías actúan factores de crecimiento independientes de la TPO (como IL-6, 11, LIF y SDF-1) a través de diferentes cascadas de señalización intracelular. SDF: factor derivado de células del estroma, stromal cell derived factor. IL: interleuquina. LIF: factor inhibidor de leucocitos. TPO: trombopoyetina. SCF: factor de células madre, stem cell factor. MAPK: mitogen-activated protein kinases. JAK: Janus Kinase. STAT: signal transducer and activator of transcription. NMDA: N-Methyl—D-aspartic acid. CxCR4: chemokine receptor 4. Gp-130: glicoproteína 130.

C. TROMBOCITOPENIA

i. DEFINICIÓN Y FISIOPATOLOGÍA

El recuento normal de plaquetas en sangre es de 150×10^3 - $400 \times 10^3/\text{mm}^3$, un recuento por debajo del límite inferior de la normalidad se considera trombocitopenia, mientras que un recuento de plaquetas por encima del límite superior de la normalidad se denomina trombocitosis.

Mecanismos de la trombocitopenia:

La disminución del recuento plaquetario en sangre periférica puede ser debido a una menor producción por parte de la médula ósea (mecanismo central) o por una mayor aclaramiento de la sangre periférica (mecanismo periférico), ya sea por el acúmulo de plaquetas en el bazo, también conocido como secuestro esplénico, o por una destrucción acelerada [111].

La trombocitopenia central se debe a procesos que afectan a la célula madre hematopoyética y se suele acompañar de anemia y leucopenia en grado variable. Las causas más frecuentes son la aplasia medular, la fibrosis medular, la infiltración de la médula por células malignas, los déficits nutricionales, o sustancias tóxicas como el etanol o fármacos citotóxicos (carboplatino, agentes alquilantes, antraciclinas, antimetabolitos). El diagnóstico se establece mediante un examen de la médula ósea obtenida por aspiración o biopsia, donde se observa un número escaso de megacariocitos [111].

El secuestro esplénico es una causa de trombocitopenia periférica. La esplenomegalia se define como aumento del volumen o hipertrofia del bazo. Las causas más frecuentes de esplenomegalia son la hipertensión portal y la infiltración esplénica por células tumorales en los procesos mieloproliferativos o linfoproliferativos [111]. El hiperesplenismo es un concepto clásico que viene definido por la presencia de esplenomegalia y trombocitopenia o leucopenia [120]. Cuando el bazo aumenta de tamaño se acentúa el secuestro de las plaquetas por el mismo de forma que el bazo alberga hasta el 50-90% de la masa total de plaquetas dando lugar a trombocitopenia a pesar de una trombopoyesis normal, una masa total de plaquetas normal y una vida

media de las plaquetas cercana a lo normal. Las plaquetas que permanecen en el bazo son destruidas por los macrófagos esplénicos [121-123].

La destrucción acelerada de las plaquetas es otro mecanismo de trombocitopenia de origen periférico [111]. La destrucción de las plaquetas puede ser mediada por un mecanismo no inmunológico o inmunológico. La existencia de anomalías vasculares, los trombos de fibrina y las prótesis vasculares pueden reducir la supervivencia de las plaquetas y dar lugar a una trombocitopenia no inmunológica. Esto ocurre en la vasculitis, síndrome hemolítico urémico (SHU), púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y coagulación intravascular diseminada (CID). La destrucción acelerada de plaquetas mediada por el sistema inmune se debe al desarrollo de anticuerpos que se unen a la superficie plaquetaria por mimetismo molecular con algunos virus [124-125], bacterias o fármacos (algunos antibióticos, heparinas no fraccionadas, IECAs y diuréticos tiazídicos) [126], o bien por un proceso autoinmune conocido como púrpura trombocitopénica idiopática en el que existen autoanticuerpos frente a los elementos de la membrana plaquetaria [127] favoreciendo su eliminación por los macrófagos del bazo u otros órganos [128].

ii. LA TROMBOCITOPENIA EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

La trombocitopenia es una de las alteraciones mas frecuentemente detectadas en las pruebas de laboratorio de los pacientes con cirrosis [129]. La prevalencia de trombocitopenia en la cirrosis varía desde el 15% al 70% dependiendo de la gravedad de la enfermedad hepática, la etiología de la cirrosis y el umbral elegido para definir la trombocitopenia [130-132].

Existen diferentes definiciones de trombocitopenia pero el umbral clínicamente relevante es aquel que define la trombocitopenia grave cuyo punto de corte se establece

entre 55×10^3 y 75×10^3 plaquetas/ mm^3 [133-135]. En un estudio que valora el proceso de coagulación en el suero de pacientes con cirrosis y controles se observó que el umbral aproximado de menos de 65×10^3 plaquetas/ mm^3 puede limitar la formación de trombina alterando el proceso de la coagulación [54]. En el contexto de la cirrosis este punto de corte puede tener impacto en diversas situaciones como la realización de procedimientos diagnósticos/terapéuticos invasivos (biopsia hepática, paracentesis, cirugías), en la hemorragia por varices esofagogástricas, y en el contexto del tratamiento de tumores sólidos/hematológicos con quimioterapia.

Hasta el momento el procedimiento habitual para minimizar este riesgo es la transfusión de plaquetas. Sin embargo, las transfusiones de plaquetas están asociadas a complicaciones como sobrecarga de volumen, aloinmunización, reacciones alérgicas, infecciones e incluso refractariedad tras múltiples transfusiones. Este motivo, junto con el hecho de que las plaquetas sean un recurso limitado ha promovido la búsqueda de factores de crecimiento que estimulen la producción de plaquetas como el trombopag, un agonista de la trombopoyetina que ha demostrado ser útil en el apoyo del tratamiento de la hepatitis C con interferón [136] así como en pacientes con cirrosis y trombocitopenia grave que requieren procedimientos invasivos. Sin embargo, este último estudio describió un efecto no esperado ya que en estos pacientes el fármaco se asoció con un aumento en la incidencia de trombosis en la circulación portal [137-138].

iii. PRINCIPALES MECANISMOS DE LA TROMBOCITOPENIA EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

En la cirrosis intervienen varios mecanismos que pueden dar lugar a trombocitopenia, los cuales se describen a continuación.

Esplenomegalia e hipertensión portal:

Clásicamente se ha considerado como el mecanismo principal implicado en la trombocitopenia del paciente con cirrosis [62, 122-123, 128]. El papel de la esplenomegalia en la trombocitopenia se estudió en los años 70 con técnicas de marcaje, mediante las cuales las plaquetas se identifican con Cr 51 y posteriormente se visualizan mediante escintigrafía. En adultos sanos, el 30% de la masa total de plaquetas se acumula en el bazo manteniendo un intercambio continuo y fluido con las plaquetas circulantes [139]. Sin embargo, en pacientes con esplenomegalia debido a distintas causas, el intercambio entre plaquetas circulantes y plaquetas acumuladas en el bazo se reduce, de forma que estas últimas aumentan desproporcionadamente con respecto a las plaquetas circulantes, de forma que existe una relación directa entre las plaquetas acumuladas y el tamaño del bazo [140].

Diferentes estudios han evaluado la relación entre las plaquetas circulantes y el tamaño del bazo en pacientes con cirrosis (Tabla 3). Muchos observaron una correlación negativa entre el recuento de plaquetas y el tamaño del bazo, es decir que a mayor tamaño del bazo, menor recuento de plaquetas circulantes [141-146]. Sin embargo existen algunos estudios discordantes, en los que no se ha podido demostrar esta correlación [147-149].

Tabla 3. Estudios que valoran la relación entre el recuento de plaquetas y el tamaño del bazo.

Artículo	N	Tipo de pacientes	Variables	Relación plaquetas-tamaño bazo
Shah 1996	25	Cirrosis con HTP	Plaquetas, GPVH, bazo	No relación
Kawasaki 1999	48 pacientes 30 controles	Hepatitis viral -22 no cirróticos -26 cirróticos	Plaquetas, TPO, bazo	Negativa con bazo Positiva con TPO
Adinolfi 2001	209	Hepatitis viral -85 con esplenomegalia -124 sin esplenomegalia	Plaquetas, TPO, bazo, fibrosis hepática	Negativa con bazo Positiva con TPO
Koruk 2002	66 pacientes 27 controles	18 hepatitis crónica 48 cirrosis	Plaquetas, TPO, bazo	No relación
Akyuz 2007	74	HTP con o sin cirrosis	Plaquetas, TPO, bazo	Negativa con bazo No relación con TPO
Sanjo 2003	58 pacientes 16 controles	29 hepatitis crónica 29 cirrosis	Plaquetas, TPO, bazo, IgG antiplaqueta	Negativa con IgG y bazo No relación con TPO
Freni 2002	68 pacientes 27 controles	19 hepatitis crónica 34 cirrosis 15 hepatocarcinoma	Plaquetas, bazo, TPO	Negativa con bazo No relación con TPO
Ríos 2005	33	Cirrosis (Child A17, B9, C7)	Plaquetas, TPO, bazo, función hepática	Negativa con bazo No relación con TPO
Djorjevic 2010	40	Cirrosis (Child A6, B16, C18)	Plaquetas, bazo, función hepática	No relación

HTP: hipertensión portal. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO: trombopoyetina.

Tradicionalmente se ha considerado la esplenomegalia como un marcador no invasivo de la presencia de hipertensión portal [150-152]. De hecho se han establecido diferentes métodos no invasivos que incluyen el tamaño del bazo para valorar la presencia de varices [153-155], siendo el índice plaquetas/diámetro del bazo el que tiene mayor precisión [156].

Por otra parte, se ha considerado la trombocitopenia como un marcador indirecto de la presencia de HTP y de varices [152, 157-158]. Sin embargo, no existe un valor umbral que sea capaz de predecir con precisión la presencia de varices, aunque puede ser útil en combinación con medidas de elasticidad del hígado y diámetro del bazo [159]. En la tabla 4 se describen los diferentes estudios que han valorado la asociación entre el recuento de plaquetas y el gradiente de presión venosa hepática.

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

Tabla 4. Estudios que han valorado la relación entre el recuento de plaquetas y el gradiente de presión venosa hepática.

Artículo	N	Tipo de pacientes	Relación GPVH-plaquetas
Bellis 2007	59 44 con GPHT (16 leve y 28 grave)	Cirrosis con HTP (EHD)	No relación
Qamar 2008	213	Cirrosis compensada con HTP sin VEG	Negativa
Thabut 2007	130	12% fibrosis mínima 17% fibrosis moderada 71% cirrosis (biopsia hepática)	Negativa en cirróticos
Nahon 2005	100	Cirrosis VHC Child A	Negativa
Dittrich 2005	83	Cirrosis (Child A27.7%, B57.8%, C13.3%)	Negativa
Brandi 1997	70	Cirrosis	No relación

HTP: hipertensión portal. EHD: estudio hemodinámico. VEG: varices esofagógicas. VHC: virus de hepatitis C. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. GPHT: gastropatía hipertensiva.

Déficit de producción de trombopoyetina:

Con el descubrimiento de la trombopoyetina, se hipotetizó que la insuficiencia hepatocelular que se observa en la cirrosis podría dar lugar a un déficit de trombopoyetina que a su vez podría tener un impacto sobre el recuento de plaquetas. Múltiples estudios han valorado la asociación entre los niveles circulantes de trombopoyetina y el recuento de plaquetas con resultados contradictorios (Tabla 5).

La mayoría de los estudios describen una disminución progresiva en la trombopoyetina circulante a medida que avanza la fibrosis hepática (incluyendo desde pacientes con hepatitis crónica hasta pacientes con cirrosis) [142-143, 145, 160]. Además, se ha observado que los niveles de trombopoyetina circulante aumentan tras el trasplante hepático, lo cual se asocia a una normalización en el recuento de plaquetas [160-162]. En el mismo sentido, se ha observado que tras la implantación de un TIPS, no se produce una normalización del recuento de plaquetas [160], aunque sí una mejoría de la trombocitopenia en algún estudio [163-165]; en otros estudios no se apreció ningún cambio [166-167].

Sin embargo, la mayor parte de los estudios no observan ninguna correlación entre la trombopoyetina circulante y el recuento de plaquetas [143-145, 148], si bien en un estudio en el que se categorizó los pacientes según la presencia de trombocitopenia grave (plaquetas < 60 x10³/mm³), se observa menor trombopoyetina en los pacientes con mayor trombocitopenia [168].

Tabla 5. Estudios que valoran la relación fibrosis hepática, trombopoyetina y plaquetas.

Artículo	N	Tipo de pacientes	Variables	Asociación TPO-fibrosis Relación TPO-plaquetas
Kawasaki 1999	48 pacientes 30 controles	Hepatitis viral -22 no cirróticos -26 cirróticos	Plaquetas, TPO, bazo	Negativa TPO-fibrosis Positiva TPO-plaquetas
Adinolfi 2001	209	Hepatitis viral -85 con esplenomegalia -124 sin esplenomegalia	Plaquetas, TPO, bazo, fibrosis hepática	Negativa TPO-fibrosis Pacientes con trombocitopenia <TPO
Giannini 2002	25	Hepatitis crónica VHC	Plaquetas, TPO, bazo, fibrosis hepática	Negativa TPO-fibrosis Positiva TPO-plaquetas
Aref 2004	40 pacientes 14 controles	11 hepatitis crónica VHC 10 cirrosis mixta 19 fibrosis hepática por esquistosomiasis	Plaquetas, TPO, bazo	Negativa TPO-fibrosis No relación TPO-plaquetas TPO más alta en pacientes con plaquetas >60.000
Koruk 2002	66 pacientes 27 controles	18 hepatitis crónica 48 cirrosis	Plaquetas, TPO, bazo	Negativa TPO-fibrosis No relación TPO-plaquetas
Akyuz 2007	74	HTP con o sin cirrosis	Plaquetas, TPO, bazo	Plaquetas similar en grupo con/sin cirrosis Grupo con cirrosis >bazo <TPO No relación TPO-plaquetas
Sanjo 2003	58 pacientes 16 controles	29 hepatitis crónica 29 cirrosis	Plaquetas, TPO, bazo, IgG antiplaqueta	No relación TPO-fibrosis No relación TPO-plaquetas
Freni 2002	68 pacientes 27 controles	19 hepatitis crónica 34 cirrosis 15 hepatocarcinoma	Plaquetas, bazo, TPO	No relación TPO-fibrosis ni plaquetas
Ríos 2005	33	Cirrosis (Child A17, B9, C7)	Plaquetas, TPO, bazo, función hepática THO o embolización parcial del bazo	TPO < en cirrosis que en controles No relación TPO-plaquetas (sí tras THO/embolización)
Goulis 1999	43 pacientes 21 controles	Cirrosis	Plaquetas, bazo, TPO basales y tras THO Comparación grupo 1 plaquetas <120.000 y grupo 2 plaquetas > 120.000	Positiva TPO-plaquetas TPO < en grupo 1 Aumento TPO tras THO en grupo 1

TPO: trombopoyetina. THO: trasplante hepático.

En su conjunto, los datos sugieren que la insuficiencia hepatocelular condiciona una disminución en la secreción de este factor de crecimiento principal en la

trombopoyesis lo que podría contribuir en cierto grado a la trombocitopenia de la cirrosis.

Anticuerpos antiplaquetarios:

Existen diversos estudios que han observado anticuerpos antiplaquetarios en pacientes con cirrosis de diferentes etiologías, los cuales pudieran contribuir a la trombocitopenia de los pacientes cirróticos [169-176]. De hecho, se ha descrito una similitud entre la trombocitopenia del cirrótico y la PTI (púrpura trombocitopénica idiopática) [177]. Los marcadores de destrucción / recambio plaquetario (como la proporción de plaquetas reticuladas -plaquetas jóvenes- y el índice de glicocalicina en plasma -GCI-) están significativamente más elevados en ambas enfermedades en comparación con los controles [178]. Además, en la cirrosis hepática existe un aumento de complejos IgG-plaquetas y anticuerpos IgG contra la GPIIb/IIIa de las plaquetas con una correlación inversa con el recuento de plaquetas [144, 177, 179] y con el volumen del bazo [144].

Datos indirectos adicionales se derivan de un estudio que incluyó 63 pacientes con cirrosis por VHC con trombocitopenia y esplenomegalia a los que se realizó una esplenectomía para facilitar el tratamiento de la hepatitis C. En estos pacientes se valoró el recuento de plaquetas y de inmunoglobulinas antiplaquetarias (totales, IgG, M y A) antes y después de la cirugía. Se observó una correlación negativa entre las plaquetas y las inmunoglobulinas en el momento basal, así como un aumento en el recuento de plaquetas y un descenso de los anticuerpos antiplaquetarios tras la esplenectomía en todos los pacientes. Esto sugiere que el mecanismo inmune juega un papel importante en la trombocitopenia de la cirrosis por VHC y que el bazo es una fuente importante de inmunoglobulinas antiplaquetarias [180].

Mecanismo central por supresión de la médula ósea:

Existen varios factores que pueden favorecer la trombocitopenia en el cirrótico por un mecanismo central; entre ellos destacan el VHC, el consumo de alcohol, la desnutrición con déficit de vitaminas B12 y ácido fólico y diferentes fármacos.

Implicación de otros factores de crecimiento en la trombocitopenia de la cirrosis:

Además de la trombopoyetina hay otros factores de crecimiento implicados en la trombopoyesis como se ha descrito previamente. Existen pocos estudios que hayan valorado los efectos de estas citoquinas en el recuento de plaquetas en el contexto de la cirrosis. En un estudio no se observó ningún cambio significativo en las otras citoquinas implicadas en la trombopoyesis (IL-1, IL-6 and IL-11) tras trasplante hepático (n=17 pacientes), mientras que se observó un aumento significativo de la trombopoyetina y del recuento de plaquetas tras el procedimiento [181].

Asimismo se ha valorado el uso de factores de crecimiento recombinantes en la trombocitopenia asociada a la cirrosis. En un estudio con un modelo animal de cirrosis inducido por tetracloruro de carbono con trombocitopenia, se observó un aumento de la expresión de RNAm de trombopoyetina en el hígado con aumento de los megacariocitos en la médula ósea y del recuento de plaquetas en sangre periférica, tras la administración de HGF (hepatocyte growth factor) [114]. En humanos, se ha estudiado la administración de IL-11 recombinante (utilizada previamente con seguridad para el tratamiento de la trombocitopenia secundaria a quimioterapia en pacientes con cáncer de mama) en 10 pacientes con cirrosis hepática Child-Pugh A y B con trombocitopenia. Se administró durante 30 días y al cabo de este tiempo se observó un aumento significativo de $\geq 50\%$ del recuento de plaquetas en 8 de los 10 pacientes.

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

Los principales efectos secundarios estuvieron en relación con la expansión del volumen plasmático secundario a la infusión [182].

2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

La trombocitopenia es uno de los hallazgos en las pruebas de laboratorio que caracteriza la hepatopatía avanzada. A pesar de detectarse con frecuencia, los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a ésta no se conocen en su totalidad. Tradicionalmente se ha considerado que la trombocitopenia está asociada a la esplenomegalia que a su vez es un marcador de hipertensión portal [150-152, 155-157, 183]. Según esta hipótesis, la disminución del recuento de plaquetas circulantes es secundaria al atrapamiento de las plaquetas en el bazo y por tanto, secundaria al grado de hipertensión portal. Sin embargo, el descubrimiento de la trombopoyetina, que es el principal factor de crecimiento involucrado en la trombopoyesis y que es producida fundamentalmente por el hígado, ha introducido un nuevo elemento que pudiera contribuir a explicar la trombocitopenia de la cirrosis. La trombopoyetina estimula la producción y maduración de los megacariocitos en la médula ósea, aumentando así el recuento de plaquetas circulantes. Se puede especular que el hígado con cirrosis es capaz de sintetizar una menor cantidad de trombopoyetina debido a la insuficiencia hepatocelular y por este motivo disminuir la producción medular de plaquetas. Sin embargo, los estudios realizados en este sentido han dado lugar a resultados contradictorios, probablemente debido a las diferencias entre las poblaciones de estudio. [141-142, 146, 148, 168, 184] [143, 145].

Por otra parte, los estudios que han valorado los factores implicados en la trombopoyesis en la cirrosis se han centrado en general exclusivamente en uno de sus mecanismos principales, ya sea la insuficiencia hepatocelular (a través de una reducción en la síntesis de la trombopoyetina) o la hipertensión portal, (ya sea evaluada de forma directa o indirectamente mediante la cuantificación del tamaño del bazo). Así pues, no hay estudios que hayan valorado de forma simultánea la implicación de estos

mecanismos principales en la trombocitopenia de la cirrosis. Además, aunque la esplenomegalia es considerada clásicamente como un simple reflejo de la congestión del bazo debido a la hipertensión portal, hay datos que sugieren que el bazo tiene un papel activo en el desarrollo de la esplenomegalia [185], más allá del efecto puramente mecánico. Por tanto se podría especular que el aumento del volumen del bazo en sí mismo pudiera tener un papel independiente en la trombocitopenia de la cirrosis.

Asimismo los diferentes estudios realizados no contemplan que la implicación de un determinado mecanismo fisiopatológico en el desarrollo de la trombocitopenia pudiera ser desigual a lo largo de la historia natural de la enfermedad hepática crónica. De hecho, estudios recientes sugieren que mientras que la hipertensión portal predomina en la fase compensada de la enfermedad, la insuficiencia hepatocelular y la presencia de inflamación sistémica adquieren una mayor importancia en la fase descompensada. Por tanto, es posible especular que la trombocitopenia en pacientes con cirrosis esté determinada por diferentes mecanismos según la fase evolutiva de la enfermedad, de forma que en pacientes con cirrosis compensada, la hipertensión portal pudiera ser el elemento más determinante, mientras que la insuficiencia hepatocelular, con la consecuente reducción en la síntesis hepática de trombopoyetina, pudiese tener un papel predominante en el desarrollo de la trombocitopenia en la fase descompensada.

Finalmente, se desconoce la implicación de otros mecanismos alternativos a la producción hepática de trombopoyetina en la trombopoyesis de la cirrosis, ya sea por la activación de otras vías dependientes de trombopoyetina o de vías independientes de trombopoyetina.

Así pues, la hipótesis general del presente estudio es que la trombocitopenia de la cirrosis tiene un carácter multifactorial no relacionado de forma exclusiva con el

grado de hipertensión portal. Esta hipótesis general se desarrolla en las siguientes afirmaciones:

- En la trombocitopenia de la cirrosis están implicados diversos mecanismos incluyendo el grado de hipertensión portal, el volumen esplénico y el deterioro de la función hepatocelular.
- La influencia relativa de cada factor (especialmente la alteración en la síntesis de trombopoyetina y la magnitud de la hipertensión portal) depende de la fase evolutiva de la cirrosis, a saber, cirrosis compensada y cirrosis descompensada.
- A medida que avanza la insuficiencia hepatocelular, existe una disminución en la síntesis hepática de trombopoyetina, lo cual podría dar lugar a una activación de vías alternativas de trombopoyesis, ya sea con la síntesis de trombopoyetina por parte de otros órganos o por la estimulación de la trombopoyesis por vías independientes de la trombopoyetina.

3. OBJETIVOS

Objetivo primario:

1. Evaluar la influencia relativa del grado de hipertensión portal estimada por el GPVH, el tamaño del bazo medido por volumetría y los niveles de trombopoyetina en el recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis.

Objetivos secundarios:

1. Evaluar la contribución relativa de cada uno de los factores potencialmente asociados al recuento de plaquetas en función de la fase evolutiva de la enfermedad (fase compensada o descompensada de la cirrosis).
2. Valorar la asociación entre la síntesis hepática de trombopoyetina y el grado de deterioro de la función hepática.
3. Evaluar mediante la comparación de la concentración de trombopoyetina en vena suprahepática y en sangre periférica la posible existencia de vías alternativas dependientes de trombopoyetina en el recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis.
4. Evaluar la asociación entre los niveles de otras citoquinas involucradas en la trombopoyesis (IL-6, IL-11, SCF, HGF) y el recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis.

4. PACIENTES Y MÉTODOS

D. DISEÑO DEL ESTUDIO Y SELECCIÓN DE PACIENTES

Se trata de un estudio transversal, observacional y unicéntrico. La población de estudio estuvo constituida por pacientes con cirrosis. El espacio muestral son los pacientes con cirrosis a los que se les indicó la realización de un estudio hemodinámico en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón entre los meses de enero de 2008 y junio de 2009. Todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y que no cumplieron ningún criterio de exclusión participaron en el estudio.

Los criterios de inclusión fueron a) diagnóstico de cirrosis establecido según hallazgos clínicos, analíticos, ecográficos y/o histológicos, b) con estudio hemodinámico hepático realizado entre enero de 2008 y junio de 2009 con obtención de muestra de sangre de venas suprahepáticas y venas periféricas.

Se excluyeron aquellos pacientes con antecedentes de positividad del virus de inmunodeficiencia humana, hipertensión portal no sinusoidal incluyendo la hipertensión portal prehepática o presinusoidal (por ejemplo trombosis y cavernomatosis portal, estadios iniciales de la cirrosis biliar primaria, esquistosomiasis, esclerosis hepatportal y fibrosis hepática congénita) y posthepática, trasplante hepático previo, presencia de otras comorbilidades que pudieran influir el recuento plaquetario (aplasia-hipoplasia de médula ósea, síndromes mielodisplásicos, púrpura trombocitopénica idiopática previamente diagnosticada, infecciones, fármacos, enfermedades autoinmunes –lupus, síndrome antifosfolípido-, púrpura trombocitopénica trombótica), presencia de enfermedad renal terminal y esplenectomía y/o embolización esplénica previa. La presencia de un carcinoma hepatocelular, en ausencia de otros criterios de exclusión (por ejemplo trombosis portal), no fue considerado un criterio de exclusión.

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

En este centro se realizan aproximadamente 300 estudios hemodinámicos por año. Las indicaciones de este procedimiento son la realización de una biopsia hepática transyugular en aquellos pacientes en los que se estima que el riesgo de una biopsia hepática percutánea es excesivo, valoración diagnóstica de la hipertensión portal, valoración de pacientes con hemorragia digestiva alta por varices esofágicas, valoración de pacientes con carcinoma hepatocelular y en el contexto del estudio pretrasplante hepático. Dada la variedad de indicaciones incluyendo pacientes con cirrosis compensada y descompensada consideramos que la población de estudio representa todo el espectro de pacientes con cirrosis hepática.

E. VARIABLES DE ESTUDIO

Se registraron los datos demográficos y clínicos incluyendo la etiología de la enfermedad hepática y la presencia o ausencia de descompensación clínica, así como los resultados de pruebas de laboratorio incluyendo hemoglobina, leucocitos, plaquetas, INR, ALT, AST, bilirrubina, creatinina, sodio sérico y albúmina. Se calcularon la puntuación Child-Pugh (ver Tabla 6) y la puntuación MELD (ver Tabla 7).

Tabla 6. Puntuación de Child-Pugh.

Puntos	1	2	3
Bilirrubina (mg/dL)	< 2	2 – 3	> 3
INR	< 1.7	1.7 - 2.3	> 2.3
Albúmina (g/dL)	> 3.5	2.8 – 3.5	< 2.8
Ascitis	Ausencia	Responde a diuréticos	Refractaria
Encefalopatía	Ausencia	Grado I-II	Grado III-IV

La puntuación Child-Pugh se determina sumando los puntos de cada uno de las 5 variables. Según la puntuación obtenida se clasifica a los pacientes en Child-Pugh grado A (5-6 puntos), Child-Pugh grado B (7-9 puntos) y Child-Pugh grado C (≥ 10 puntos) [43]

Tabla 7. Puntuación de MELD (Model for End-Stage Liver Disease).

$$\text{Meld} = 3.8 \times \text{Ln Bilirrubina (mg/dL)} + 11.2 \times \text{Ln (INR)} + 9.6 \times \text{Ln Creatinina (mg/dL)}$$

La puntuación MELD se determina mediante una fórmula matemática que incluye tres variables, la bilirrubina, el INR y la creatinina, cuyos valores mínimos son de 1. Si el paciente ha recibido cualquier modalidad de diálisis al menos dos veces durante la semana anterior al cálculo, el valor de creatinina a considerar es 4 mg/dL. Inicialmente la puntuación pronóstica MELD se desarrolló para determinar el riesgo de muerte a los 3 meses tras la colocación de un TIPS [186]. Actualmente el MELD es utilizado para valorar la gravedad de la cirrosis hepática y se correlaciona muy bien con la mortalidad a tres meses. Desde el año 2002 se utiliza para priorizar a los pacientes en lista de espera de trasplante hepático, ya que su determinación no está influida por valoraciones subjetivas y las variables que contiene son asequibles y reproducibles [42, 187].

La descompensación clínica se definió según la presencia de ascitis, encefalopatía hepática y/o hemorragia por varices en el momento del estudio o en el pasado [37]. Se definió la presencia de trombocitopenia grave como la presencia de un recuento de plaquetas igual o inferior a $65 \times 10^3/\text{mm}^3$, ya que este umbral se ha asociado a mayor riesgo de sangrado tras procedimientos invasivos y además por debajo de este recuento de plaquetas se dificulta la formación de la trombina [54, 134-135, 188].

F. ESTUDIO HEMODINÁMICO

Tras un mínimo de 12 horas de ayuno, se insertó un introductor de catéteres generalmente en la vena yugular derecha o vena femoral derecha según la técnica de Seldinger, a través del cual se introdujo un catéter multipropósito (*Medikit Co Ltd. Tokyo, Japan*) para canalizar una de las venas suprahepáticas principales, habitualmente la vena suprahepática media o derecha. Se introdujo un catéter balón (*Cordis SA, Miami, Florida*) que se posicionó a menos de 5 cm de la desembocadura de las venas

suprahepáticas en la vena cava para la realización de las medidas [189]. En esta localización, se comprobó la oclusión completa de la vena suprahepática con el balón inflado y tras la inyección de 2 ml de contraste. Se realizaron 3 medidas de presión suprahepática libre (PSHL) y enclavada (PSHE). El GPVH se obtuvo mediante la resta entre estas dos presiones (PSHE-PSHL). En el caso de que la diferencia entre la presión suprahepática libre y la presión en la vena cava inferior fuera mayor a 1 mmHg, se utilizó esta última medida para el cálculo del GPVH. Todas las medidas se guardaron en soporte electrónico. Se ha validado el GPVH como estimación de la presión portal en la cirrosis hepática por alcohol y viral [32, 34, 189-192]. El valor normal del GPVH oscila entre 1 a 5 mmHg en nuestro laboratorio.

A continuación se introdujo un catéter Swan-Ganz (*Abbott Laboratories, Chicago, USA*) en la arteria pulmonar derecha para medir la presión de la arteria pulmonar, la presión capilar pulmonar y la presión de la aurícula derecha [193]. El gasto cardiaco fue medido por la técnica de termodilución y la resistencia vascular sistémica se calculó a partir de la ley de Ohm mediante la fórmula $RVS = 80 \times (\text{Presión Arterial Media} - \text{Presión Aurícula Derecha}) / GC$; (din.s.cm^{-5}) [13].

Durante el estudio hemodinámico se extrajeron 20 cc de sangre, 10 cc de sangre periférica del brazo del introductor introducido en la vena yugular y 10 cc de sangre procedente de la vena suprahepática. Estas muestras posteriormente se centrifugaron a 4000 rpm durante 20 min. El suero obtenido se archivó a -80°C.

G. VALORACIÓN DE CITOQUINAS EN SANGRE PERIFÉRICA Y SUPRAHEPÁTICA POR ELISA

Se midieron la trombopoyetina (TPO) (R&D Systems, Minneapolis, USA) y otros mediadores de la trombopoyesis como interleuquina 6 (IL-6) (Gen-probe, San

Diego, USA), interleuquina 11 (IL-11) (Raybiotech Inc, Georgia, USA), stem cell factor (SCF) (Raybiotech Inc, Georgia, USA), y hepatocyte growth factor (HGF) (Raybiotech Inc, Georgia, USA) en sangre periférica. Además se determinó la trombopoyetina en sangre de la vena suprahepática. Los umbrales de detección de las diferentes citoquinas fueron 18.5 pg/mL para TPO, 3 pg/mL para HGF, 2 pg/mL para IL-6, 9.8 pg/mL para IL-11 y 8.23 pg/mL para SCF. Se asignó el valor umbral mínimo de detección en aquellos casos en los que la concentración determinada de una citoquina fuera por debajo de este umbral.

H. TÉCNICA DE LA VOLUMETRÍA ESPLÉNICA

Para el cálculo del volumen esplénico se usaron los estudios de imagen (TC o RM) que se realizaron con un máximo de diferencia de tiempo de 4 meses del estudio hemodinámico.

Para su realización se administraron 120 ml de contraste yodado endovenoso utilizando una bomba inyectora a 3 ml/s. Se utilizó la fase portal del estudio del TC abdominal con contraste intravenoso. Se aplicó un retraso en la adquisición de las imágenes desde el comienzo de la inyección de 70 segundos. La evaluación y el post-procesamiento se realizaron en una estación de trabajo de marca registrada.

La volumetría esplénica se realizó de forma semiautomática. Se editó el volumen de forma manual contorneando el bazo con un lápiz electrónico, iniciando el proceso por la parte craneal o superior del órgano utilizando el plano axial y sin incluir las estructuras vasculares que contactan con el bazo.

El volumen del bazo se calculó mediante la técnica del sumatorio-de-volúmenes utilizando una estación de trabajo para trazar el contorno del bazo en cada imagen de la

exploración y para calcular el área en dicha imagen. Esta área se multiplica por el espesor de la sección para calcular el volumen de esa sección axial. La suma del volumen de cada sección representa el volumen total del bazo. El volumen se expresó en centímetros cúbicos (cc). El volumen del bazo calculado por la técnica de sumatorio de volúmenes en TC se considera la prueba de referencia para la estimación del tamaño del bazo [194].

I. DEFINICIÓN DEL GRUPO CONTROL SIN CIRROSIS

Con el fin de comprobar los resultados obtenidos en pacientes con cirrosis y compararlos con pacientes sin cirrosis, se tomaron muestras de sangre periférica y suprahepática de 15 pacientes a los que se les realizó un cateterismo cardiaco derecho en el contexto del estudio de enfermedad cardiaca en el laboratorio de hemodinámica cardiaca. Las indicaciones del estudio hemodinámico cardiaco en estos pacientes fueron: hipertensión pulmonar, insuficiencia cardiaca, miocardiopatía dilatada y para valoración pretrasplante cardiaco. Se excluyeron pacientes con sospecha de enfermedad hepática o hipertensión portal mediante pruebas de laboratorio (transaminasas, INR, bilirrubina y albúmina) o pruebas de imagen (ecografía abdominal) y pacientes que presentaban condiciones que pudieran influenciar el número y función de las plaquetas, incluyendo el consumo de fármacos (p.ej: heparina, ácido valproico, antiagregantes plaquetarios, antibióticos como sulfamidas o linezolid), la aplasia medular, el síndrome mielodisplásico, la púrpura trombocitopénica trombótica, infección por VIH, infecciones con sepsis en el momento del estudio hemodinámico, enfermedad renal crónica avanzada o esplenectomía previa. Durante el procedimiento, se tomaron muestras de sangre de vena suprahepática (10 cc) y de sangre periférica (10 cc) para medir la trombopoyetina.

J. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 15.0.

Para el análisis descriptivo de la muestra, las variables cualitativas se describieron con porcentajes. Se analizó la distribución de cada una de las variables continuas con el test de Kolmogorov-Smirnov para determinar su normalidad. Posteriormente se describen estas variables con medias y desviación estándar (DS) o medianas con los rangos intercuartílicos, según la distribución muestral.

Se aplicó el test de χ^2 o test de Fisher, o comparación de medias mediante una prueba de T de Student o U de Mann-Whitney, ANOVA o Kruskal Wallis según la distribución de la muestra y el número de categorías. Se realizó una correlación lineal de Pearson o Spearman según la distribución de la variable para valorar la asociación entre el recuento de plaquetas en sangre periférica y otras variables continuas.

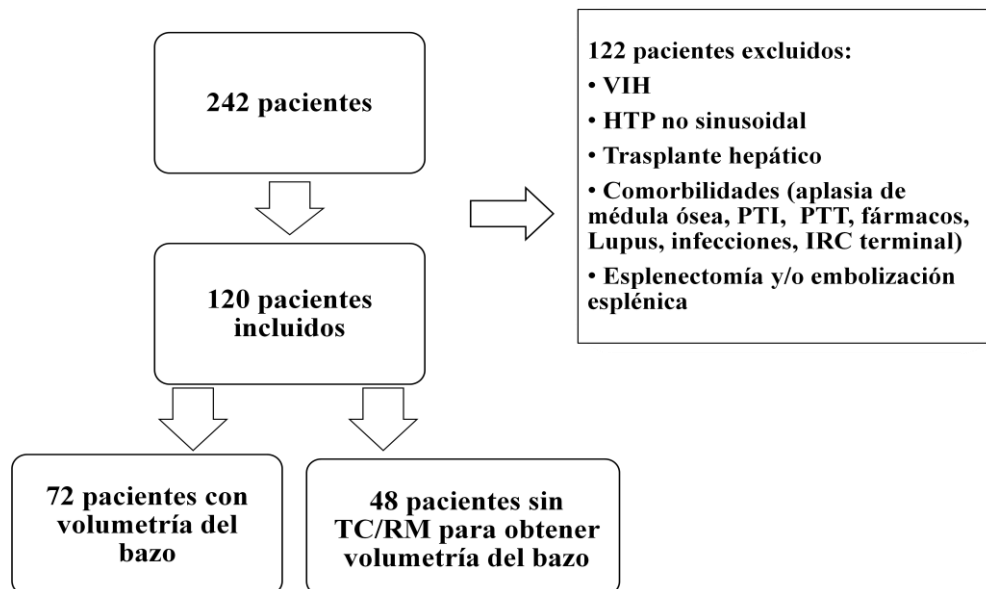
Se evaluaron los factores asociados con el recuento de plaquetas, inicialmente incluyendo todos los pacientes, y posteriormente separando pacientes compensados y descompensados. Finalmente, el cociente entre TPO-P /TPO-H fue comparado entre los pacientes con cirrosis y los controles.

Para todos los análisis estadísticos se usó un nivel de significación menor de 0.05. Se obtuvo la aprobación por el Comité Ético local para la realización de este proyecto. Cada paciente dio su consentimiento informado para la realización del estudio hemodinámico y la obtención de muestras de sangre.

5. RESULTADOS

Durante el periodo del estudio (Enero 2008 a Junio 2009) 242 pacientes recibieron un estudio hemodinámico en nuestro centro. De estos, 122 pacientes fueron excluidos por no cumplir los criterios de inclusión o cumplir algún criterio de exclusión. De los 120 pacientes incluidos, un subgrupo de pacientes (n=72) tenía una prueba de imagen (TC o RM) que permitió el cálculo del volumen del bazo (ver figura 7). En estos pacientes la mediana de tiempo entre el estudio hemodinámico y la prueba de imagen fue de 1 día (-33, 11).

Figura 7. Diagrama de flujo de selección de los pacientes.



De los 242 pacientes que recibieron un estudio hemodinámico hepático, 122 presentaron criterios de exclusión. De los 120 pacientes incluidos, 72 tuvieron una prueba de imagen que permitió el cálculo del volumen del bazo mientras que a los 48 pacientes restantes incluidos en el estudio no se les realizó volumetría esplénica. VIH: virus inmunodeficiencia humana. HTP: hipertensión portal. PTI: púrpura trombocitopénica idiopática. PTT: púrpura trombótica trombocitopénica. IRC: insuficiencia renal crónica.

K. CARACTERÍSTICAS BASALES

La edad mediana de la población fue 52 años (46, 58), con un 78% de varones (n=94). La etiología más frecuente de la cirrosis fue la hepatitis C (n=56, 46.7%), seguida de la enfermedad asociada al consumo de alcohol (n=47, 39.2%). Cincuenta y cuatro pacientes (45.8 %) eran Child-Pugh A, 43 (35.8%), Child-Pugh B y 22 (18.4%) Child-Pugh C. La mayoría de los pacientes estaban en la fase descompensada de la enfermedad (n=80, 67%). El volumen mediano del bazo fue de 636 (455, 893) cc. Las características clínicas, analíticas y hemodinámicas de los pacientes, así como del subgrupo con volumetría esplénica se describen en la tabla 8. Los pacientes con pruebas de imagen que permiten el cálculo de la volumetría esplénica tenían mayor proporción de hepatocarcinoma, debido a que estas pruebas son requeridas para la estadificación correcta de esta enfermedad tumoral. Por lo demás los dos grupos (con y sin volumetría) fueron equiparables, con excepción de la presencia de diferencias estadísticamente significativas aunque clínicamente no relevantes en el INR y la IL-11.

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

Tabla 8. Características de los pacientes

	Total (n=120)	Subgrupo con volumetría (n=72)	Subgrupo sin volumetría esplénica (n=48)	Valor de P
Edad (años)	52 (46, 58)	52 (45, 59)	52 (48, 57)	0.99
Sexo masculino	94 (78)	56 (78)	38 (79)	0.85
Etiología				
Alcohol	47 (39.2)	26 (36.1)	21 (43.7)	0.34
VHC	56 (46.7)	32 (44.4)	24 (50.0)	
Otros	17 (14.1)	14 (19.5)	3 (6.3)	
Grado de Child-Pugh				
A	55 (45.8)	35 (48.6)	19 (40.4)	0.19
B	43 (35.8)	27 (37.5)	16 (34.0)	
C	22 (18.4)	10 (13.9)	12 (25.6)	
Puntuación de Child-Pugh	7 (5, 9)	6 (5, 9)	8 (6, 12)	0.17
MELD	12 (9, 15)	11 (8, 15)	12 (10, 16)	0.08
Descompensación clínica	80 (66.7)	47 (65.3)	33 (68.7)	0.7
CHC	52 (43.7)	38 (53.5)	14 (29.0)	0.009
Criterios Milán	45 (86.5)	33 (86.8)	12 (85.7)	
No criterios Milán	7 (13.5)	5 (13.2)	2 (14.3)	
PAM (mmHg)	86 (77, 98)	87 (78, 100)	83 (73, 93)	0.27
Gasto cardiaco (l/min)	7.5 (6.2, 8.8)	7.2 (6.1, 8.6)	7.9 (6.3, 9.7)	0.12
GPVH (mmHg)	18 (15, 21)	18 (14, 21)	19 (16, 22)	0.35
Hemoglobina (g/dl)	12.1 (10.5, 14.1)	12.2 (10.5, 14.1)	12.1 (10.4, 14.1)	0.86
Leucocitos (x10 ³ /mm ³)	5.20 (3.63, 6.70)	5.05 (3.33, 6.53)	5.35 (3.90, 6.85)	0.24
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	81.0 (60.5, 110.8)	74.5 (58.3, 109.0)	86.5 (67.0, 135.0)	0.22
Bilirrubina (mg/dL)	1.7 (1.1, 3.2)	1.6 (1.1, 3.1)	2.2 (1.2, 3.9)	0.14
INR	1.23 (1.13, 1.43)	1.21 (1.09, 1.40)	1.25 (1.18, 1.48)	0.03
Albúmina (g/dL)	3.5 (3.0, 3.8)	3.5 (3.0, 3.9)	3.4 (3.0, 3.7)	0.33
Creatinina (mg/dL)	0.78 (0.65, 0.95)	0.78 (0.67, 0.94)	0.82 (0.63, 0.99)	0.96
HGF (pg/mL)	473 (342, 733)	461 (281, 640)	553 (367, 805)	0.07
IL-6 (pg/mL)	6.1 (3.5, 17.5)	5.8 (3.4, 19.9)	6.1 (3.5, 14.3)	0.9
IL-11 (pg/mL)	26.4 (18.5, 36.8)	21.4 (17.5, 34.6)	28.9 (20.9, 49.1)	0.02
SCF (pg/mL)	182 (110, 291)	195 (121, 318)	152 (87, 272)	0.13
TPO-P (pg/mL)	42.9 (30.1, 56.2)	40.5 (25.9, 55.8)	47.4 (33.3, 58.2)	0.13
TPO-H (pg/mL)	21.4 (18.5, 39.4)	23.5 (18.5, 44.6)	18.8 (18.5, 34.8)	0.22

*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico y las variables categóricas por la n y el porcentaje. VHC: virus de hepatitis C. MELD: model for end stage liver disease. CHC: carcinoma hepatocelular. PAM: presión arterial media. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. HGF: hepatocyte growth factor. IL: interleuquina. SCF: stem cell factor. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática.

L. FACTORES ASOCIADOS AL RECuento DE PLAQUETAS

El recuento mediano de plaquetas fue de $81.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ (60.5, 110.8). Dada la relevancia del umbral de trombocitopenia grave en la práctica clínica, inicialmente se compararon los pacientes en función de esta variable categórica. El 30% de pacientes (n=36) tenían trombocitopenia grave ($\leq 65.0 \times 10^3/\text{mm}^3$). Los pacientes con trombocitopenia grave presentaron mayor volumen del bazo y mayor leucopenia, así como mayor INR en comparación con los pacientes sin trombocitopenia grave (ver tabla 9). Interesantemente, no se observaron diferencias en la trombopoyetina periférica ni hepática o en otros parámetros de función hepática (puntuación de Child-Pugh, puntuación de MELD, bilirrubina, albúmina) al comparar ambos grupos de pacientes.

Tabla 9. Comparación de los pacientes según la presencia de trombocitopenia grave.

	Plaquetas $\leq 65 \times 10^3$ N=36 (30%)	Plaquetas $> 65 \times 10^3$ N= 84 (70%)	Valor de P
Edad (años)	54 (47, 61)	52 (46, 58)	0.39
Sexo masculino	24 (66.7)	70 (83.3)	0.042
Etiología			
Alcohol	11 (30.6)	36 (42.9)	0.27
VHC	17 (47.2)	39 (46.4)	
Otros	8 (22.2)	9 (10.7)	
Grado de Child-Pugh			
A	16 (44.4)	38 (45.2)	0.97
B	13 (36.1)	30 (35.7)	
C	6 (16.7)	16 (19)	
Puntuación de Child-Pugh	8 (5, 9)	7 (5, 9)	0.83
MELD	12 (9, 15)	11 (9, 15)	0.26
Descompensación clínica	23 (63.8)	57 (67.8)	0.67
Presencia de CHC	19 (52.8)	33 (60.7)	0.17
PAM (mmHg)	87 (78, 98)	86 (77, 97)	0.63
Gasto cardiaco (l/min)	7.3 (6.4, 9.0)	7.7 (6.0, 8.8)	0.89
GPVH (mmHg)	19 (17, 22)	18 (15, 21)	0.28
Hemoglobina (g/dl)	11.4 (10.1, 13.5)	12.5 (10.5, 14.3)	0.052
Leucocitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	3.5 (3.0, 5.83)	5.5 (4.3, 6.8)	0.0001
Bilirrubina (mg/dL)	1.9 (1.2, 3.9)	1.7 (1.0, 3.2)	0.43
INR	1.36 (1.14, 1.58)	1.22 (1.12, 1.36)	0.03
Albúmina (g/dL)	3.5 (2.8, 3.7)	3.5 (3.0, 3.9)	0.44
Creatinina (mg/dL)	0.72 (0.62, 0.91)	0.8 (0.68, 1.01)	0.07
Volumen bazo (cc)	905.0 (620.0, 1127.5)	540.0 (390.0, 775.0)	0.0001
TPO-H (pg/mL)	22.8 (18.5, 42.4)	21.4 (18.5, 35.7)	0.72
TPO-P (pg/mL)	35.1 (18.5, 57.9)	46.3 (32.8, 55.9)	0.16

**Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico y las variables categóricas por la n y el porcentaje. VHC: virus de hepatitis C. MELD: model for end stage liver disease. CHC: carcinoma hepatocelular. PAM: presión arterial media. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática.*

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

A continuación se valoró la asociación entre el recuento de plaquetas en sangre periférica y los diferentes factores que pudieran tener influencia sobre el mismo. En las tablas 10A y 10B se muestran coeficientes de correlación observados entre el recuento de plaquetas y los diferentes mecanismos implicados en la trombocitopenia del cirrótico.

Tabla 10. Asociación entre las plaquetas, los factores implicados en la trombocitopenia y otras posibles variables relevantes.

A) Relación entre el recuento de plaquetas y las diferentes variables continuas.

	r de spearman	Valor de P
Volumen bazo (cc) (n=72)	-0.38	0.001
GPVH (mmHg)	-0.12	0.2
TPO-P (pg/mL) (n=97)	0.19	0.3
Leucocitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	0.41	0.0001
Hemoglobina (g/dL)	0.23	0.013
MELD	-0.14	0.14
INR	-0.26	0.004
Bilirrubina (mg/dL)	-0.16	0.08
Albúmina (g/dL)	0.14	0.14
Creatinina (mg/dL)	0.27	0.003
TPO-H (pg/mL)	0.04	0.7

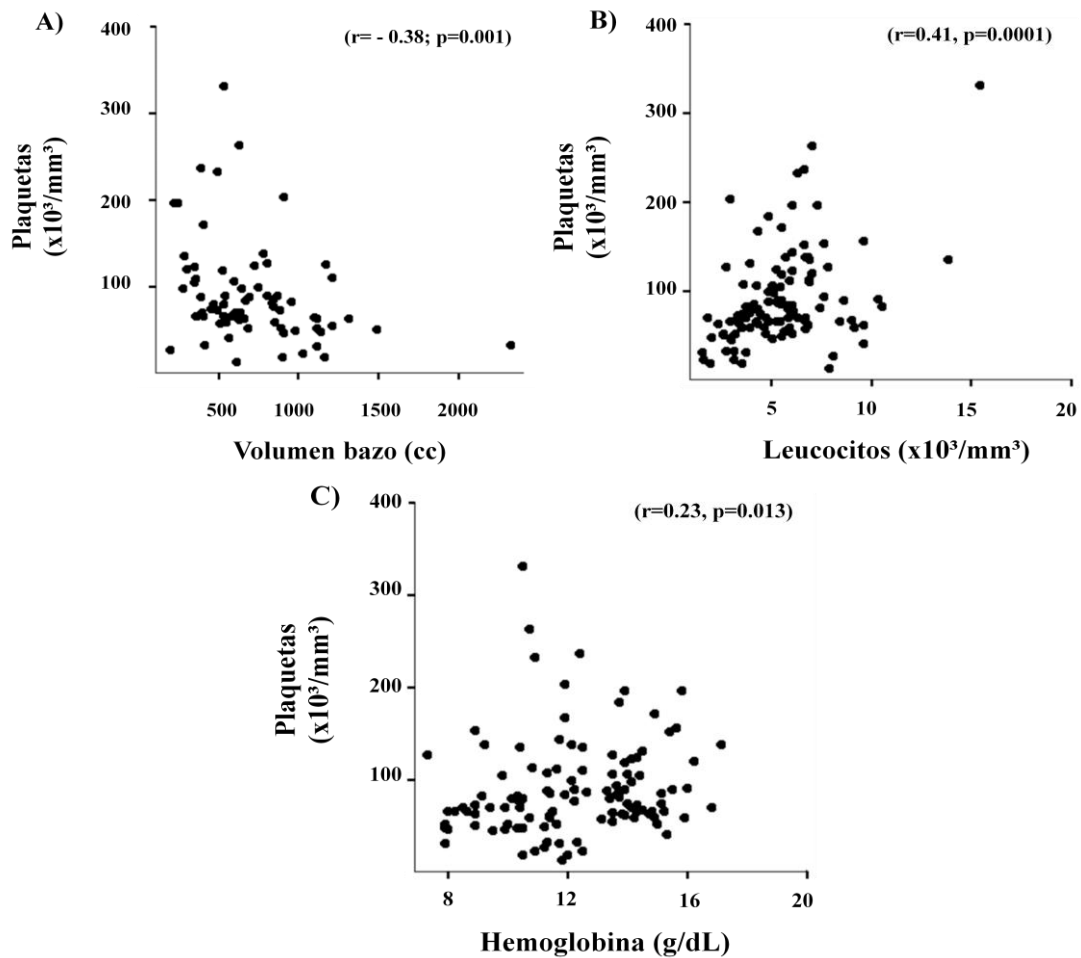
B) Asociación entre las plaquetas y las variables categóricas.

	Recuento de plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Valor de P
Descompensación clínica		
Sí	81.0 (62.0, 109.7)	0.69
No	81.5 (60.0, 118.3)	
Etiología de la cirrosis		
Viral (sí)	75.5 (60.0, 98.5)	0.086
Otra	89.5 (62.0, 129.0)	
CHC		
Sí	82.5 (59.0, 116.7)	0.581
No	80.0 (64.5, 109.5)	

*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. MELD: model for end stage liver disease. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática. CHC: carcinoma hepatocelular.

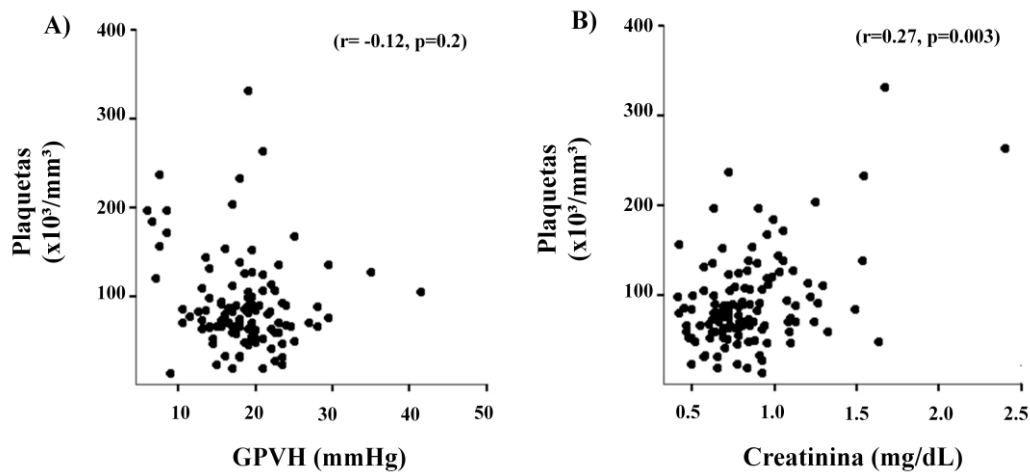
Se observó una correlación inversa entre el volumen del bazo y el recuento de plaquetas en sangre periférica (Figura 8A). En el mismo sentido, se observó una correlación positiva entre el recuento de plaquetas, de leucocitos y hemoglobina en sangre periférica (Figura 8B y 8C).

Figura 8. Correlación del recuento de plaquetas con A) el volumen del bazo, B) el recuento de leucocitos en sangre periférica y C) la concentración de hemoglobina. r , r de spearman.



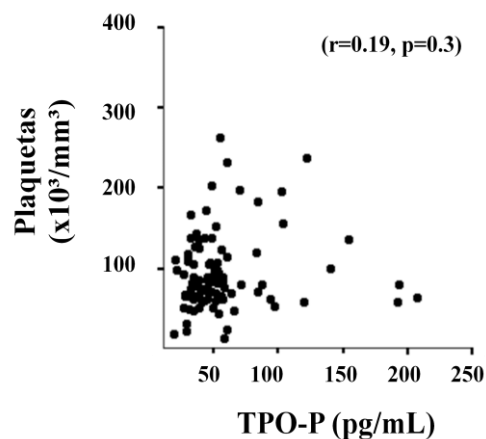
Interesantemente, el recuento de plaquetas en sangre periférica en pacientes con cirrosis no tuvo correlación con el grado de hipertensión portal estimado por el gradiente de presión venosa hepática si bien parecía haber una tendencia a menor recuento de plaquetas a medida que el grado de hipertensión portal era mayor (Figura 9A). Además se observó correlación entre las plaquetas y parámetros de función renal (creatinina) (Figura 9B).

Figura 9. Correlación entre el recuento de plaquetas, A) el GPVH y B) la creatinina. r , r de spearman.



Por otro lado, en los 97 pacientes que presentaron concentraciones de trombopoyetina medibles en sangre periférica, el recuento de plaquetas no se correlacionó con la concentración sérica de trombopoyetina en sangre periférica (Figura 10).

Figura 10. Correlación entre el recuento de plaquetas y el nivel de trombopoyetina en sangre periférica. r , r de spearman.



Finalmente, se observó una correlación entre el recuento de plaquetas y algunos parámetros de función hepática (ver tabla 11) como el INR; sin embargo, no hubo

correlación con la albúmina, la bilirrubina, el MELD (Figura 11), ni se asoció a la fase evolutiva de la cirrosis (Figura 12).

Figura 11. Correlación entre el recuento de plaquetas y parámetros de función hepática (A: INR, B: albúmina, C: bilirrubina, D: MELD). r , r de spearman.

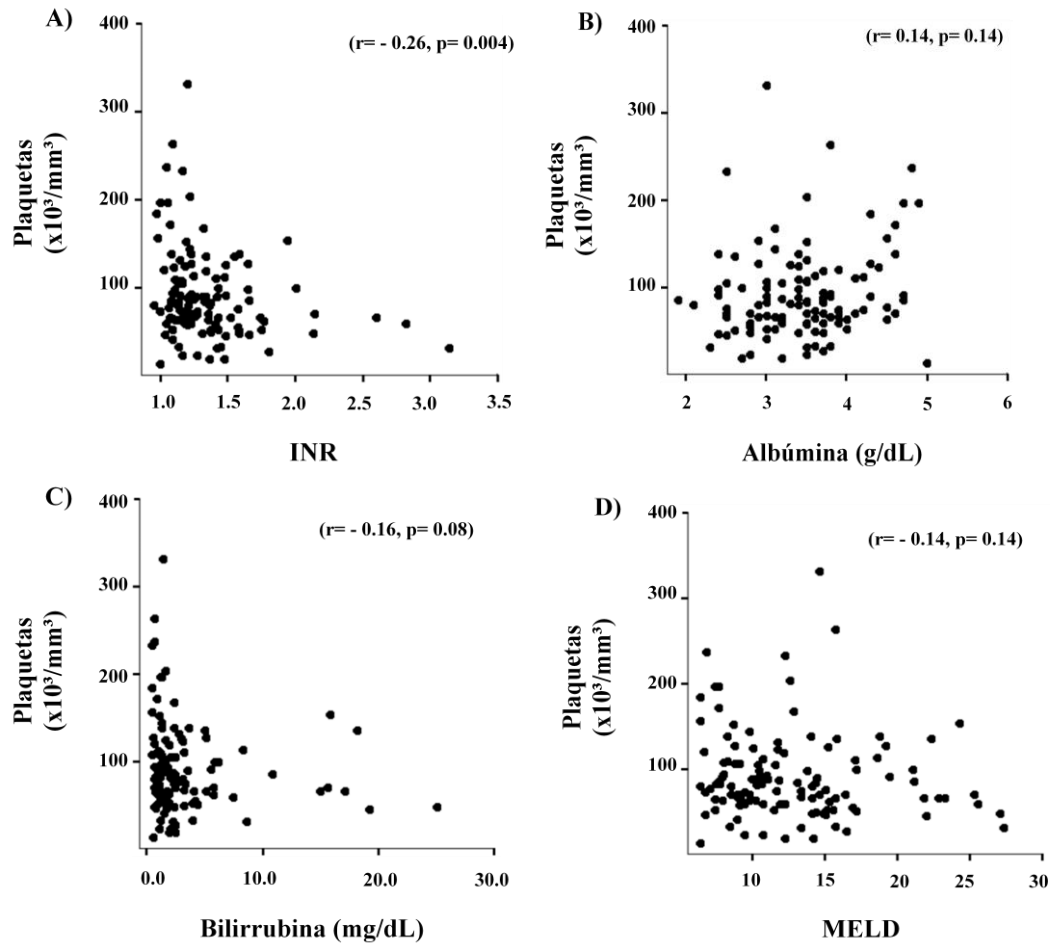
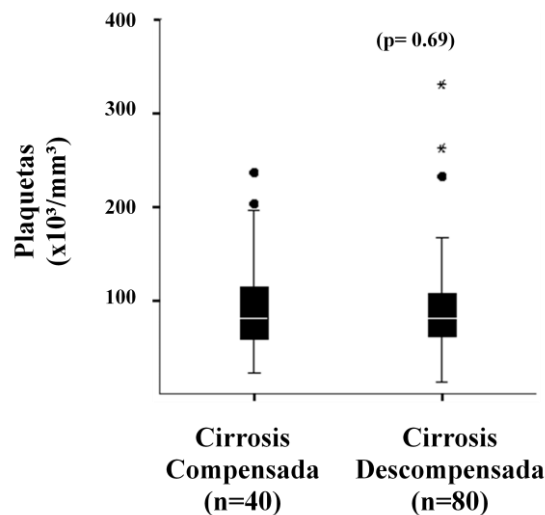
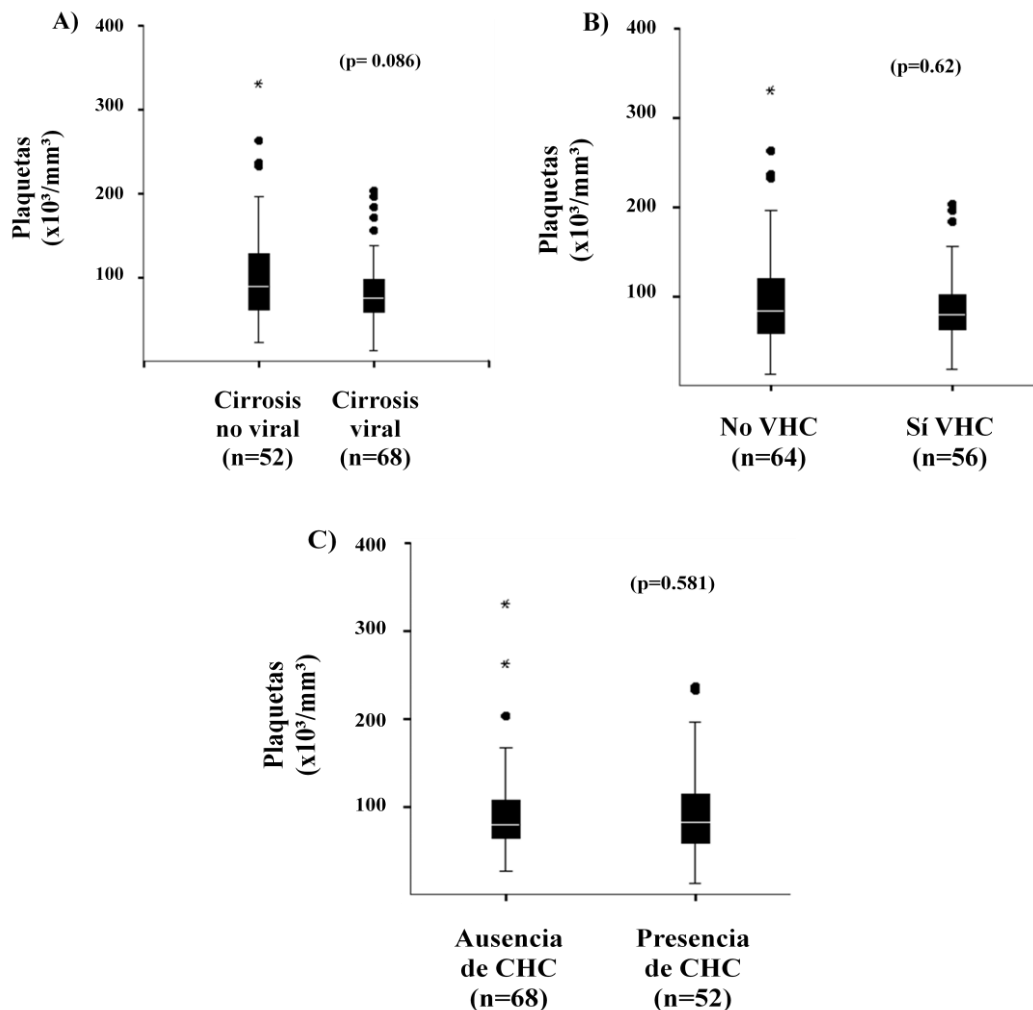


Figura 12. Recuento de plaquetas en función de la fase evolutiva de la cirrosis.



Los pacientes con enfermedad hepática viral tuvieron un recuento de plaquetas menor que los pacientes con otra etiología de enfermedad hepática [$75.5 \times 10^3/\text{mm}^3$ (60.0, 98.5) Vs $89.5 \times 10^3/\text{mm}^3$ (62.0, 129.0), $p=0.086$] aunque esta diferencia no fue significativa (Figura 13A). Sin embargo, no se observó una influencia específica del VHC en el recuento de plaquetas [VHC 80.0×10^3 (63.0, 103.75) vs no-VHC 84.5×10^3 (59.0, 122.0) $/\text{mm}^3$, $p= 0.62$] (Figura 13B). No se detectó diferencia en el recuento de plaquetas en función de la presencia o no de carcinoma hepatocelular ($p=0.581$) (Figura 13C). Tampoco estas dos variables influyeron en la presencia o ausencia de trombocitopenia grave (*ver tabla 10*).

Figura 13. Recuento de plaquetas según la etiología de la enfermedad hepática (A), la presencia de hepatitis C (B) y de carcinoma hepatocelular (C).



M. COMPARACIÓN DE LOS FACTORES ASOCIADOS AL RECuento DE PLAQUETAS SEGÚN LA FASE DE LA ENFERMEDAD

De los 120 pacientes, el 66.7% (n=80) presentaban cirrosis descompensada, mientras que el 33.3% (n=40) estaban compensados. Los pacientes compensados eran de una edad más avanzada, tenían mayor proporción de hepatocarcinoma, más anemia y menor GPVH que los pacientes descompensados; sin embargo no hubo diferencias en cuanto al volumen del bazo ni al recuento de plaquetas [$81.5 \times 10^3/\text{mm}^3$ (60.0, 118.3) vs 81.0×10^3 (62.0, 109.8), $p=0.69$] (Tabla 11, figura 12 y 14). Tampoco hubo diferencias en la proporción de pacientes con trombocitopenia grave ($\leq 65 \times 10^3/\text{mm}^3$) en función de la fase evolutiva de la enfermedad (compensada vs descompensada) [13/40 (32%) vs 23/80 (29%) respectivamente, $p=0.67$] (Figura 14). Sin embargo los pacientes compensados tenían un nivel mayor de trombopoyetina en vena suprahepática (aunque niveles similares de trombopoyetina periférica) (Figura 15) que los pacientes descompensados.

Tabla 11. Diferencias entre los pacientes compensados y descompensados.

	Compensados N=40	Descompensados N=80	Valor de P
Edad (años)	58 (52,68)	50 (44,55)	0.001
Sexo masculino	32 (80)	62 (77.5)	0.75
CHC (sí)	31 (77.5)	21 (26.3)	<0.0001
Gasto cardiaco (l/min)	6.7 (5.6, 8.4)	7.6 (6.5, 9.3)	0.059
GPVH (mmHg)	16 (11, 18)	19 (17, 22)	<0.0001
Hemoglobina (g/dl)	13.9 (12.3, 15.0)	11.4 (9.9, 13.5)	<0.0001
Leucocitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	5.15 (3.75, 6.72)	5.25 (3.65, 6.63)	0.89
Volumen bazo (cc)	725 (396, 876)	630 (488, 905)	0.76
Plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	81.5 (60.0, 118.3)	81.0 (62.0, 108)	0.69
Trombocitopenia grave ($\leq 65 \times 10^3/\text{mm}^3$)	13 (32)	23 (29)	0.67
TPO-H (pg/mL)	33.2 (18.5, 54.5)	18.5 (18.5, 31.5)	0.006
TPO-P (pg/mL)	47.0 (31.3, 66.1)	39.8 (29.1, 55.6)	0.18

*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico y las variables categóricas por la n y el porcentaje. CHC: carcinoma hepatocelular. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica.

Figura 14. GPVH (A), volumen del bazo (B) y presencia de trombocitopenia grave (C) en función de la fase evolutiva de la cirrosis.

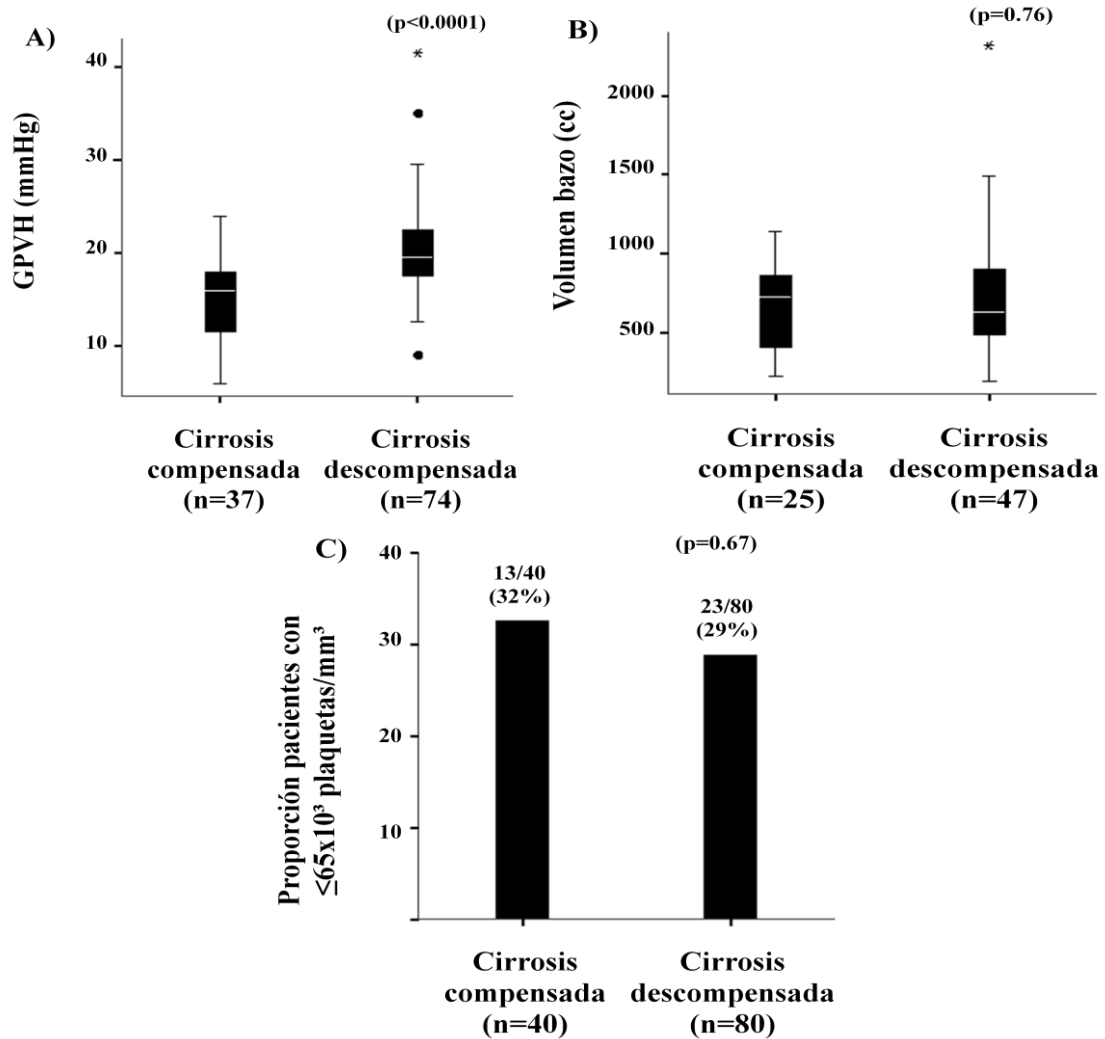
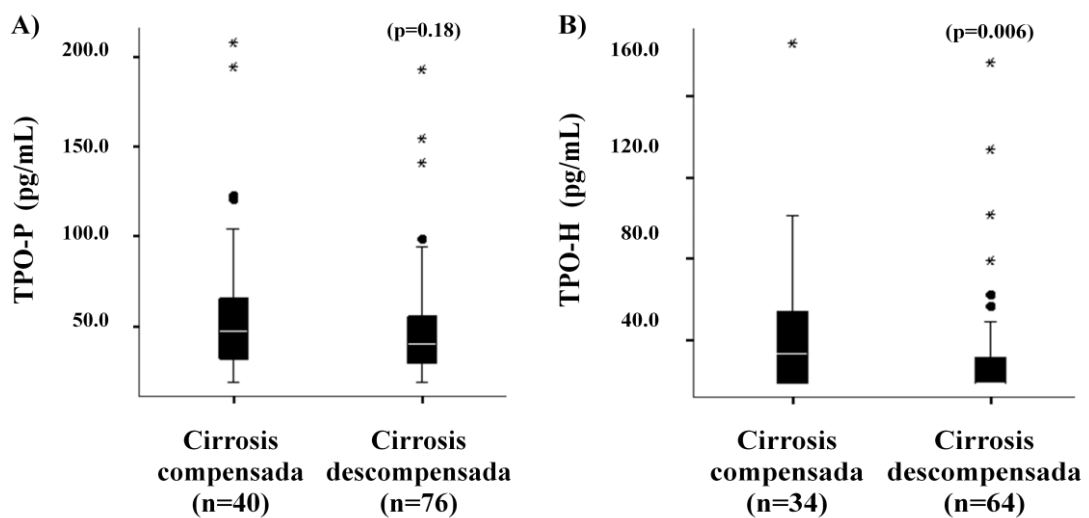


Figura 15. Diferencia entre los niveles de TPO-P (A) y TPO-H (B) según la fase evolutiva de la cirrosis



TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática.

Con la finalidad de explorar la posibilidad de que la influencia de los diferentes factores asociados a la trombocitopenia no sea igual a lo largo de la historia natural de la enfermedad, se evaluaron los factores potencialmente asociados al recuento de plaquetas de forma separada en pacientes con enfermedad compensada o descompensada (tabla 12).

Tabla 12. Correlación entre el recuento de plaquetas y otras variables según la fase evolutiva de la cirrosis. *r*, *r* de spearman.

	Compensados (n=40)		Descompensados (n=80)	
	R	Valor de p	R	Valor de p
Volumen bazo (cc) (n=72)	- 0.49	0.012	- 0.31	0.034
GPVH (mmHg)	- 0.47	0.004	- 0.01	0.09
TPO-P (pg/mL) (n=97)	0.31	0.05	0.11	0.35
Leucocitos (x10³/mm³)	0.34	0.036	0.45	0.0001
Hemoglobina (g/dL)	0.21	0.2	0.24	0.04
INR	- 0.44	0.004	- 0.26	0.02
Bilirrubina (mg/dL)	- 0.21	0.19	- 0.13	0.24
Albúmina (g/dL)	0.38	0.016	0.035	0.76
TPO-H (pg/mL)	0.018	0.92	0.042	0.74

GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática.

En la enfermedad compensada el recuento de plaquetas presentó una correlación inversa con el GPVH y el volumen del bazo así como una correlación positiva con el recuento de leucocitos y con la trombopoyetina periférica (Figura 16). Asimismo se observó una correlación positiva con la concentración de albúmina y una correlación inversa con el INR (Figura 17).

Figura 16. Correlación entre el recuento de plaquetas y A) el volumen del bazo, B) el GPVH, C) el recuento de leucocitos en sangre periférica, D) la concentración de trombopoyetina en sangre periférica de pacientes con cirrosis hepática compensada. r , r Spearman.

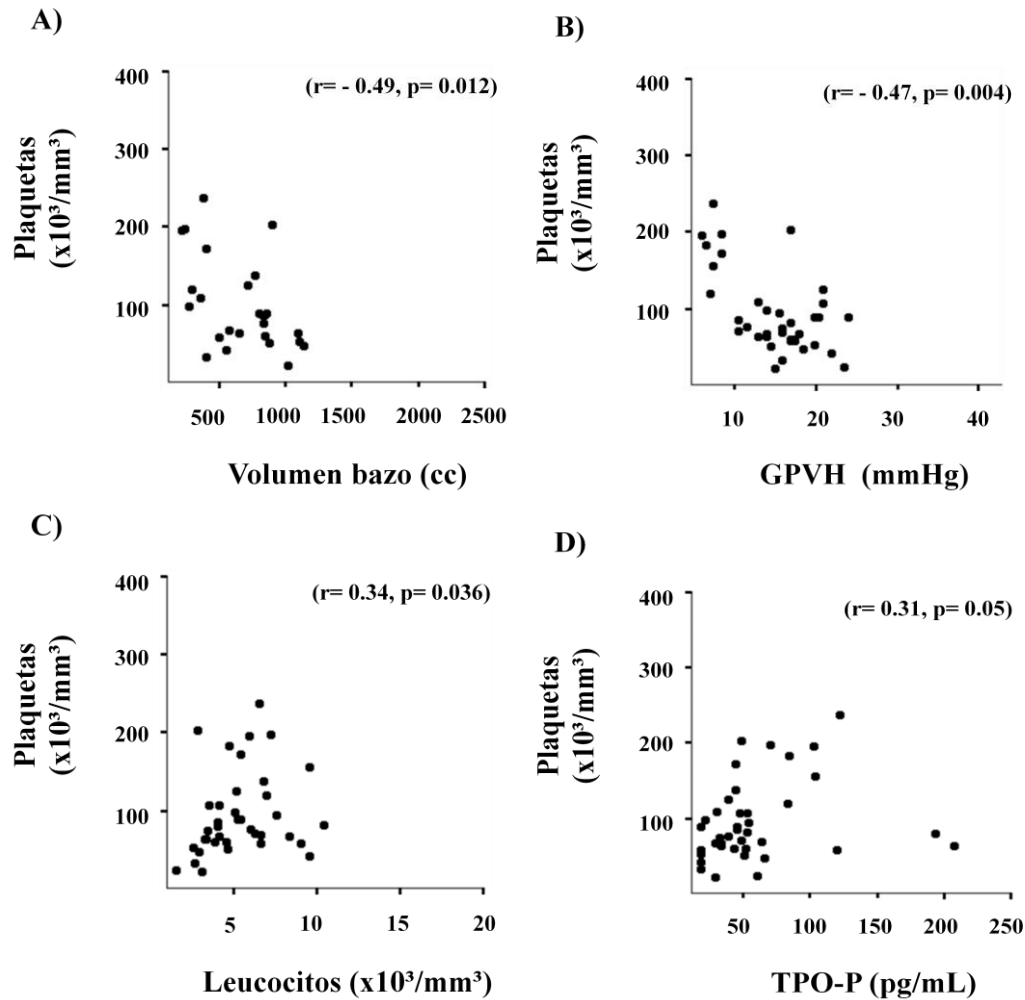
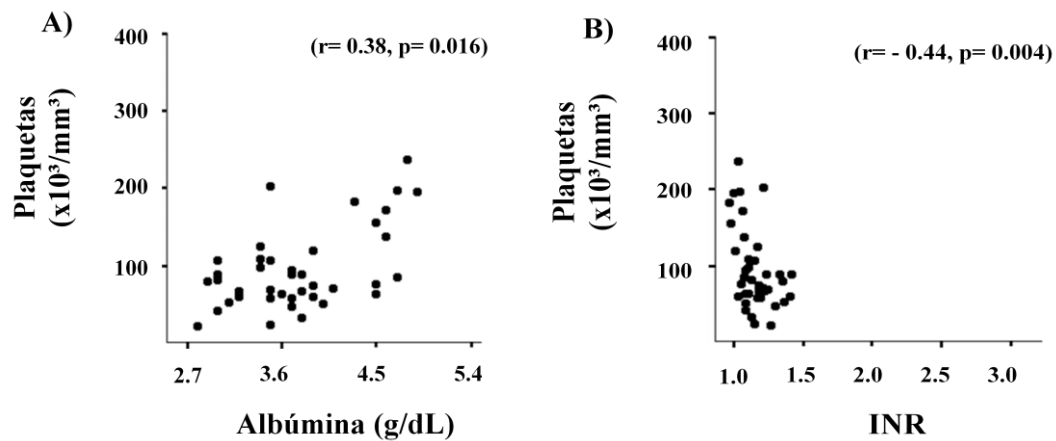


Figura 17. Correlación entre el recuento de plaquetas y A) la concentración de albúmina y B) el INR en pacientes con cirrosis hepática compensada. r , r de spearman.



Además, como se observa en la tabla 13 los pacientes con cirrosis compensada y trombocitopenia grave presentaron mayor GPVH, mayor volumen del bazo y menor recuento de leucocitos que los pacientes compensados sin trombocitopenia grave.

Tabla 13. Diferencias entre los pacientes compensados con y sin trombocitopenia grave.

	Cirrosis compensada (n=40)		Valor de p
	Con plaquetas $\leq 65 \times 10^3/\text{mm}^3$ (n=13)	Con plaquetas $> 65 \times 10^3/\text{mm}^3$ (n=27)	
GPVH (mmHg)	17 (14.7, 19.3)	14 (8.5, 17.5)	0.048
Bazo (cc)	868.5 (547.7, 1103.8)	577 (300, 840)	0.023
Leucocitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	3.4 (2.8, 5.7)	5.5 (4.2, 6.9)	0.017
INR	1.16 (1.1, 1.3)	1.13 (1.06, 1.2)	0.28
Bilirrubina (mg/dL)	1.2 (1.05, 1.55)	1.2 (0.7, 1.6)	0.48
Albúmina (g/dL)	3.6 (3.15, 3.85)	3.8 (3.4, 4.5)	0.2
Creatinina	0.7 (0.6, 0.9)	0.8 (0.7, 1.0)	0.3
Hemoglobina (g/dL)	13.1 (10.8, 14.5)	14.1 (12.9, 15.1)	0.16
TPO-P (pg/mL)	44.1 (18.5, 64)	47.7 (34.1, 70.3)	0.4
TPO-H (pg/mL)	39.6 (22.5, 58.3)	25.6 (18.5, 48.3)	0.2

GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO-P: trombotopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombotopoyetina en vena suprahepática.

Por otro lado en pacientes con enfermedad descompensada, el recuento de plaquetas se asoció con el volumen del bazo y el recuento de leucocitos. Interesantemente, no se observó una correlación con el GPVH ni con la concentración de trombotopoyetina en sangre periférica (Figura 18). Finalmente, se observó una correlación positiva con la hemoglobina e inversa con el INR, si bien ésta era más débil que en los pacientes compensados (figura 19).

Figura 18. Correlación entre el recuento de plaquetas y A) el volumen del bazo, B) el GPVH, C) el recuento de leucocitos en sangre periférica, D) la concentración de trombopoyetina en sangre periférica de pacientes con cirrosis hepática descompensada. r , r de Spearman.

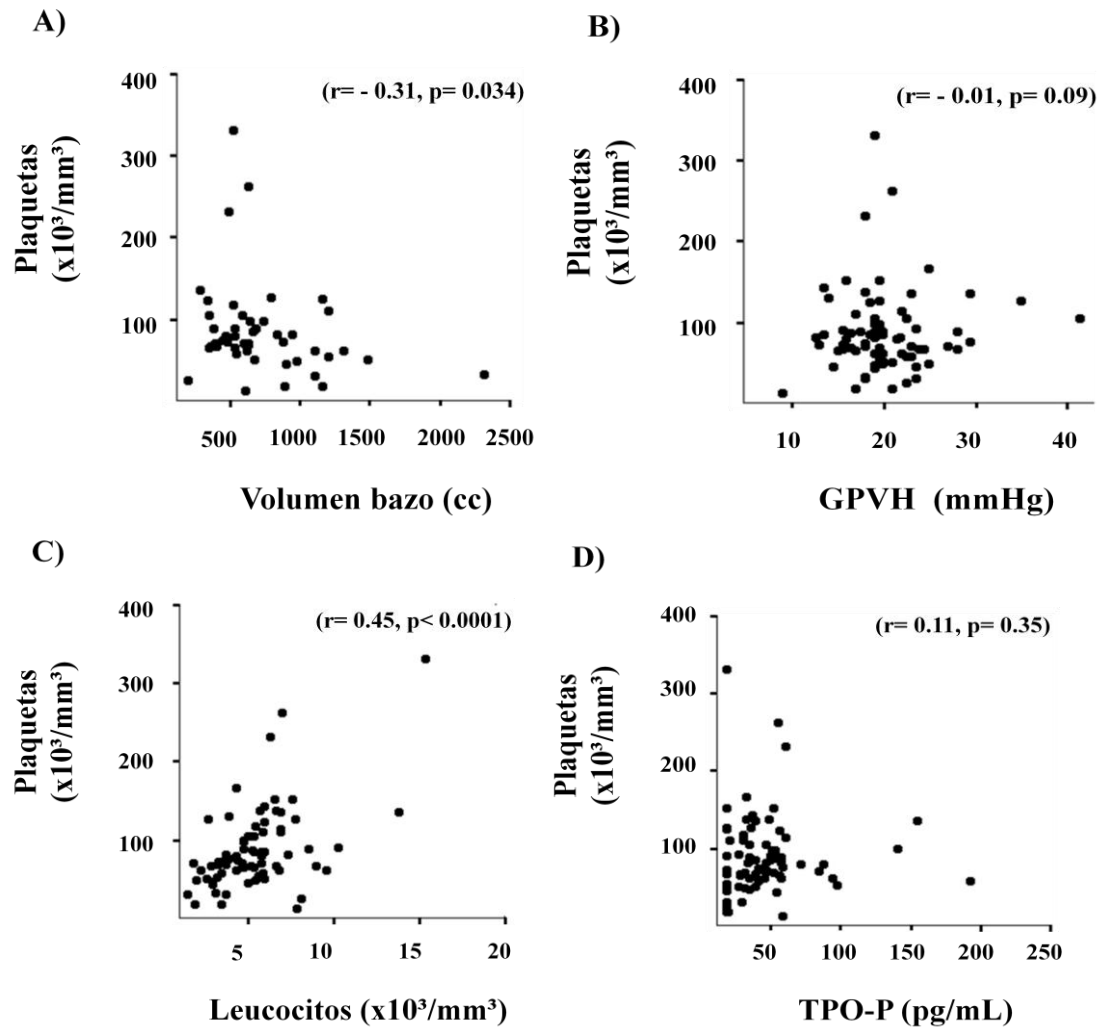
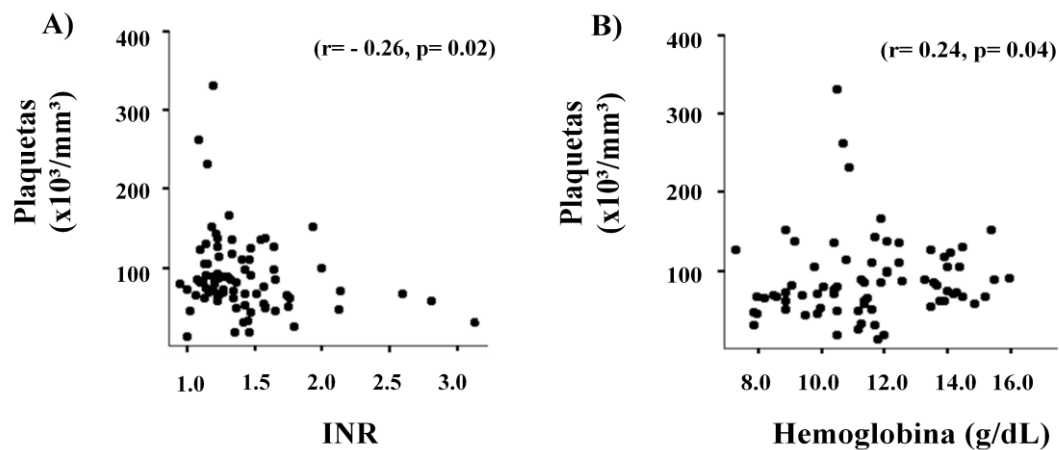


Figura 19. Correlación entre el recuento de plaquetas y A) el INR, B) la hemoglobina en pacientes con cirrosis hepática descompensada. r , r de Spearman.



Además, los pacientes con cirrosis descompensada y trombocitopenia grave presentaron mayor volumen del bazo, menor recuento de leucocitos y mayor INR que aquellos sin trombocitopenia grave. No hubo diferencias en el GPVH (tabla 14).

Tabla 14. Diferencias entre los pacientes descompensados con y sin trombocitopenia grave.

	Cirrosis descompensada (n=80)		
	Con plaquetas $\leq 65 \times 10^3 / \text{mm}^3$ (n=23)	Con plaquetas $> 65 \times 10^3 / \text{mm}^3$ (n=57)	Valor de p
GPVH (mmHg)	20 (18.5, 22.5)	19 (16.7, 22.7)	0.4
Bazo (cc)	980 (625, 1205)	537.5 (416.3, 685)	0.001
Leucocitos ($\times 10^3 / \text{mm}^3$)	3.5 (3, 5.9)	5.4 (4.4, 6.7)	0.01
INR	1.47 (1.35, 1.75)	1.25 (1.16, 1.47)	0.007
Bilirrubina (mg/dL)	2.5 (1.8, 4.7)	2.3 (1.15, 4.5)	0.3
Albúmina (g/dL)	3.2 (2.7, 3.6)	3.3 (2.7, 3.7)	0.6
Creatinina	0.7 (0.6, 0.9)	0.8 (0.6, 1.0)	0.12
Hemoglobina (g/dL)	11.2 (9.5, 11.8)	11.7 (10.1, 13.9)	0.12
TPO-P (pg/mL)	34.8 (18.5, 55.9)	41.3 (31.8, 55.6)	0.22
TPO-H (pg/mL)	18.5 (18.5, 27.9)	18.5 (18.5, 34)	0.3

*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática.

Finalmente, se valoraron los factores asociados a la presencia de trombocitopenia grave ($\leq 65 \times 10^3$ plaquetas/ mm^3) según la fase de la cirrosis. Los pacientes descompensados con trombocitopenia grave, tenían menor edad, menor proporción de hepatocarcinoma, mayor INR y bilirrubina, mayor GPVH, mayor anemia y menor concentración de trombopoyetina en venas hepáticas que los pacientes compensados con trombocitopenia grave (ver tabla 15).

Tabla 15. Diferencias entre los pacientes compensados y descompensados con trombocitopenia grave

	Compensados N=13 (32%)	Descompensados N=23 (29%)	Valor de P
Edad (años)	60 (54,70)	50 (44,56)	0.008
Sexo masculino	7 (53.8)	17 (73.9)	0.22
CHC (sí)	11 (84.6)	8 (34.7)	0.004
Gasto cardiaco (l/min)	6.6 (5.4, 7.7)	7.4 (6.8, 9.9)	0.11
GPVH (mmHg)	17 (15, 19)	20 (18, 22)	0.014
Hemoglobina (g/dl)	13.1 (10.8, 14.8)	11.2 (9.5, 11.8)	0.023
Leucocitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	3.4 (2.8, 5.7)	3.5 (3, 5.9)	0.98
Volumen bazo (cc)	868.5 (547.5, 1103.7)	980 (625, 1205)	0.23
INR	1.16 (1.09, 1.29)	1.47 (1.35, 1.75)	0.001
Bilirrubina (mg/dL)	1.2 (1.05, 1.5)	2.5 (1.85, 4.7)	0.001
Albúmina (g/dL)	3.6 (3.15, 3.85)	3.2 (2.7, 3.6)	0.07
TPO-H (pg/mL)	39.6 (22.5, 58.3)	18.5 (18.5, 27.9)	0.008
TPO-P (pg/mL)	44.1 (18.5, 64.1)	34.8 (18.5, 55.9)	0.6

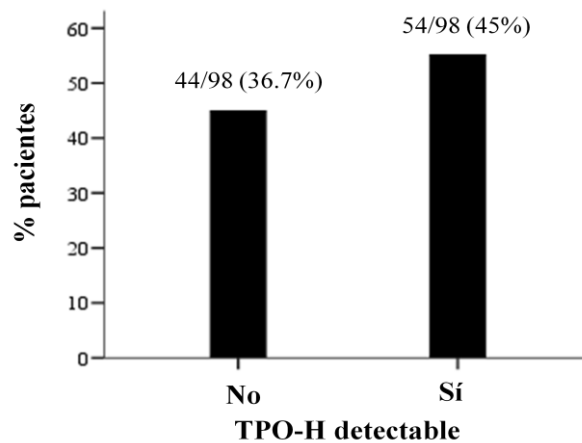
*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico y las variables categóricas por la n y el porcentaje. CHC: carcinoma hepatocelular. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática.

Al limitar el análisis al subgrupo de 72 pacientes en que se pudo realizar la volumetría esplénica se obtuvieron resultados similares a los obtenidos en el total de pacientes. Así, el recuento de plaquetas además de correlacionar con el volumen del bazo, se asoció en este subgrupo con el recuento de leucocitos ($r=0.38$, $p=0.001$) y con la trombopoyetina periférica ($r=0.29$, $p=0.015$) pero no con el GPVH ($r=-0.043$, $p=0.73$). Al comparar los factores asociados al recuento de plaquetas según la fase de la enfermedad hepática observamos también los mismos resultados que en el conjunto total de pacientes. En la cirrosis compensada el recuento de plaquetas se asoció con el GPVH ($r=-0.49$, $p=0.014$), el volumen del bazo ($r=-0.49$, $p=0.012$) y la trombopoyetina periférica ($r=0.47$, $p=0.018$) mientras que en la cirrosis descompensada sólo se asoció con el volumen del bazo ($r=-0.31$, $p=0.034$) y no con el GPVH ($r=0.25$, $p=0.18$) o la trombopoyetina periférica ($r=0.19$, $p=0.2$). Tampoco observamos una asociación de las plaquetas con la presencia o no de hepatocarcinoma ($p=0.96$) en este subgrupo de pacientes donde existió mayor proporción de hepatocarcinoma.

N. VALORACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LA SÍNTESIS HEPÁTICA DE TPO Y EL GRADO DE DETERIORO DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA.

La mediana de trombopoyetina en vena hepática en la muestra total de pacientes fue de 21.4 pg/ml (18.5, 39.3). La trombopoyetina en vena hepática fue detectable en 54 de 98 pacientes (45%) (Figura 20). En el grupo de pacientes en que fue detectable, la concentración de trombopoyetina en vena hepática mediana fue de 35.85 pg/ml (24.83, 57.15).

Figura 20. Porcentaje de pacientes con trombopoyetina en vena hepática (TPO-H) detectable.



El porcentaje de pacientes con niveles detectables de trombopoyetina en la vena hepática fue más bajo en los pacientes con un mayor grado de insuficiencia hepática, valorado tanto por el MELD score [MELD \leq 10 vs MELD $>$ 10: 26/35 (74.3%) vs. 27/61 (43.5%), $p= 0.005$] como por la presencia de descompensación clínica [compensados vs descompensados 25/34 (73.5%) vs. 29/64 (45.3%), $p=0.008$] (Figura 21). Asimismo, los pacientes con trombopoyetina en vena hepática detectable presentaban una enfermedad hepática menos evolucionada que aquellos con trombopoyetina en vena hepática indetectable, demostrado por unos niveles menores de bilirrubina, INR y MELD, así como menor gasto cardiaco, como marcador de menor

circulación hiperdinámica, si bien no hubo diferencia con respecto al recuento de plaquetas (tabla 16).

Figura 21. Porcentaje de pacientes que mostraron una concentración detectable de trombopoyetina en vena hepática (TPO-H) en función del estadio de la enfermedad.

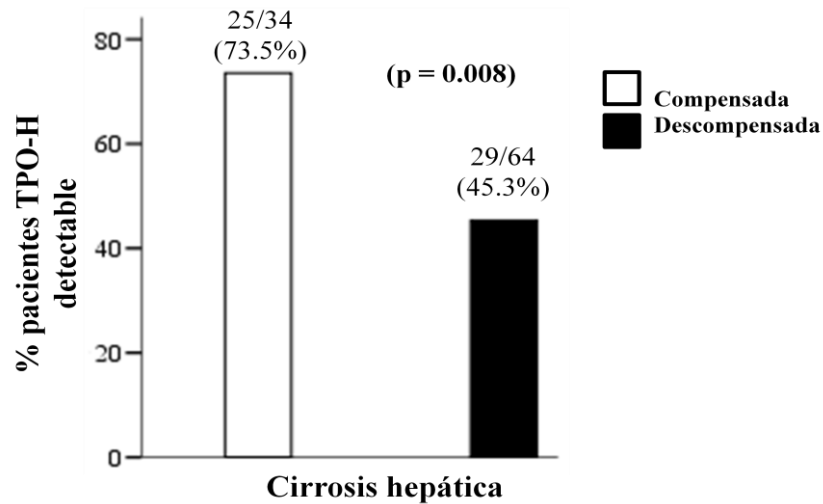


Tabla 16. Características de los pacientes en función de la presencia de trombopoyetina en vena hepática detectable.

	TPO-H detectable (n=54)	TPO-H indetectable (n=44)	Valor de P
Volumen esplénico (cc)	587.5 (393.7, 861.3)	677.5 (538.7, 935.5)	0.12
GPVH (mmHg)	18.5 (14.4, 21.6)	18.7 (15.5, 21.4)	0.65
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	83.0 (63.7, 10.5)	75.0 (59.3, 125.8)	0.7
Leucocitos (x10 ³ /mm ³)	5.4 (3.9, 6.7)	4.9 (3.5, 6.8)	0.7
Hemoglobina (g/dL)	12.4 (10.45, 14.0)	11.9 (10.5, 1.3)	0.87
Bilirrubina (mg/dL)	1.2 (0.85, 2.1)	2.4 (1.45, 4.77)	0.001
INR	1.2 (1.1, 1.36)	1.27 (1.19, 1.48)	0.025
Albúmina (g/dL)	3.5 (3.0, 3.8)	3.4 (2.8, 3.8)	0.23
MELD	10 (8, 14)	14 (10, 17)	0.001
Creatinina (mg/dL)	0.74 (0.65, 0.92)	0.85 (0.66, 1.09)	0.071
Gasto cardiaco (l/min)	6.6 (5.8, 7.87)	8.4 (7.2, 10)	0.0001
Descompensación clínica (sí)	29/54 (53.7)	35/44 (79.5)	0.008

*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico y las variables categóricas por la n y el porcentaje. TPO-H: trombopoyetina en vena hepática. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. MELD: model for end stage liver disease.

Por otro lado, la mediana de trombopoyetina periférica en el total de pacientes fue de 43.0 (30.1, 56.2). La proporción de pacientes con trombopoyetina periférica

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

detectable fue del 80.8%, 97/116 (figura 22). La concentración mediana de trombopoyetina periférica en los pacientes en que fue detectable fue de 47.7 pg/ml (35.1, 58.1). Interesantemente, y a diferencia de la trombopoyetina en vena hepática, la proporción de pacientes que presentaron trombopoyetina periférica detectable fue similar en la fase compensada y descompensada de la enfermedad (34/40, 85% vs 63/76, 83%) (Figura 23).

Figura 22. Porcentaje de pacientes que mostraron una concentración detectable de trombopoyetina en vena periférica (TPO-P).

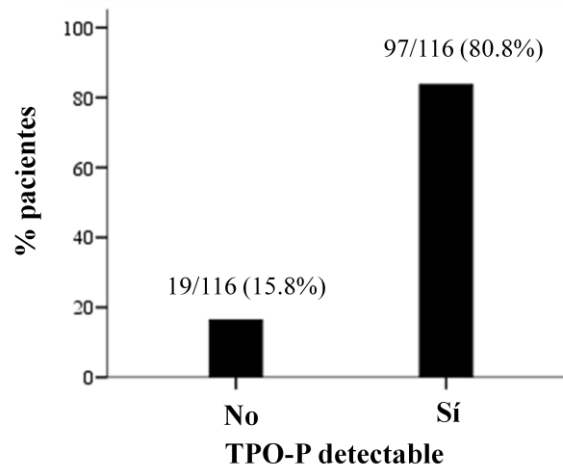
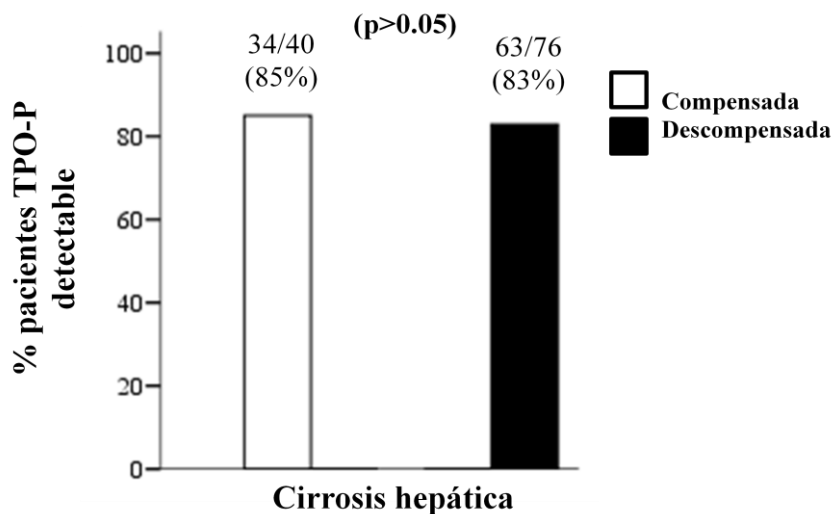


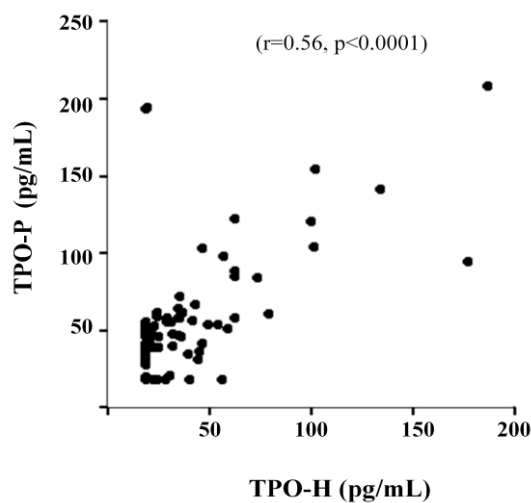
Figura 23. Porcentaje de pacientes que mostraron una concentración detectable de trombopoyetina en vena periférica (TPO-P) en función del estadio de la enfermedad.



O. COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE TROMBOPOYETINA EN SANGRE SUPRAHEPÁTICA Y EN SANGRE PERIFÉRICA

La concentración de trombopoyetina en la vena hepática se correlacionó con la concentración de trombopoyetina en vena periférica ($r=0.56$, $p<0.0001$) en aquellos pacientes en los que ambos valores fueron detectables ($n=48$) (Figura 24).

Figura 24. Correlación entre la concentración de trombopoyetina de venas hepáticas (eje de abscisas) y de venas periféricas (eje de ordenadas).



TPO-H: trombopoyetina en vena hepática. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica.

Teniendo en cuenta el mecanismo de feedback negativo y la correlación directa significativa entre la trombopoyetina periférica y la trombopoyetina en vena hepática, era de esperar que una reducción de los niveles de trombopoyetina en vena hepática se asociara a una reducción paralela en los niveles de trombopoyetina periférica y que la concentración de ésta fuera menor que la concentración detectada en la vena hepática. Sin embargo, se observó que un número considerable de pacientes presentaron concentraciones mayores de trombopoyetina en sangre periférica que en venas hepáticas (74/98, 75.5%). Los pacientes que tenían niveles menores de trombopoyetina en la vena hepática que en sangre periférica (grupo B) presentaban una enfermedad hepática más

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

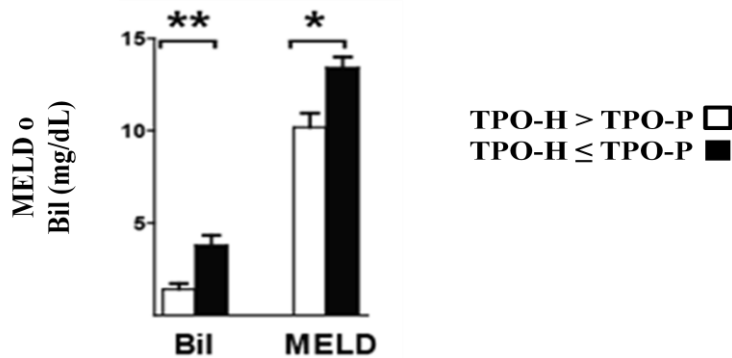
avanzada (demostrado por mayor MELD y mayor bilirrubina), además tenían una concentración mayor de trombopoyetina en sangre periférica en comparación con los pacientes del grupo A (mayor trombopoyetina en vena hepática que en sangre periférica) (ver tabla 17 y figura 25). Sin embargo, no se observaron diferencias entre ambos grupos con respecto a otras variables como la etiología de la enfermedad hepática, el recuento de plaquetas, el GPVH o el volumen del bazo.

Tabla 17. Comparación de las características de los pacientes con TPO-P/TPO-H menor de 1 (grupo A) y los pacientes con TPO-P/TPO-H mayor de 1 (grupo B).

	GRUPO A (n=16)	GRUPO B (n=82)	Valor de P
Masculino n (%)	9 (56)	68 (83)	0.040
Edad (años)	50 (46, 65)	52 (47, 59)	0.890
Etiología n (%)			
Alcohol	6 (38)	34 (42)	0.535
VHC	9 (56)	37 (45)	
Otros	1 (6)	11 (13)	
Grado de Child-Pugh			0.416
A	10 (63)	36 (44)	
B	4 (25)	29 (36)	
C	2 (12)	16 (20)	
Puntuación de Child-Pugh	6 (6, 8)	8 (5, 9)	0.436
Hepatocarcinoma n (%)	10 (63)	34 (42)	0.172
GPVH (mmHg)	18.5 (16.3, 20.0)	18.5 (15.5, 21.7)	0.853
Volumen bazo (cc)	680 (492, 994)	628 (470, 880)	0.876
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	86.0 (60.5, 111.0)	81.5 (63.0, 114.0)	0.893
MELD	9.3 (8.1, 11.1)	12.3 (9.2, 15.6)	0.018
Bilirrubina (mg/dL)	1.1 (0.9, 1.4)	1.9 (1.1, 3.6)	0.004
INR	1.2 (1.1, 1.4)	1.2 (1.1, 1.5)	0.348
Albumina (g/dL)	3.4 (3.0, 3.8)	3.5 (2.9, 3.8)	0.631
Creatinina (mg/dL)	0.78 (0.70, 0.94)	0.78 (0.65, 0.99)	0.771
TPO-P (pg/ml)	32.6 (18.5, 52.1)	46.9 (33.4, 57.8)	0.028
TPO-H (pg/ml)	44.6 (29.1, 57.6)	18.5 (18.5, 34.8)	<0.001

*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico y las variables categóricas por la n y el porcentaje. VHC: virus de hepatitis C. GPVH: gradiente de presión venosa hepática. MELD: model for end stage liver disease. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena hepática.

Figura 25. Bilirrubina y MELD score en pacientes con cirrosis con y sin concentración más alta de trombopoyetina en venas hepáticas que en venas periféricas.



TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena hepática. MELD: model for end stage liver disease. Bil: bilirrubina. * equivale a nivel de significación <0.05, ** equivale a nivel de significación <0.01

P. VALORACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE TPO EN VENA HEPÁTICA Y PERIFÉRICA EN UN GRUPO CONTROL Y COMPARACIÓN CON LOS PACIENTES CIRRÓTICOS

Dados estos resultados inesperados se indagó con mayor profundidad en la asociación entre trombopoyetina en sangre hepática y sangre periférica. Se valoró la asociación entre la trombopoyetina en sangre de vena periférica y de vena suprahepática en 15 pacientes sin cirrosis que recibieron un cateterismo cardiaco derecho como parte del estudio de su enfermedad cardiaca. En la tabla 18 se muestran las variables recogidas para el grupo control comparadas con el grupo de pacientes con cirrosis.

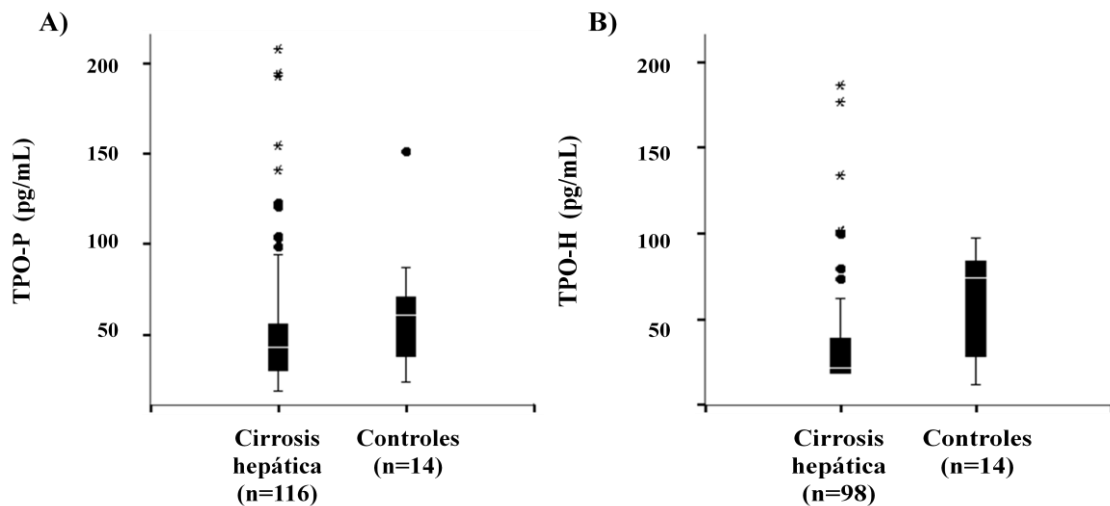
Tabla 18. Comparación del grupo control y el grupo de estudio

	Grupo control (n=15)	Cirrosis hepática (n=120)
Edad (años)	66 (61, 72)	52 (46, 58)
Sexo (masculino)	4 (27.0)	94 (78.0)
Recuento de plaquetas (x10 ³ /mm ³)	229.0 (201.0, 250.5)	81.0 (60.5,110.8)
TPO-P (pg/mL)	60.56 (30.56, 71.1)	47.7 (35.1, 58.1)
TPO-H (pg/mL)	74.1 (28.4, 83.7)	35.85 (24.83, 57.15.4)
TPO-P/TPO-H > 1	5/15 (33.3)	74/98 (75.5)

*Las variables continuas vienen representadas por la mediana y el rango intercuartílico y las variables categóricas por la n y el porcentaje. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena hepática.

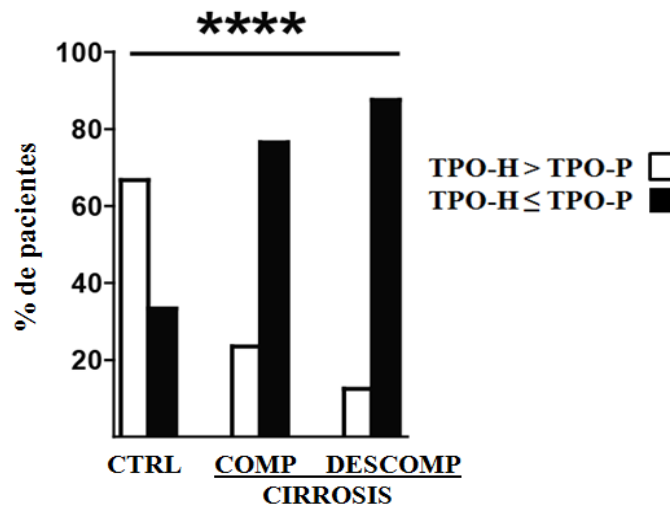
Los controles tuvieron una edad mediana de 66 años, fueron predominantemente mujeres y todos tenían un recuento normal de plaquetas [229.0 x10³/mm³ (201.0, 250.5)]. Asimismo en estos pacientes sin cirrosis, tanto la trombopoyetina periférica como la suprahepática fue mayor que en los pacientes con cirrosis [60.56 pg/ml (30.56, 71.1) vs 47.7 (35.1, 58.1) para TPO-P y 74.1 pg/ml (28.4, 83.7) vs 35.85 (24.83, 57.1) para TPO-H, p<0.05] (figura 26).

Figura 26. Concentración de A) trombopoyetina en sangre periférica (TPO-P) y B) trombopoyetina en vena hepática (TPO-H) en cirróticos y en controles.



Además en el grupo control, dos tercios de los pacientes tenían una concentración de trombopoyetina mayor en la vena hepática comparada con la vena periférica. Esta proporción de pacientes con una relación trombopoyetina en vena hepática > trombopoyetina periférica, interpretada como normal, descendió de 66.7% (10/15) en los controles a 28.6% (10/35) y 9.7% (6/62), en pacientes con cirrosis compensada, y en pacientes con cirrosis descompensada respectivamente (p< 0.0001) (Figura 27).

Figura 27. Proporción de pacientes con mayor concentración de trombopoyetina en vena periférica que en vena hepática entre controles no cirróticos y cirróticos compensados y descompensados.



Q. EVALUACION DE LA POSIBLE INFLUENCIA DE OTRAS CITOQUINAS EN LA TROMBOCITOPENIA DE LA CIRROSIS

No se observó relación entre el recuento de plaquetas y las concentraciones de otras citoquinas implicadas en la trombopoyesis en sangre periférica (ver tabla 19 y figura 28). Además tampoco se observaron diferencias en estas citoquinas en función de la presencia de trombocitopenia grave (ver tabla 20).

Tabla 19. Relación entre el recuento de plaquetas en sangre periférica y otras citoquinas implicadas en la trombopoyesis.

	R de spearman	Valor de P
IL-6 (pg/mL)	-0.05	0.6
IL-11 (pg/mL)	- 0.02	0.8
SCF (pg/mL)	- 0.1	0.3
HGF (pg/mL)	- 0.02	0.8

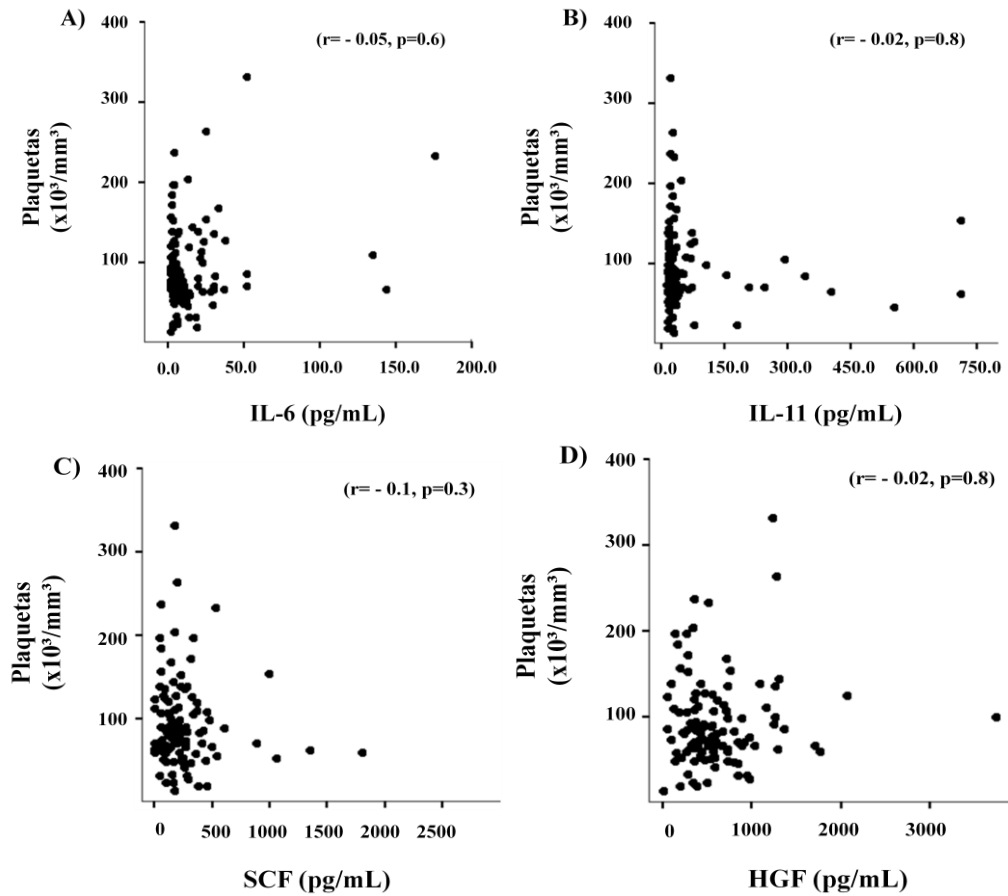
Abreviaturas: IL: interleuquina. SCF: stem cell factor. HGF: hepatocyte growth factor.

Tabla 20. Comparación de los niveles de citoquinas en función de la presencia de trombocitopenia grave.

	Plaquetas ≤65x10 ³ N=36 (30%)	Plaquetas > 65x10 ³ N= 84 (70%)	Valor de P
IL-6 (pg/mL)	7.5 (3.9, 136)	5.5 (3.3, 21.1)	0.62
IL-11 (pg/mL)	26.3 (18.0, 35.8)	26.9 (18.6, 37.3)	0.83
SCF (pg/mL)	239 (98, 415)	179 (114, 272)	0.26
HGF (pg/mL)	473 (328,735)	474 (341, 738)	0.80

Abreviaturas: IL: interleuquina. SCF: stem cell factor. HGF: hepatocyte growth factor.

Figura 28. Correlación entre el recuento de plaquetas y la IL-6 (A), IL-11 (B), stem cell factor, SCF (C) y hepatocyte growth factor, HGF (D).



Por otro lado se observó que los pacientes con cirrosis descompensada tenían mayor concentración de HGF e IL-6 que los pacientes compensados, mientras que la concentración de SCF e IL-11 fue similar en ambos grupos de pacientes (tabla 21); estos resultados son análogos si se limita el análisis a aquellos pacientes con trombocitopenia grave (tabla 22). No hubo correlación entre el recuento de plaquetas y las concentraciones séricas de estas citoquinas en función de la fase de la cirrosis (Tabla 23).

Tabla 21. Diferencia en los niveles de citoquinas entre los pacientes compensados y descompensados.

	Compensados (n=40)	Descompensados (n=80)	Valor de p
IL-6 (pg/mL)	3.5 (2.3, 5.3)	10.5 (4.8, 23.1)	0.0001
IL-11 (pg/mL)	27.9 (18.6, 36.7)	23.1 (18.4, 37.3)	0.83
SCF (pg/mL)	158 (85, 272)	186 (16, 305)	0.44
HGF (pg/mL)	356 (273, 561)	567 (391, 845)	0.0001

Abreviaturas: IL: interleuquina. SCF: stem cell factor. HGF: hepatocyte growth factor.

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

Tabla 22. Diferencias en los niveles de citoquinas entre los pacientes compensados y descompensados con trombocitopenia grave.

	Compensados N=13 (32%)	Descompensados N=23 (29%)	Valor de p
IL-6 (pg/mL)	4.85 (3.56, 6.6)	12.4 (5.1, 17.3)	0.008
IL-11 (pg/mL)	29.9 (16.6, 68.4)	23.1 (18.1, 32.7)	0.92
SCF (pg/mL)	239 (126, 312)	229 (90, 450)	0.96
HGF (pg/mL)	357 (244, 574)	562 (392, 84)	0.036

Abreviaturas: IL: interleuquina. SCF: stem cell factor. HGF: hepatocyte growth factor.

Tabla 23. Correlación del recuento de plaquetas con otras citoquinas según la fase de la cirrosis..

	Compensados (n=40)		Descompensados (n=80)	
	R de spearman	Valor de p	R de spearman	Valor de p
IL-6 (pg/mL)	- 0.3	0.065	0.09	0.43
IL-11 (pg/mL)	- 0.05	0.77	- 0.015	0.9
SCF (pg/mL)	- 0.13	0.43	- 0.09	0.45
HGF (pg/mL)	- 0.22	0.16	0.1	0.38

Abreviaturas: IL: interleuquina. SCF: stem cell factor. HGF: hepatocyte growth factor.

Finalmente, se valoró si estas otras citoquinas tuvieron relación con los hallazgos inesperados del cociente entre trombopoyetina periférica y trombopoyetina en vena hepática. Aquellos pacientes con trombopoyetina periférica mayor que hepática (TPO-P/TPO-H>1) tenían una enfermedad más evolucionada (ver tabla 18). Interesantemente estos pacientes tenían concentraciones mayores de otras citoquinas como IL-11 y HGF, y menor concentración de SCF (tabla 24 y figura 29).

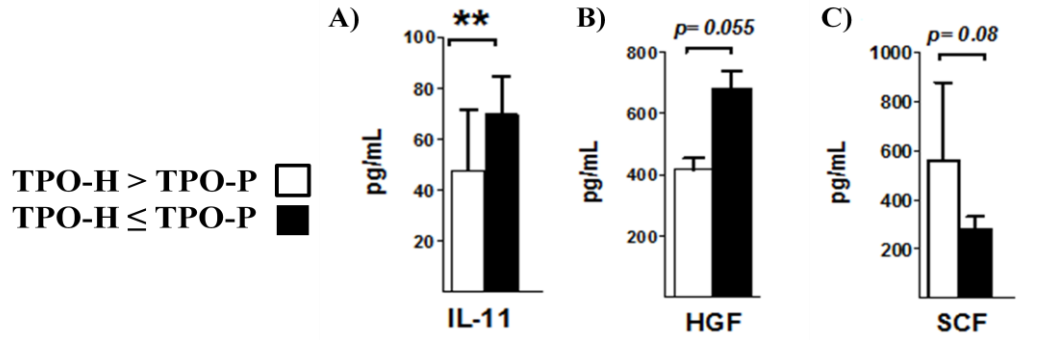
Tabla 24. Diferencias entre grupo A (TPO-P/TPO-H <1) y grupo B (TPO-P/TPO-H >1).

	Grupo A (n=16)	Grupo B (n=82)	Valor de p
HGF (pg/mL)	447 (381, 535)	567 (355, 844)	0.055
IL-6 (pg/mL)	6.1 (4.3, 18.5)	6.3 (3.4, 18.1)	0.457
IL-11 (pg/mL)	17.6 (15.5, 31.4)	28.1(20.2, 42.7)	0.006
SCF (pg/mL)	256 (153, 315)	161 (97, 260)	0.08

Abreviaturas: IL: interleuquina. SCF: stem cell factor. HGF: hepatocyt growth factor. TPO-P: trombopoyetina en sangre periférica. TPO-H: trombopoyetina en vena hepática.

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

Figura 29. Niveles circulantes de A) IL-11, B) HGF o hepatocyt growth factor, y C) SCF o stem cell factor en pacientes con cirrosis con y sin concentración más alta de trombopoyetina en venas hepáticas (TPO-H) que en venas periféricas (TPO-P).



6. DISCUSIÓN

La trombocitopenia es un hallazgo analítico frecuente en la cirrosis hepática y clásicamente se ha considerado un marcador de hipertensión portal. Diferentes estudios han identificado un punto de corte de $65.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ a partir del cual se producen complicaciones o peor evolución tras la cirugía del hepatocarcinoma o a partir del cual se limita la generación de la trombina [54, 134-135, 188], sugiriendo que por debajo de este punto de corte se justifica la transfusión de plaquetas previo a procedimientos invasivos o la utilización de agonistas de la trombopoyetina [136-138].

Si bien se conoce en profundidad los factores implicados en la trombopoyesis así como los mecanismos de regulación en adultos sanos, no se conoce en profundidad la relevancia de estos factores en pacientes con enfermedad hepática. La trombocitopenia en la cirrosis se ha asociado a la esplenomegalia secundaria a la hipertensión portal, también al déficit de síntesis hepática de trombopoyetina, a la destrucción periférica por la formación de anticuerpos antiplaqueta y a un déficit central secundario a fármacos, tóxicos o déficits nutricionales. Estudios previos han evaluado el papel de cada uno de estos mecanismos de forma independiente en el desarrollo de la trombocitopenia en la cirrosis con resultados controvertidos. Sin embargo, ningún estudio ha evaluado la implicación de la hipertensión portal estimada por el GPVH, la esplenomegalia y la producción de trombopoyetina simultáneamente.

En el estudio objeto de la presente tesis doctoral, se ha valorado de forma simultánea la asociación entre el recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis y la hipertensión portal estimada por el GPVH, el tamaño del bazo evaluado por volumetría, así como la trombopoyetina. Se incluyeron pacientes con diferentes etiologías y diferentes estadios de gravedad de la enfermedad hepática. Al evaluar todos los

pacientes, el recuento de plaquetas se asoció principalmente con el volumen del bazo, el número de leucocitos y la hemoglobina. Estos últimos hallazgos se han interpretado como una manifestación adicional del hiperesplenismo. Sin embargo, al valorar separadamente los pacientes en función de la fase de la enfermedad (compensada y descompensada), se observó que los factores asociados con el recuento de plaquetas cambiaron, de tal forma que la hipertensión portal tiene un papel principal en los pacientes con cirrosis compensada (además del volumen esplénico y la trombopoyetina periférica) mientras que en pacientes con cirrosis descompensada únicamente el volumen esplénico mantiene una relación inversa con las plaquetas.

Tradicionalmente el recuento de plaquetas se ha considerado como un marcador indirecto de hipertensión portal e incluso la presencia de trombocitopenia se usa como indicador en la práctica clínica diaria de la necesidad de valorar la presencia de varices mediante endoscopia o de la realización de un estudio hemodinámico hepático previo a la cirugía en el hepatocarcinoma. Por ello, se hipotetizó que habría una asociación entre el recuento de plaquetas y el GPVH. De hecho varios estudios han descrito una correlación inversa entre el recuento de plaquetas y el gradiente de presión venosa hepática en la cirrosis [45, 195-197]. Todos estos estudios, sin embargo, incluyeron pacientes con escaso deterioro de la función hepática, de forma que la mayor parte de pacientes presentaron una puntuación de Child-Pugh A. En el presente trabajo, se observó una correlación significativa entre el GPVH y el recuento de plaquetas únicamente en los pacientes con cirrosis compensada. Esto confirma los resultados previos de Qamar et al, donde se observó una correlación lineal entre GPVH y plaquetas en un grupo homogéneo de pacientes con cirrosis compensada e hipertensión portal pero sin varices [197]. Sin embargo, no se observó dicha relación en pacientes descompensados, al igual que en estudios previos que incluyen pacientes con cirrosis

que presentan diferentes grados de Child-Pugh donde no se encuentra relación entre el GPVH y las plaquetas [198]. De hecho, tras la implantación de TIPS, en el que se produce una reducción de la presión portal se han observado resultados dispares en cuanto al recuento de plaquetas. Contrariamente a lo esperado, algunos estudios no observaron ninguna modificación en las plaquetas [166-167, 199], mientras que otros estudios evidenciaron un incremento en el recuento de plaquetas [163-165], si bien sin llegar a la normalización.

En el estudio presente, el volumen del bazo es el principal factor asociado con el recuento de plaquetas. El hiperesplenismo se define como la presencia de trombocitopenia, leucopenia y anemia en pacientes con hipertensión portal y esplenomegalia [200]. Clásicamente se ha considerado una consecuencia de la congestión pasiva del bazo debida al aumento de la presión en la vena porta. La relevancia del bazo en la trombocitopenia de la cirrosis se valoró en estudios con maniobras directas sobre el bazo como la esplenectomía [201-202] o la embolización parcial esplénica [146, 203] observando una mejoría de la trombocitopenia.

Investigaciones previas han observado una correlación entre las plaquetas y el tamaño del bazo medido por su diámetro [141-142, 146, 204-205] o por su peso [206]. Estos estudios incluyeron desde pacientes con hepatitis crónica hasta cirrosis descompensada y con diferentes etiologías de enfermedad hepática. Sin embargo se obtuvieron resultados contradictorios en otros estudios en los que se midió principalmente el diámetro del bazo [147-149, 161, 184, 207]. Estos resultados controvertidos son probablemente debidos a los diferentes métodos utilizados para medir el bazo y/o a la población de estudio. El uso de la volumetría por TC o RM ofrece una estimación más precisa del tamaño del bazo [194]. En el presente estudio, el tamaño del bazo estimado por volumetría fue el factor principalmente asociado al recuento de

plaquetas tanto en la fase compensada como en la descompensada de la enfermedad si bien con mayor impacto en pacientes con enfermedad compensada. En esta misma línea, los pacientes con trombocitopenia grave ($<65 \times 10^3$ plaquetas / mm^3) presentaron mayor volumen del bazo en comparación con los pacientes sin trombocitopenia grave ($p < 0.05$).

Los hallazgos más interesantes de este trabajo tienen que ver con la trombopoyetina. En adultos sanos, la trombopoyetina se produce principalmente por el hígado [93, 96]. En pacientes con hígado sano y trombocitopenia se ha detectado una concentración alta de trombopoyetina cuando la trombocitopenia es de origen central y una concentración baja cuando se debe a un mecanismo periférico de destrucción plaquetaria [101]. La producción de trombopoyetina en pacientes con enfermedad hepática se desconoce. En pacientes con cirrosis hepática que tienen trombocitopenia, mayoritariamente se ha descrito una concentración menor de trombopoyetina en comparación con pacientes con hepatitis crónica sin cirrosis [141, 148, 168, 205] aunque algún estudio ha observado niveles similares de trombopoyetina en ambos grupos de pacientes [144, 208]. En el mismo sentido se ha observado una correlación negativa entre los niveles de trombopoyetina periférica y el estadio de fibrosis hepática incluyendo desde pacientes con hepatitis hasta pacientes con cirrosis [141-142, 148, 168, 184]. Además, la concentración plasmática de trombopoyetina aumenta tras el trasplante hepático y esto se asocia a una mejoría del recuento de plaquetas [160, 162]. Asimismo tras la administración de interferón, que da lugar a trombocitopenia, se ha observado un aumento en los niveles de trombopoyetina exclusivamente en pacientes sin cirrosis mientras que en pacientes con cirrosis no se produjo este mecanismo compensatorio [209]. Sin embargo, cuando se comparan los estudios que han valorado la concentración de trombopoyetina en pacientes con cirrosis y controles se han

observado resultados variables. Así, algunos estudios describen una concentración menor de trombopoyetina en la cirrosis [146, 148, 161], otros estudios no detectaron diferencias con respecto a la concentración de trombocitopoyetina entre ambos grupos [144, 208, 210] e incluso algunos estudios observan una concentración de trombopoyetina mayor en la cirrosis que en los controles [168, 205, 211]. Probablemente los resultados discrepantes entre los diferentes estudios son debidos a diferencias en el grado de deterioro de la función hepática. Si bien no era objeto del presente estudio, se observó una concentración menor de trombopoyetina en sangre periférica en los pacientes con cirrosis en comparación con los controles.

Se puede hipotetizar que la reducción de la síntesis hepática de la trombopoyetina será mayor en aquellos pacientes con cirrosis con mayor insuficiencia hepática. De hecho, la asociación entre el grado de fibrosis hepática y la trombopoyetina en sangre periférica apoya esta hipótesis de forma indirecta [141-142, 148, 168]. Solo dos estudios han asociado la concentración de trombopoyetina en sangre periférica con el grado de deterioro de la función hepática en pacientes con cirrosis [148, 211]. En este trabajo la concentración de trombopoyetina en las venas hepáticas en los pacientes con cirrosis fue menor que en los controles. Además, comprobamos que a mayor deterioro de la función hepática, la concentración de trombopoyetina en la vena hepática fue menor y que la proporción de pacientes con trombopoyetina hepática indetectable fue mayor en la cirrosis descompensada que en la fase compensada.

Por otro lado, existen datos controvertidos en la literatura respecto a la relación entre el recuento de plaquetas y la concentración de trombopoyetina. En individuos sanos la relación fisiológica entre las plaquetas y la trombopoyetina es negativa, de forma que a mayor número de plaquetas menor concentración de trombopoyetina. En pacientes con cirrosis hepática esta relación no es clara. La mayoría de estudios no

encuentran correlación entre estas variables [143-146, 148], mientras que otros observan una correlación positiva entre la concentración de trombopoyetina y el recuento de plaquetas total [141-142, 184] o sólo a partir de un umbral de trombocitopenia [168]. En este trabajo se observó una correlación positiva entre el recuento de plaquetas y los niveles de trombopoyetina periférica únicamente en pacientes compensados, sin embargo no se observó ninguna relación en pacientes descompensados. Tampoco se detectó una diferencia en la concentración de trombopoyetina periférica al comparar los pacientes con y sin trombocitopenia grave. Diferentes hipótesis podrían explicar estos resultados. Es posible que a partir de un determinado grado de trombocitopenia y en el caso de una disminución en la secreción de trombopoyetina, el número bajo de plaquetas no captaría la trombopoyetina circulante que de este modo podría alcanzar la médula ósea y estimular la producción de plaquetas. Otra explicación de esta relación directa es que en pacientes con menor número de plaquetas exista menor concentración de trombopoyetina porque las plaquetas y la trombopoyetina unida a su receptor (en la pared de la plaqueta) queden acumuladas en el bazo aumentado de tamaño. Esta hipótesis es apoyada por el estudio de Ríos donde se observó un aumento en los niveles de trombopoyetina y de las plaquetas tras embolización parcial esplénica [146] sugiriendo que un aumento en la degradación de la trombopoyetina en los pacientes cirróticos es también un mecanismo que puede influir en una disminución de la trombopoyesis.

Interesantemente, una gran proporción de pacientes tenían una concentración de trombopoyetina mayor en sangre periférica que en la vena hepática y esta proporción fue mayor con mayor deterioro de la función hepática. Además, aunque sí se observó menor concentración de trombopoyetina en vena hepática a medida que avanzó la enfermedad hepática, no encontramos diferencias en la concentración de

trombopoyetina periférica según la fase compensada o descompensada de la enfermedad. Estos resultados fueron inesperados dado que el hígado es donde se produce la trombopoyetina que se segrega en la circulación sistémica. En la circulación sistémica existen plaquetas circulantes que tienen a su vez receptores de trombopoyetina. Una vez que la trombopoyetina se une a su receptor en la membrana de la plaqueta, la molécula se internaliza, de forma que no puede alcanzar la médula ósea y estimular la trombopoyesis [99, 212]. Este mecanismo de retroalimentación regula la cantidad de trombopoyetina que alcanza la médula ósea en función del recuento de plaquetas circulantes. Por este motivo, se esperó mayor concentración de trombopoyetina en la vena suprahepática que en la vena periférica a pesar de la insuficiencia hepática. Sin embargo, se observó lo contrario, de forma que una gran proporción de pacientes con cirrosis tuvieron una concentración de trombopoyetina mayor en la vena periférica en comparación con la vena suprahepática. Para explorar este hallazgo con mayor profundidad, se evaluó la concentración de trombopoyetina en la sangre periférica y en la sangre de la vena suprahepática en pacientes sin cirrosis. En la mayoría de los controles, se observó la relación esperada.

Este hallazgo podría ser explicado por diferentes motivos. Una explicación posible sería la existencia de fuentes de trombopoyetina alternativas que pudieran suplementar el déficit de síntesis secundario a la insuficiencia hepática. En adultos sanos, no existe una síntesis extrahepática de trombopoyetina relevante, si bien se ha detectado RNAm de trombopoyetina en médula ósea y túbulo contorneado proximal del riñón [93, 96]. En modelos animales adultos sanos, se ha identificado RNA mensajero de la trombopoyetina principalmente en el hígado [93], y en menor medida en riñón, músculo liso, bazo, intestino, cerebro, pulmón y médula ósea [94]. Existen pocos

estudios que han evaluado las fuentes de trombopoyetina en el contexto de la cirrosis sin resultados concluyentes [213].

Otra hipótesis que pueda explicar estos resultados de mayor trombopoyetina periférica que hepática en la mayoría de nuestros pacientes, es que exista mayor captación de trombopoyetina en el hígado. Varios estudios sugieren que las plaquetas activadas se agregan en los sinusoides hepáticos en caso de enfermedad hepática [206, 214]. Sin embargo, el hígado es el principal productor de trombopoyetina luego igualmente se deberían encontrar mayores niveles de trombopoyetina en venas hepáticas en esta situación. Una hipótesis alternativa es una posible implicación del receptor c-mpl en otros tejidos. Células endoteliales de otros tejidos expresan el receptor de la trombopoyetina [103] y aunque no se ha observado que en estas células se produzca la internalización de la trombopoyetina en condiciones normales, no se ha estudiado su papel en el contexto de la cirrosis, por lo que pudieran tener algún rol en la regulación de la trombopoyetina en estos pacientes. Otra hipótesis es que a medida que existe progresión de la cirrosis se reduzca la síntesis de c-mpl en la pared de las plaquetas y por tanto se aclare menos trombopoyetina que podría alcanzar la médula ósea y estimular la trombopoyesis [215].

Una última e interesante hipótesis es la participación de otros factores de crecimiento implicados en la trombopoyesis por vías dependientes o independientes de trombopoyetina. En este sentido se ha observado que ratones modificados genéticamente con déficit de trombopoyetina o de su receptor c-mpl presentan trombocitopenia grave pero permanecen sanos y sin signos de hemorragia espontánea, lo cual sugiere la existencia de mecanismos de trombopoyesis independientes de trombopoyetina. De hecho, en el presente estudio los niveles de IL-11 y de HGF fueron mayores en pacientes con menores niveles de trombopoyetina hepática (que a su vez

tenían mayor deterioro de la función hepática), mientras que se observaron menores niveles de SCF en los mismos pacientes. Estas tres citoquinas estimulan la trombopoyesis, el SCF en estadios precoces, la IL-11 en estadios tardíos y de forma pendiente de determinar el HGF. No existen estudios que hayan valorado específicamente la concentración de otras citoquinas involucradas en la trombopoyesis en pacientes con cirrosis hepática y trombocitopenia. Sin embargo en ratones modificados genéticamente con déficit de trombopoyetina, se ha observado que la IL-11 no presenta un papel esencial en el mantenimiento del recuento de plaquetas [115]. Por otra parte, en ratones manipulados genéticamente con mayor producción de HGF, se observó un aumento en el número de plaquetas y en los niveles de trombopoyetina y se postula que su influencia en la trombopoyesis podría ser mediada por un aumento de la transcripción de la trombopoyetina por parte del hígado [112, 114]. El incremento de HGF que se observó en este estudio podría interpretarse como un mecanismo de compensación que intenta estimular la producción hepática de trombopoyetina. Igualmente, al estar implicado en la trombopoyesis se esperaría mayor concentración de SCF en pacientes con menor trombopoyetina en vena hepática y trombocitopenia. El resultado contrario observado subraya la compleja interacción de los mediadores implicados en la trombopoyesis en los pacientes con cirrosis.

En este mismo sentido hemos observado que a pesar de que el recuento de plaquetas y la proporción de pacientes con trombocitopenia grave ($<65 \times 10^3/\text{mm}^3$) fue similar en las dos fases de la enfermedad hepática (compensada y descompensada) se observaron diferencias en los niveles de IL-6 que fueron significativamente mayores en los pacientes descompensados. La IL-6 es producida por linfocitos T activados y las células del estroma de la médula espinal. Ésta estimula la maduración de los megacariocitos aumentando el número de plaquetas in vitro así como en modelos

animales [104, 109]. Además se ha observado que estimula la síntesis hepática de trombopoyetina durante los procesos inflamatorios, favoreciendo así la trombocitosis reactiva [94, 102]. Estos resultados sugieren que la presencia de mediadores inflamatorios circulantes, típico de la enfermedad descompensada, puede conducir a un incremento del número de plaquetas en estos pacientes con mayor insuficiencia hepática.

Los resultados de esta tesis sugieren que según la fase de la enfermedad hepática, un mecanismo de trombocitopenia pueda predominar sobre el resto. De hecho la hipertensión portal tiene su papel predominante en la fase compensada, mientras que en el caso de enfermedad avanzada otros mecanismos cobran relevancia. Con respecto a la trombopoyetina, ésta tiene a su vez mayor relevancia en la fase compensada de la enfermedad, mientras que en la fase descompensada parece que otras citoquinas implicadas en la trombopoyesis podrían influir en el recuento de plaquetas en estos pacientes.

Este estudio tiene varias limitaciones. El diseño transversal no permite evaluar el criterio temporal, necesario para establecer relaciones de causalidad. Además, el cálculo del volumen del bazo se realizó únicamente en un subgrupo de pacientes. Esto fue debido a la intención de obtener la volumetría esplénica como medida más precisa del tamaño del bazo en vez de la medición de su diámetro por ecografía [194]. Este subgrupo de pacientes no se diferenció del grupo total (salvo en la proporción de hepatocarcinoma) y cuando se hizo un análisis de sensibilidad limitado a este subgrupo de pacientes, no se observó diferencias en los resultados. La mayor proporción de pacientes con hepatocarcinoma en el subgrupo de volumetría del bazo es debido a un sesgo de selección, dado que son estos pacientes los que precisan la realización de TC o RM como parte del estudio del hepatocarcinoma. La mayor proporción de

hepatocarcinoma en el grupo de cirrosis compensada se explica también por el sesgo de selección, ya que estos son los pacientes en los que se indica el estudio hemodinámico en pacientes con cirrosis compensada. No obstante, no se observó diferencias en el recuento de plaquetas según la presencia de hepatocarcinoma. Otra limitación del estudio es la selección del grupo control. Se seleccionó los controles según la indicación de realización de un cateterismo cardiaco derecho, excluyendo aquellos pacientes en los que se evidenció enfermedad hepática evidente clínicamente, en pruebas de laboratorio y ecográficamente. Es posible que pacientes con enfermedad hepática subclínica no diagnosticada pudieran estar incluidos en este grupo. Esto pudiera explicar la pequeña proporción de controles con una relación trombopoyetina en vena suprahepática y periférica inesperada. El grupo control, además, tiene mayor proporción de mujeres con una edad mediana mayor en comparación con el grupo de pacientes. Sin embargo, se cree que estas variables no han influido en los resultados ya que no hubo asociación entre el recuento de plaquetas y estas variables. Por otra parte, existen citoquinas que pudieran estar implicadas en la trombopoyesis que no se han valorado en este estudio (incluyendo $\text{TNF-}\alpha$, SDF-1, IL-1, IL-3, LIF). Finalmente, el estudio no fue diseñado para evaluar otros posibles mecanismos que pueden influenciar el recuento de plaquetas en la cirrosis como el consumo de plaquetas secundario a la formación de anticuerpos antiplaqueta [206] o la influencia del virus de la hepatitis C como factor independiente de trombocitopenia [216].

7. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en la presente tesis podemos concluir:

- I. El volumen del bazo es el elemento más determinante del recuento plaquetario en la cirrosis, influyendo de forma similar en pacientes con cirrosis compensada y descompensada
- II. En pacientes con cirrosis compensada, la hipertensión portal estimada por el GPVH y el nivel de trombopoyetina, tienen un papel adicional en el recuento de plaquetas, que parece desaparecer en pacientes con enfermedad descompensada
- III. La concentración de trombopoyetina, en las venas suprahepáticas pero no su concentración total en sangre periférica se asocia al grado de insuficiencia hepática
- IV. Contrariamente a lo observado en condiciones fisiológicas, una gran proporción de pacientes con cirrosis tiene una concentración de trombopoyetina en sangre periférica superior a la observada en las venas suprahepáticas
- V. La gravedad de la insuficiencia hepática y la activación de otras vías de trombopoyesis (IL-11, HGF y SCF) influyen en los cambios observados en las concentraciones de trombopoyetina. Los pacientes con trombopoyetina periférica mayor que la concentración de trombopoyetina en vena suprahepática tienen mayor gravedad de la cirrosis, así como activación de otras vías de trombopoyesis
- VI. Los mecanismos implicados en la trombocitopenia de la cirrosis son multifactoriales y su influencia relativa depende de la fase evolutiva de la enfermedad hepática

8. SUMMARY

Background: Thrombocytopenia is considered one of the hallmarks of patients with cirrhosis. Several mechanisms have been implicated in the pathophysiology of thrombocytopenia in cirrhosis. Hypersplenism caused by splenomegaly, classically regarded as an indirect marker of portal hypertension has been considered the main factor implicated [200]. Nevertheless, portal hypertension is best estimated by the hepatic venous pressure gradient (HVPG) [32, 189], although contradictory results have been reported regarding the association between HVPG and platelet count [195-197]. The identification of thrombopoietin (TPO), a growth factor that enhances the maturation of megakaryocytes and the release of platelets from the bone marrow, has shed new light on the physiology of platelets [217]. In normal conditions in adults, TPO is mainly produced in the liver [93, 96] and the circulating levels of platelets are controlled by a negative feedback mechanism [99], so there is an inverse relationship between the amount of circulating platelets, and the amount of TPO that can reach the bone marrow to stimulate thrombopoiesis. In liver cirrhosis perhaps a decreased synthesis of TPO could be implicated in the development of thrombocytopenia.

Controversial findings regarding the role of each mechanism in thrombocytopenia of liver cirrhosis have been reported [142, 146, 160-161, 184] and no study has simultaneously evaluated the influence of the different mechanisms including portal hypertension and TPO production nor whether their influence could change in different stages of the disease.

The aim of this study was to evaluate simultaneously the relative role of portal hypertension estimated by hepatic venous pressure gradient, spleen volume and TPO in thrombocytopenia in cirrhosis. Secondly, if these mechanisms could have a different

contribution in compensated and decompensated liver cirrhosis. Finally, to evaluate if the hepatic synthesis of TPO decreases with the progression of disease and if there is an implication of others growth factors in the thrombocytopenia of liver cirrhosis.

Patients and methods: 120 patients with liver cirrhosis received a hepatic hemodynamic study and blood sample extraction from hepatic and peripheral vein in a single centre for study. Exclusion criteria were other causes of portal hypertension other than sinusoidal portal hypertension, significant comorbidity that could influence platelet count, end-stage renal disease and previous splenectomy, splenic embolization or previous liver transplantation. Demographic, clinical, analytic (including different growth factors: H-TPO, P-TPO, IL-6, IL-11, HGF and SCF by ELISA) and hepatic/systemic hemodynamics data were recorded. Clinical decompensation was defined according to the presence of ascites, hepatic encephalopathy and/or variceal bleeding at the time of the study or in the past [37]. A subset of 72 patients had CT o MRI scan within 4 months of the hepatic hemodynamic study and allowed spleen volume estimation by the sum of volumes technique [194].

A control group of 15 patients who underwent a right heart catheterization without liver disease and with normal platelet count were included for comparison. Samples from peripheral and hepatic vein were taken to measure TPO.

Results: A total of 120 patients were included in the study. These patients were predominantly men (78%) with a median age of 52 year-old (46, 58). Most of 120 patients had HCV (46.7%) or alcohol related (39.2%) liver cirrhosis and 67% have decompensated disease (Child-Pugh A: 45.8%, B: 35.8%, C: 18.4%). The subgroup with volumetry was similar to the group of patients without spleen volume estimation in relevant characteristics except for the higher proportion of hepatocellular carcinoma.

Platelet count was associated with spleen volume ($r=-0.38$, $p=0.001$) and leucocyte count ($r=0.41$, $p<0.0001$) but not with the HVPG ($r=-0.12$, $p=0.2$) or the circulating TPO ($r=0.19$, $p=0.3$) in cirrhosis. In compensated liver disease platelet count correlated with spleen volume ($r=-0.49$, $p=0.012$), leucocyte count ($r=0.34$, $p=0.036$), HVPG ($r=-0.47$, $p=0.004$) and P-TPO ($r=0.31$, $p=0.05$), whereas in decompensated patients platelet count correlated only with spleen volume ($r=-0.31$, $p=0.34$) and leucocyte count ($r=0.45$, $p<0.0001$).

To gain further insight in the role of the failing liver on the development of thrombocytopenia in cirrhosis, we specifically determined the levels of TPO in samples collected directly from the hepatic vein, taking into account that the liver is the main source of TPO in healthy adults. On one hand, H-TPO correlated positively with P-TPO ($r=0.56$, $p<0.0001$). On the other hand, the percentage of patients who had detectable levels of H-TPO decreased as the severity of liver disease increased (25/34, 73.5% vs 29/64, 45.3%, compensated vs decompensated cirrhosis), but P-TPO levels were similar in both stages of liver disease (34/40, 85% vs 63/76, 83%, compensated vs decompensated cirrhosis). Interestingly, the presence of a higher concentration of P-TPO than H-TPO was common (74/98, 75.5%). This was unexpected given the predominant role of the liver in the production of TPO and the negative feed-back mechanism. Remarkably, the patients in whom H-TPO was lower than P-TPO showed a more advanced liver disease (greater MELD and higher concentration of bilirubin), and higher circulating concentrations of IL-11 and a tendency to higher circulating of HGF and lower SCF. To further explore this finding, we collected blood from the peripheral and hepatic veins from 15 patients without cirrhosis that underwent right heart catheterization. The proportion of patients who presented higher concentrations of H-TPO than P-TPO decreased from 66.7% (10/15) in the control group to 23.5% and

12.5%, respectively, in patients with compensated and decompensated liver cirrhosis ($p < 0.0001$).

Conclusions: Platelet count in cirrhosis is associated mainly to spleen volume, although portal hypertension as estimated by HVPG and liver function also play a role in compensated patients. H-TPO levels are associated to degree of liver failure, so that the proportion of patients with higher P-TPO than H-TPO increases with the presence of liver disease and severity of liver disease, suggesting the activation of alternative mechanisms of thrombopoiesis.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Blachier M, L.H., Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F., The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol*, 2013. **58**(3): p. 593-608.
2. Kim WR, B.R.J., Terrault NA, El-Serag H., Burden of liver disease in the United States: summary of a workshop. *Hepatology*, 2002. **36**(1): p. 227-42.
3. D'Amico, G., G. Garcia-Tsao, and L. Pagliaro, Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*, 2006. **44**(1): p. 217-31.
4. Kamath, P.S., et al., A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*, 2001. **33**(2): p. 464-70.
5. Fernández-Esparrach G, S.-F.A., Ginès P, Uriz J, Quintó L, Ventura PJ, Cárdenas A, Guevara M, Sort P, Jiménez W, Bataller R, Arroyo V, Rodés J., A prognostic model for predicting survival in cirrhosis with ascites. *J Hepatol*, 2001. **34**(1): p. 46-52.
6. Heuman DM, A.-A.S., Habib A, Williams LM, Stravitz RT, Sanyal AJ, Fisher RA, Mihas AA., Persistent ascites and low serum sodium identify patients with cirrhosis and low MELD scores who are at high risk for early death. *Hepatology*, 2004. **40**(4): p. 802-10.
7. Salerno F, B.G., Moser P, Badalamenti S, Cassarà L, Maggi A, Fusini M, Cesana B., Survival and prognostic factors of cirrhotic patients with ascites: a study of 134 outpatients. *Am J Gastroenterol*, 1993. **88**(4): p. 514-9.
8. Montoliu S, B.B., Planas R, Alvarez MA, Rivera M, Miquel M, Masnou H, Cirera I, Morillas RM, Coll S, Sala M, García-Retortillo M, Cañete N, Solà R., Incidence and prognosis of different types of functional renal failure in cirrhotic patients with ascites. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2010. **8**(7): p. 616-22.
9. Wanless IR, W.F., Blendis LM, Greig P, Heathcote EJ, Levy G., Hepatic and portal vein thrombosis in cirrhosis: possible role in development of parenchymal extinction and portal hypertension. *Hepatology*, 1995. **21**: p. 1238-1247.
10. Gupta TK, T.M., Chung MK, Groszmann RJ. , Endothelial dysfunction and decreased production of nitric oxide in the intrahepatic microcirculation of cirrhotic rats. . *Hepatology*, 1998. **28**: p. 926-931.
11. Rockey Dc, C.J., Reduced nitric oxide production by endothelial cells in cirrhotic rat liver: endothelial dysfunction in portal hypertension. . *Gastroenterology*, 1998. **114**: p. 344-351.
12. Graupera M, G.-P.J., Pares M, Abraldes JG, Rosello J, Bosch J, et al. , Cyclooxygenase-1 inhibition corrects endothelial dysfunction in cirrhotic rat livers. *J Hepatol*, 2003. **39**: p. 515-21.
13. Bosch J, G.-P.J., Complications of cirrhosis. I. Portal hypertension. *J Hepatol*, 2000. **32**: p. 141-56.
14. Abraldes JG, A.A., Bañares R, Turnes J, Gonzalez R, Garcia-Pagan JC, et al., Simvastatin lowers pressure in patients with cirrhosis and portal hypertension: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*, 2009. **136**: p. 1651-8.
15. Abraldes JG, R.-V.A., Graupera M, Zafra C, Garcia-Caldero H, Garcia-Pagan JC, et al, Simvastatin treatment improves liver sinusoidal endothelial dysfunction in CCl4 cirrhotic rats. *J Hepatol*, 2007. **46**: p. 1040-6.
16. Matei V, R.-V.A., Deulofeu R, Garcia-Caldero H, Fernandez M, Bosch J, et al. , Thre-day tetrahydrobiopterin therapy increases in vivo hepatic NOS activity and reduces portal pressure in CCl4 cirrhotic rats. . *J Hepatol*, 2008. **49**: p. 192-7.

17. Vorobioff J, B.J., Groszmann RJ. , Hyperdynamic circulation in portal-hypertensive rat model: a primary factor for maintenance of chronic portal hypertension. . *Am J Physiol*, 1983. **244**: p. G52-57.
18. Sitzmann JV, B.G., Mitchell MC, Campbell K. , Role of prostacyclin in the splanchnic hyperemia contributing to portal hypertension. *Ann Surg*, 1989. **209**: p. 322-327.
19. Wiest R, S.V., Sessa WC, Groszmann RJ. , NO overproduction by eNOS precedes hyperdynamic splanchnic circulation in portal hypertensive rats. . *Am J Physiol*, 1999. **276**: p. G1043-1051.
20. Schrier RW, A.V., Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Rodes J. , Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology*, 1988. **8**: p. 1151-1157.
21. Kowalski HJ, A.W., The cardiac output at rest in Laennec's cirrhosis. *J Clin Invest*, 1953. **32**: p. 1025-1033.
22. Bataller R, B.D., Liver fibrosis. *J Clin Invest*, 2005. **115**: p. 20-18.
23. Medina J, A.A., Sanchez-Madrid F, Moreno-Otero R. , Angiogenesis in chronic inflammatory liver disease. *Hepatology*, 2004. **39**: p. 1185-1195.
24. Folkman J, D.A.P., Blood vessel formation: what is its molecular basis? *Cell*, 1996. **87**(7): p. 1153-5.
25. Mejias M, G.-P.E., Tiani C, Miquel R, Bosch J, Fernandez M., Beneficial effects of sorafenib on splanchnic, intrahepatic, and portocollateral circulations in portal hypertensive and cirrhotic rats. *Hepatology*, 2009. **49**(4): p. 1245-56.
26. Huang HC, H.O., Utsumi T, Sethasine S, Abraldes JG, Groszmann RJ, Iwakiri Y., Intestinal and plasma VEGF levels in cirrhosis: the role of portal pressure. *J Cell Mol Med*, 2012. **16**(5): p. 1125-33.
27. Groszmann RJ, G.M., Blei AT, Storer E, Conn HO, Wedged and free hepatic venous pressure measured with a balloon catheter. . *Gastroenterology*, 1979. **76**: p. 253-258.
28. Myers JD, a.T.W., An estimation of portal venous pressure by occlusive catheterization of an hepatic venule. *J Clin Invest*, 1951. **30**.
29. Boyer TD, T.D., Horisawa M, Redeker AG, Reynolds TB., Direct transhepatic measurement of portal vein pressure using a thin needle. Comparison with wedged hepatic vein pressure. *Gastroenterology*, 1977. **72**(4): p. 584-9.
30. Pomier-Layrargues G, K.D., Willems B, Villeneuve JP, Marleau D, Côté J, Huet PM., Presinusoidal portal hypertension in non-alcoholic cirrhosis. *Hepatology*, 1985. **5**(3): p. 415-8.
31. Deplano A, M.V., Pischedda A, Garrucciu G, Gregu G, Multinu C, Piredda M, Tocco A, Urigo F, Cossu PA, Solinas A., Portohepatic gradient and portal hemodynamics in patients with cirrhosis due to hepatitis C virus infection. *Dig Dis Sci*, 1999. **44**(1): p. 155-62.
32. Perelló A, E.A., Bru C, Gilabert R, Moitinho E, García-Pagán JC, Bosch J., Wedged hepatic venous pressure adequately reflects portal pressure in hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology*, 1999. **30**(6): p. 1393-7.
33. Viallet A, M.D., Huet M, Martin F, Farley A, Villeneuve JP, Lavoie P., Hemodynamic evaluation of patients with intrahepatic portal hypertension. Relationship between bleeding varices and the portohepatic gradient. *Gastroenterology*, 1975. **19**(6): p. 1297-300.
34. Garcia-Tsao G, G.R., Fisher RL, Conn HO, Atterbury CE, Glickman M., Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding. *Hepatology*, 1985. **5**(3): p. 419-24.

35. Groszmann RJ, G.-T.G., Bosch J, Grace ND, Burroughs AK, Planas R, Escorsell A, Garcia-Pagan JC, Patch D, Matloff DS, Gao H, Makuch R., Beta-blockers to prevent gastroesophageal varices in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*, 2005. **353**: p. 2254-61.
36. D'Amico G, G.-P.J., Luca A, Bosch J., Hepatic vein pressure gradient reduction and prevention of variceal bleeding in cirrhosis: a systematic review. *Gastroenterology*, 2006. **131**(5): p. 1611-24.
37. Ripoll C, G.R., Garcia-Tsao G, et al, Hepatic venous pressure gradient predicts clinical decompensation in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*, 2007. **133**(2): p. 481-488.
38. Ripoll C, G.R., Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs A, Planas R, Escorsell A, Garcia-Pagan JC, Makuch R, Patch D, Matloff DS; Portal Hypertension Collaborative Group., Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. *J Hepatol*, 2009. **50**(5): p. 923-8.
39. Villanueva C, L.-B.J., Aracil C, Kolle L, González B, Miñana J, Soriano G, Guarner C, Balanzó J., Maintenance of hemodynamic response to treatment for portal hypertension and influence on complications of cirrhosis. *J Hepatol*, 2004. **40**(5): p. 757-65.
40. Abraldes JG, T.I., Turnes J, Garcia-Pagan JC, Rodés J, Bosch J., Hemodynamic response to pharmacological treatment of portal hypertension and long-term prognosis of cirrhosis. *Hepatology*, 2003. **37**(4): p. 902-8.
41. Turnes J, G.-P.J., Abraldes JG, Hernandez-Guerra M, Dell'Era A, Bosch J., Pharmacological reduction of portal pressure and long-term risk of first variceal bleeding in patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol*, 2006. **101**(3): p. 506-12.
42. Kamath PS, W.R., Malinchoc M, et al, A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*, 2001. **33**: p. 464-70.
43. Child CG, T.J., Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg*, 1964. **1**: p. 1-85.
44. Ripoll C, B.K., Garcia-Tsao G., Serum Albumin Can Identify Patients With Compensated Cirrhosis With a Good Prognosis. *J Clin Gastroenterol*, 2014.
45. Nahon P, G.-C.N., Degos F, Nahon K, Paries J, Grando V, Chaffaut C, Njapoum C, Christidis C, Trinchet JC, Chevret S, Beaugrand M., Serum albumin and platelet count but not portal pressure are predictive of death in patients with Child-Pugh A hepatitis C virus-related cirrhosis. *Gastroenterol Clin Biol*, 2005. **29**(4): p. 347-52.
46. Pfortmueller CA, W.C., Funk GC, Leichtle AB, Fiedler GM, Exadaktylos AK, Lindner G., Hypoglycemia is associated with increased mortality in patients with acute decompensated liver cirrhosis. *J Crit Care*, 2014. **29**(2): p. 316.
47. Ercolani G, G.G., Callivà R, Pierangeli F, Cescon M, Cavallari A, Mazziotti A., The lidocaine (MEGX) test as an index of hepatic function: its clinical usefulness in liver surgery. *Surgery*, 2000. **127**(4): p. 464-71.
48. Sheng QS, L.R., He Q, Yang YJ, Zhao DF, Chen DZ, Indocyanine green clearance test and model for end-stage liver disease score of patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2009. **8**(1): p. 46-9.
49. Chen X, Z.H., Li ZQ, Yu XF, Yang MF, Wang HH, Teng LS, Indocyanine green clearance in evaluating the recovery of liver reserve function after superselective transarterial chemoembolization. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2013. **12**(6): p. 656-60.

50. Zotz RB, v.S.J., Erhard J, Breuer N, Lange R, Beste M, Goebell H, Eigler FW., Value of an extended monoethylglycinexylidide formation test and other dynamic liver function tests in liver transplant donors. *Transplantation*, 1997. **63**(4): p. 538-41.
51. Olmedilla L, P.-P.J., Ripoll C, Garutti I, de Diego R, Salcedo M, Jiménez C, Bañares R., Early noninvasive measurement of the indocyanine green plasma disappearance rate accurately predicts early graft dysfunction and mortality after deceased donor liver transplantation. *Liver Transpl*, 2009. **15**(10): p. 1247-53.
52. Tripodi A, M.P., The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med*, 2011. **365**(2): p. 147-56.
53. Tripodi A, S.F., Chantarangkul V, Clerici M, Cazzaniga M, Primignani M, Mannuccio Mannucci P., Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests. *Hepatology*, 2005. **41**(3): p. 553-8.
54. Tripodi A, P.M., Chantarangkul V, Clerici M, Dell'Era A, Fabris F, Salerno F, Mannucci PM., Thrombin generation in patients with cirrhosis: the role of platelets. *Hepatology*, 2006. **44**(2): p. 440-5.
55. Tripodi A, M.P., Abnormalities of hemostasis in chronic liver disease: reappraisal of their clinical significance and need for clinical and laboratory research. *J Hepatol*, 2007. **46**(4): p. 727-33.
56. Giles, C., The platelet count and mean platelet volume. *Br J Haematol*, 1981. **48**(1): p. 31-37.
57. Brecher, G. and E.P. Cronkite, Morphology and enumeration of human blood platelets. *J Appl Physiol*, 1950. **3**(6): p. 365-77.
58. Yeaman, M., The role of platelets in antimicrobial host defense. *Clin Infect Dis*, 1997. **25**: p. 951-968.
59. Speth C, L.J., Krappmann S, Lass-Flörl C, Rambach G., Platelets as immune cells in infectious diseases. *Future Microbiol*, 2013. **8**(11): p. 1431-51.
60. Lisman T, P.R., The role of platelets in liver inflammation and regeneration. *Semin Thromb Hemost*, 2010. **36**(2): p. 170-4.
61. Starlinger P, A.A., Haegele S, Wanek D, Zikeli S, Schauer D, Birner P, Fleischmann E, Gruenberger B, Brostjan C, Gruenberger T., Evidence for serotonin as a relevant inducer of liver regeneration after liver resection in humans. *Hepatology*, 2014. **60**(1): p. 257-66.
62. Aster, R.H. and J.H. Jandl, Platelet Sequestration in Man. I. Methods. *J Clin Invest*, 1964. **43**: p. 843-55.
63. Ernest Beutler M.D., M.A.L.M.D., Barry S. Coller M.D., Thomas J. Kipps M.D. Ph.D., Uri and S. M.D, ed. *Williams Hematology*. 6 ed. 2000.
64. Tura, *Malattie del sangue e degli organi emopoietici*. 2003.
65. Jenne CN, U.R., Kubes P., Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity. *Int J Lab Hematol*, 2013. **35**: p. 254-61.
66. Clark SR, M.A., Tavener SA, McDonald B, Goodarzi Z, Kelly MM, Patel KD, Chakrabarti S, McAvoy E, Sinclair GD, Keys EM, Allen-Vercoe E, Devinney R, Doig CJ, Green FH, Kubes P., Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med*, 2007. **13**(4): p. 463-9.
67. Assinger A, L.M., Schabbauer G, Hirschl AM, Buchberger E, Binder BR, Volf I., Efficient phagocytosis of periodontopathogens by neutrophils requires plasma factors, platelets and TLR2. *J Thromb Haemost*, 2011. **9**(4): p. 799-809.

68. Mueller A, M.A., McDonagh EM, Fox JM, Petit SJ, Xanthou G, Williams TJ, Pease JE., CXCL4-induced migration of activated T lymphocytes is mediated by the chemokine receptor CXCR3. *J Leukoc Biol*, 2008. **83**(4): p. 875-82.
69. Lesurtel M, C.P., Platelet-derived serotonin: translational implications for liver regeneration. *Hepatology*, 2014. **60**(1): p. 30-3.
70. Lesurtel M, G.R., Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, Gachet C, et al, Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science*, 2006. **312**: p. 104-7.
71. Papadimas GK, T.K., Panoutsopoulos GI, Demonakou MD, Skaltsas SD, Hereti RI, Papadopoulou-Daifoti Z, et al., Effect of serotonin receptor 2 blockage on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat liver. *Liver International*, 2006. **26**(3): p. 352-61.
72. Nocito A, G.P., Dahm F, Jochum W, Bader M, Graf R, Clavien PA. , Platelets and platelet-derived serotonin promote tissue repair after normothermic hepatic ischemia in mice. *Hepatology*, 2007. **45**(2): p. 369-76.
73. Kaushansky, K., Thrombopoietin. *N Engl J Med*, 1998. **339**(11): p. 746-54.
74. Kaushansky, K., Thrombopoietin and platelet development. *West J Med*, 1996. **164**(3): p. 209-11.
75. Kato, T., et al, Purification and characterization of thrombopoietin. *J Biochem*, 1995. **11**(1): p. 229-36.
76. Wendling, F., et al, MPLV: a retrovirus complex inducing an acute myeloproliferative leukemic disorder in adult mice. *Virology*, 1986. **149**(2): p. 242-6.
77. Vigon, I., et al, Molecular cloning and characterization of MPL, the human homolog of the v-mpl oncogene: identification of a member of the hematopoietic growth factor receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992. **89**(12): p. 5640-4.
78. Methia, N., et al., Oligodeoxynucleotides antisense to the proto-oncogene c-mpl specifically inhibit in vitro megakaryocytopoiesis. *Blood*, 1993. **82**(5): p. 1395-401.
79. Wendling, F., et al., cMpl ligand is a humoral regulator of megakaryocytopoiesis. *Nature*, 1994. **369**(6481): p. 571-4.
80. Methia, N., et al., From the v-mpl oncogene to thrombopoietin. *C R Acad Sci III*, 1995. **318**(4): p. 479-82.
81. Foster, D.C., et al., Human thrombopoietin: gene structure, cDNA sequence, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994. **91**(26): p. 13023-7.
82. Bacon, C.M., et al., Thrombopoietin (TPO) induces tyrosine phosphorylation and activation of STAT5 and STAT3. *FEBS Lett*, 1995. **370**(1-2): p. 63-8.
83. Dorsch, M., et al., TPO and IL-3 induce overlapping but distinct protein tyrosine phosphorylation in a myeloid precursor cell line. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995. **214**(2): p. 424-31.
84. Gurney, A.L., et al., Distinct regions of c-Mpl cytoplasmic domain are coupled to the JAK-STAT signal transduction pathway and Shc phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995. **92**(12): p. 5292-6.
85. Miyakawa, Y., et al., Thrombopoietin induces tyrosine phosphorylation of Stat3 and Stat5 in human blood platelets. *Blood*, 1996. **87**(2): p. 439-46.
86. Zauli, G., et al., In vitro senescence and apoptotic cell death of human megakaryocytes. *Blood*, 1997. **90**(6): p. 2234-43.

87. Choi, E.S., et al., Platelets generated in vitro from proplatelet-displaying human megakaryocytes are functional. *Blood*, 1995. **85**(2): p. 402-13.
88. de Sauvage, F.J., et al., Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature*, 1994. **369**(6481): p. 533-8.
89. Broudy, V.C., N.L. Lin, and K. Kaushansky, Thrombopoietin (c-mpl ligand) acts synergistically with erythropoietin, stem cell factor, and interleukin-11 to enhance murine megakaryocyte colony growth and increases megakaryocyte ploidy in vitro. *Blood*, 1995. **85**(7): p. 1719-26.
90. Basser, R.L., et al., Thrombopoietic effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHuMGDF) in patients with advanced cancer. *Lancet*, 1996. **348**(9037): p. 1279-81.
91. Harker, L.A., et al., Regulation of platelet production and function by megakaryocyte growth and development factor in nonhuman primates. *Blood*, 1996. **87**(5): p. 1833-44.
92. Sitnicka, E., et al., The effect of thrombopoietin on the proliferation and differentiation of murine hematopoietic stem cells. *Blood*, 1996. **87**(12): p. 4998-5005.
93. Qian S, e.a., Primary role of the liver in the thrombopoietin production shown by tissue-specific knockout. *Blood*, 1998. **92**.
94. Wolber, E.J., W, Thrombopoietin: The Novel Hepatic Hormone. *News Physiol. Sci.*, 2002. **17**: p. 6-10.
95. Wolber, E.M., et al., Expression of the thrombopoietin gene in human fetal and neonatal tissues. *Blood*, 1999. **94**(1): p. 97-105.
96. Sungaran, R., B. Markovic, and B.H. Chong, Localization and regulation of thrombopoietin mRNA expression in human kidney, liver, bone marrow, and spleen using in situ hybridization. *Blood*, 1997. **89**(1): p. 101-7.
97. Kuter, D.J., Thrombopoietin: biology, clinical applications, role in the donor setting. *J Clin Apher*, 1996. **11**(3): p. 149-59.
98. Kuter, D.J. and R.D. Rosenberg, The reciprocal relationship of thrombopoietin (c-Mpl ligand) to changes in the platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit. *Blood*, 1995. **85**(10): p. 2720-30.
99. Fielder, P.J., et al., Regulation of thrombopoietin levels by c-mpl-mediated binding to platelets. *Blood*, 1996. **87**(6): p. 2154-61.
100. Fielder, P.J., et al., Human platelets as a model for the binding and degradation of thrombopoietin. *Blood*, 1997. **89**(8): p. 2782-8.
101. Emmons, R.V., et al., Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increased platelet destruction. *Blood*, 1996. **87**(10): p. 4068-71.
102. Wolber EM, J.W., Interleukin-6 increases thrombopoietin production in human hepatoma cells HepG2 and Hep3B. *J Interferon Cytokine Res*, 2000. **20**: p. 499-506.
103. Geddis AE, F.N., Kaushansky K., The Mpl receptor expressed on endothelial cells does not contribute significantly to the regulation of circulating thrombopoietin levels. *Exp Hematol*, 2006. **34**(1): p. 82-6.
104. Geissler BK, V.P., Bettelheim P, Sillabaer C, Wagner B, Kyrle P, et al, In vivo synergism of recombinant human Interleukin-3 and recombinant human Interleukin-6 on thrombopoiesis in primates. *Blood*, 1992. **79**(5): p. 1155-1160.
105. Sieff CA, N.C., Nathan D, Ekern SC, Bieber FR, Yang YC, Wong G, Clark SC, Stimulation of human hematopoietic colony formation by recombinant gibbon multi-colony-stimulating factor or interleukin-3. *J Clin Invest*, 1987. **80**(818).

106. Chen Q, S.G., Eaton DL, de Sauvage FJ., IL-3 does not contribute to platelet production in c-Mpl-deficient mice. *Stem Cells*, 1998. **16**(2): p. 31-6.
107. Gainsford T, R.A., Kimura S, Metcalf D, Dranoff G, Mulligan RC, Begley CG, Robb L, Alexander WS., Cytokine production and function in c-mpl-deficient mice: no physiologic role for interleukin-3 in residual megakaryocyte and platelet production. *Blood*, 1998. **91**(8): p. 245-52.
108. Lennartsson J, R.L., Stem cell factor receptor/c-Kit: from basic science to clinical implications. *Physiol Rev*, 2012. **92**(4): p. 1619-49.
109. Ishibashi T, K.H., Uchida T, Kariyone S, Friese P, Burnstein SA. , Human interleukin-6 is a direct promoter of maturation of megakaryocyte in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989. **86**(5953).
110. Du X, W.D., Interleukin-11: review of molecular, cell biology, and clinical use. *Blood*, 1997. **89**(11): p. 3897-908.
111. Harrison, Principios de medicina interna. Vol. I. 2004. 882-4.
112. Kosone, T., et al., Hepatocyte growth factor accelerates thrombopoiesis in transgenic mice. *Lab Invest*, 2007. **87**(3): p. 284-91.
113. Galimi F, B.G., Bonsi L, Cottone E, Follenzi A, Simeone A, Comoglio PM, Hepatocyte growth factor induces proliferation and differentiation of multipotent and erythroid hemopoietic progenitors. *J Cell Biol*, 1994. **127**(6): p. 1743-54.
114. Yamashita K, M.H., Ochiai T, Matsushita R, Kubuki Y, Suzuki M, Tsubouchi H., Hepatocyte growth factor/scatter factor enhances the thrombopoietin mRNA expression in rat hepatocytes and cirrhotic rat livers. *J Gastroenterol Hepatol*, 2000. **15**(1): p. 83-90.
115. Gainsford T, N.H., Metcalf D, Robb L, Begley CG, Alexander WS., The residual megakaryocyte and platelet production in c-mpl-deficient mice is not dependent on the actions of interleukin-6, interleukin-11, or leukemia inhibitory factor. *Blood*, 2000. **95**(2): p. 528-34.
116. Zheng, C., et al., TPO-independent megakaryocytopoiesis. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2008. **65**(3): p. 212-22.
117. Kaushansky, K., Determinants of platelet number and regulation of thrombopoiesis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2009: p. 147-52.
118. Hodohara K, F.N., Yamamoto N, Kaushansky K., Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) acts together with thrombopoietin to enhance the development of megakaryocytic progenitor cells (CFU-MK). *Blood*, 2000. **95**(3): p. 769-75.
119. Avecilla ST, H.K., Heissig B, Tejada R, Liao F, Shido K, Jin DK, Dias S, Zhang F, Hartman TE, Hackett NR, Crystal RG, Witte L, Hicklin DJ, Bohlen P, Eaton D, Lyden D, de Sauvage F, Rafii S., Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis. *Nat Med*, 2004. **10**(1): p. 64-71.
120. Schatken, R.V., Hypersplenism: a review and case report. *Ann Surg*, 1952. **135**(4): p. 536-42.
121. Penington, D.G., Studies of platelet production and sequestration in the experimental animal. *Proc R Soc Med*, 1968. **61**(6): p. 601-3.
122. Aster, R.H., Platelet sequestration studies in man. *Br J Haematol*, 1972. **22**(3): p. 259-63.
123. Aster, R.H., Pooling of platelets in the spleen: role in the pathogenesis of "hypersplenic" thrombocytopenia. *J Clin Invest*, 1966. **45**(5): p. 645-57.
124. Karpatkin, S., HIV-1-related thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am*, 1990. **4**(1): p. 193-218.

125. Li Z, N.M., Karpatkin S., Role of molecular mimicry to HIV-1 peptides in HIV-1-related immunologic thrombocytopenia. *Blood*, 2005. **106**(2): p. 572-6.
126. George, J.N. and R.H. Aster, Drug-induced thrombocytopenia: pathogenesis, evaluation, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2009: p. 153-8.
127. Ballem, P.J., et al., Mechanisms of thrombocytopenia in chronic autoimmune thrombocytopenic purpura. Evidence of both impaired platelet production and increased platelet clearance. *J Clin Invest*, 1987. **80**(1): p. 33-40.
128. Aster, R.H. and J.H. Jandl, Platelet Sequestration in Man. II. Immunological and Clinical Studies. *J Clin Invest*, 1964. **43**: p. 856-69.
129. Qamar, A.A., et al., Incidence, prevalence, and clinical significance of abnormal hematologic indices in compensated cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009. **7**(6): p. 689-95.
130. Giannini, E.G., Review article: thrombocytopenia in chronic liver disease and pharmacologic treatment options. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006. **23**(8): p. 1055-65.
131. Bashour, F.N., J.C. Teran, and K.D. Mullen, Prevalence of peripheral blood cytopenias (hypersplenism) in patients with nonalcoholic chronic liver disease. *Am J Gastroenterol*, 2000. **95**(10): p. 2936-9.
132. Afdhal, N., et al., Thrombocytopenia associated with chronic liver disease. *J Hepatol*, 2008. **48**(6): p. 1000-7.
133. Slichter, S., Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. *Transfus Med Rev*, 2004. **18**(3): p. 153-67.
134. Grant A, N.J., Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. *Gut*, 1999. **45**: p. 1-11.
135. Strader DB, W.T., Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases., Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*, 2004. **39**(4): p. 1147-71.
136. McHutchison, J.G., et al., Eltrombopag for thrombocytopenia in patients with cirrhosis associated with hepatitis C. *N Engl J Med*, 2007. **357**(22): p. 2227-36.
137. Terrault NA, H.T., Howell CD, Joshi S, Lake J, Sher L, Vargas H, et al., Phase II Study of Avatrombopag in Thrombocytopenic Patients with Cirrhosis Undergoing an Elective Procedure. *J Hepatol*, 2014.
138. Afdhal, N.H., et al., Eltrombopag before procedures in patients with cirrhosis and thrombocytopenia. *N Engl J Med*, 2012. **367**(8): p. 716-24.
139. Branehög I, W.A., Roos B., The exchangeable splenic platelet pool studied with epinephrine infusion in idiopathic thrombocytopenic purpura and in patients with splenomegaly. *Br J Haematol*, 1973. **25**(2): p. 239-48.
140. Kutti J, W.A., Westin J., The relationship between splenic platelet pool and spleen size. *Scand J Haematol*, 1972. **9**(4): p. 351-4.
141. Kawasaki T, T.A., Souda K, Kobayashi Y, Kikuyama M, Suzuki F, Kageyama F, et al, Serum thrombopoietin levels in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol*, 1999. **94**: p. 1918-1922.
142. Adinolfi, L.E., et al., Hepatic fibrosis plays a central role in the pathogenesis of thrombocytopenia in patients with chronic viral hepatitis. *Br J Haematol*, 2001. **113**(3): p. 590-5.
143. Akyuz, F., et al., The role of thrombopoietin and spleen volume in thrombocytopenia of patients with noncirrhotic and cirrhotic portal hypertension. *Turk J Gastroenterol*, 2007. **18**(2): p. 95-9.

144. Sanjo, A., et al., Role of elevated platelet-associated immunoglobulin G and hypersplenism in thrombocytopenia of chronic liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003. **18**(6): p. 638-44.
145. Freni, M.A., et al., Serum thrombopoietin in chronic liver disease: relation to severity of the disease and spleen size. *Hepatogastroenterology*, 2002. **49**(47): p. 1382-5.
146. Rios, R., et al., The role of thrombopoietin in the thrombocytopenia of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol*, 2005. **100**(6): p. 1311-6.
147. Shah, S.H., et al., Measurement of spleen size and its relation to hypersplenism and portal hemodynamics in portal hypertension due to hepatic cirrhosis. *Am J Gastroenterol*, 1996. **91**(12): p. 2580-3.
148. Koruk M, O.M., Akcay F, Savas MC., Serum thrombopoietin levels in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis, and its relationship with circulating thrombocyte counts. *Hepatogastroenterology*, 2002. **49**: p. 1645-1648.
149. Djordjević J, S.P., Vrinić D, Dapcević B., Splenomegaly and thrombocytopenia in patients with liver cirrhosis. *Vojnosanit Pregl*, 2010. **67**: p. 166-9.
150. Thomopoulos KC, L.-K.C., Mimidis KP, Katsakoulis EC, Iconomou G, Nikolopoulou VN., Non-invasive predictors of the presence of large oesophageal varices in patients with cirrhosis. *Dig Liver Dis*, 2003. **35**(7): p. 473-8.
151. Sarangapani A, S.C., Kalyanasundaram M, Rangachari B, Thangavelu P, Subbarayan JK., Noninvasive prediction of large esophageal varices in chronic liver disease patients. *Saudi J Gastroenterol*, 2010. **16**(1): p. 38-42.
152. Sharma SK, A.R., Prediction of large esophageal varices in patients with cirrhosis of the liver using clinical, laboratory and imaging parameters. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007. **22**(11): p. 1909-15.
153. Agha A, A.E., Bashir K, Savarino V, Giannini EG., External validation of the platelet count/spleen diameter ratio for the diagnosis of esophageal varices in hepatitis C virus-related cirrhosis. *Dig Dis Sci*, 2009. **54**(3): p. 654-60.
154. Giannini EG, Z.A., Kreil A, Floreani A, Dulbecco P, Testa E, Sohaey R, Verhey P, Peck-Radosavljevic M, Mansi C, Savarino V, Testa R., Platelet count/spleen diameter ratio for the noninvasive diagnosis of esophageal varices: results of a multicenter, prospective, validation study. *Am J Gastroenterol*, 2006. **101**(11): p. 2511-9.
155. Schwarzenberger E, M.T., Golla V, Sahdala NP, Min AD., Utilization of platelet count spleen diameter ratio in predicting the presence of esophageal varices in patients with cirrhosis. *J Clin Gastroenterol*, 2010. **44**(2): p. 146-50.
156. Ying L, L.X., Xie ZL, Hu YP, Shi KQ. , Performance of platelet count/spleen diameter ratio for diagnosis of esophageal varices in cirrhosis: a meta-analysis. *Dig Dis Sci*, 2012. **57**(6): p. 1672-81.
157. Schepis, F., et al., Which patients with cirrhosis should undergo endoscopic screening for esophageal varices detection? *Hepatology*, 2001. **33**(2): p. 333-8.
158. Zaman A, H.R., Flora K, Rosen HR, Benner K., Factors predicting the presence of esophageal or gastric varices in patients with advanced liver disease. *Am J Gastroenterol*, 1999. **94**(11): p. 3292-6.
159. Berzigotti A, S.S., Arena U, Abraldes JG, Vizzutti F, García-Pagán JC, Pinzani M, Bosch J., Elastography, spleen size, and platelet count identify portal hypertension in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*, 2013. **144**(1): p. 102-111.

160. Peck-Radosavljevic, M., et al., Is inadequate thrombopoietin production a major cause of thrombocytopenia in cirrhosis of the liver? *J Hepatol*, 1997. **27**(1): p. 127-31.
161. Goulis, J., et al., Thrombopoietin concentrations are low in patients with cirrhosis and thrombocytopenia and are restored after orthotopic liver transplantation. *Gut*, 1999. **44**(5): p. 754-8.
162. Martin, T.G., 3rd, et al., Thrombopoietin levels in patients with cirrhosis before and after orthotopic liver transplantation. *Ann Intern Med*, 1997. **127**(4): p. 285-8.
163. Pursnani, K.G., L.F. Sillin, and D.S. Kaplan, Effect of transjugular intrahepatic portosystemic shunt on secondary hypersplenism. *Am J Surg*, 1997. **173**(3): p. 169-73.
164. Jalan, R., et al., Prospective evaluation of haematological alterations following the transjugular intrahepatic portosystemic stent-shunt (TIPSS). *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1996. **8**(4): p. 381-5.
165. Gschwantler, M., et al., Course of platelet counts in cirrhotic patients after implantation of a transjugular intrahepatic portosystemic shunt--a prospective, controlled study. *J Hepatol*, 1999. **30**(2): p. 254-9.
166. Sanyal AJ, F.A., Purdum PP, Shiffman ML, Luketic VA., The hematologic consequences of transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*, 1996. **23**(1): p. 32-9.
167. Jabbour, N., et al., Does transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) resolve thrombocytopenia associated with cirrhosis? *Dig Dis Sci*, 1998. **43**(11): p. 2459-62.
168. Aref S, M.M., Selim T, Goda T, Khafagy N., Thrombopoietin (TPO) levels in hepatic patients with thrombocytopenia. *Hematology*, 2004. **9**: p. 351-6.
169. Barrison, I.G., et al., Platelet associated immunoglobulins on chronic liver disease. *Br J Haematol*, 1981. **48**(2): p. 347-50.
170. de Noronha, R., et al., Inter-relationships between platelet count, platelet IgG, serum IgG, immune complexes and severity of liver disease. *Clin Lab Haematol*, 1991. **13**(2): p. 127-35.
171. Gluud, C., et al., Autoantibodies and immunoglobulins in patients with alcoholic cirrhosis. Relation to measurements of hepatic function and hemodynamics. *Digestion*, 1984. **30**(1): p. 1-6.
172. Graber, D., et al., Platelet-associated IgG in hepatitis and cirrhosis. *J Clin Immunol*, 1984. **4**(2): p. 108-11.
173. Landolfi, R., et al., Platelet-associated IgG in acute and chronic hepatic diseases. *Scand J Haematol*, 1980. **25**(5): p. 417-22.
174. Pereira, J., et al., Platelet autoantibodies in patients with chronic liver disease. *Am J Hematol*, 1995. **50**(3): p. 173-8.
175. Pfueller, S.L., et al., Association of increased immune complexes, platelet IgG and serum IgG in chronic active hepatitis. *Clin Exp Immunol*, 1983. **54**(3): p. 655-60.
176. Christodoulou D, K.K., Zervou E, Theopistos V, Papathanasopoulos A, Christou L, Tsianos EV., Platelet IgG antibodies are significantly increased in chronic liver disease. *Ann Gastroenterol*, 2011. **24**(1): p. 47-52.
177. Kajihara, M., et al., A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *Hepatology*, 2003. **37**(6): p. 1267-76.

178. Kajihara, M., et al., Evaluation of platelet kinetics in patients with liver cirrhosis: similarity to idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007. **22**(1): p. 112-8.
179. Kajiwara, E., et al., Evidence for an immunological pathogenesis of thrombocytopenia in chronic liver disease. *Am J Gastroenterol*, 1995. **90**(6): p. 962-6.
180. Aref S, I.L., El Menshawy N, Bassam A., Effect of splenectomy on platelets associated antibodies in hepatitis C patients with thrombocytopenia. *Hematology*, 2012. **17**(2): p. 118-21.
181. Peck-Radosavljevic M, Z.J., Wichlas M, Sims P, Meng YG, Panzer S, Lipinski E, Steininger R, Mühlbacher F, Pidlich J, Gangl A., Thrombopoietic cytokines and reversal of thrombocytopenia after liver transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1999. **11**(2): p. 151-6.
182. Ghalib R, L.C., Hassan M, McClelland T, Goss J, Stribling R, Seu P, Patt YZ., Recombinant human interleukin-11 improves thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *Hepatology*, 2003. **37**(5): p. 1165-71.
183. Bolognesi M, M.C., Sacerdoti D, Nava V, Gatta A., Role of spleen enlargement in cirrhosis with portal hypertension. *Dig Liver Dis*, 2002. **34**: p. 144-150.
184. Giannini, E., et al., Relationship between thrombopoietin serum levels and liver function in patients with chronic liver disease related to hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*, 2003. **98**(11): p. 2516-20.
185. Mejias M, G.-P.E., Gallego J, Mendez R, Bosch J, Fernandez M., Relevance of the mTOR signaling pathway in the pathophysiology of splenomegaly in rats with chronic portal hypertension. *J Hepatol*, 2010. **52**(4): p. 529-39.
186. Malinchoc M, K.P., Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC., A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*, 2000. **31**(4): p. 864-71.
187. Freeman RB Jr, W.R., Harper A, McDiarmid SV, Lake J, Edwards E, Merion R, Wolfe R, Turcotte J, Teperman L; UNOS/OPTN Liver Disease Severity Score, UNOS/OPTN Liver and Intestine, and UNOS/OPTN Pediatric Transplantation Committees., The new liver allocation system: moving toward evidence-based transplantation policy. *Liver Transpl*, 2002. **8**(9): p. 851-8.
188. Slichter, S.J., Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. *Transfus Med Rev*, 2004. **18**(3): p. 153-67.
189. Groszmann RJ, W.S., The hepatic venous pressure gradient: anything worth doing should be done right. *Hepatology*, 2004. **39**: p. 280-282.
190. Vorobioff J, G.R., Picabea E, Gamen M, Villavicencio R, Bordato J, Morel I, Audano M, Tanno H, Lerner E, Passamonti M., Prognostic value of hepatic venous pressure gradient measurements in alcoholic cirrhosis: a 10-year prospective study. *Gastroenterology*, 1996. **111**(3): p. 701-9.
191. Rincon D, B.R., Alonso S, Salcedo M, Catalina MV, Barrio J, et al, Prognostic value of hepatic venous pressure gradient in severe acute alcoholic hepatitis. *J Hepatol*, 2003. **38**.
192. Moitinho E, E.A., Bandi JC, Salmeron JM, Garcia-Pagan JC, Rodes J, et al. , Prognostic value of early measurements of portal pressure in acute variceal bleeding. *Gastroenterology*, 1999. **117**: p. 626-631.
193. Swan HJ, G.W., Forrester J, Marcus H, Diamond G, Chonette D, Catheterization of the heart in man with use of a flow-directed balloon-tipped catheter. *N Engl J Med*, 1970. **283**(9): p. 447-451.

194. Breiman RS, B.J., Korobkin M, Glenny R, Akwari OE, Heaston DK, Moore AV, Ram PC., Volume determinations using computed tomography. *AJR Am J Roentgenol*, 1982. **138**(2): p. 329-33.
195. Dittrich, S., et al., [Correlation between platelet blood levels and the hepatic venous pressure gradient among patients with cirrhosis]. *Arq Gastroenterol*, 2005. **42**(1): p. 35-40.
196. Thabut D, I-B.F., Cazals-Hatem D, Messous D, Muntenau M, Valla DC, Moreau R, et al., Relationship between the Fibrotest and portal hypertension in patients with liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 2007. **26**: p. 359-68.
197. Qamar, A.A., et al., Platelet count is not a predictor of the presence or development of gastroesophageal varices in cirrhosis. *Hepatology*, 2008. **47**(1): p. 153-9.
198. Bellis L, N.S., Galossi A, Guarisco R, Spilabotti L, Durola L, Dell'Unto O, Puoti C., Hepatic venous pressure gradient does not correlate with the presence and the severity of portal hypertensive gastropathy in patients with liver cirrhosis. *J Gastrointestin Liver Dis*, 2007. **16**(3): p. 273-7.
199. Karasu, Z., et al., Effect of transjugular intrahepatic portosystemic shunt on thrombocytopenia associated with cirrhosis. *Dig Dis Sci*, 2000. **45**(10): p. 1971-6.
200. Blendis, L., Hypersplenism in cirrhosis. *Postgrad Med J*, 1969. **45**: p. 223-226.
201. Watanabe, Y., et al., Significance of laparoscopic splenectomy in patients with hypersplenism. *World J Surg*, 2007. **31**(3): p. 549-55.
202. Zhu, J.H., et al., Laparoscopic versus open splenectomy for hypersplenism secondary to liver cirrhosis. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2009. **19**(3): p. 258-62.
203. Lee, C.M., et al., Evaluation of the effect of partial splenic embolization on platelet values for liver cirrhosis patients with thrombocytopenia. *World J Gastroenterol*, 2007. **13**(4): p. 619-22.
204. Schoffski P, T.F., Trautwein C, Martin MU, Caselitz M, Hecker H, Manns MP, et al, Thrombopoietin serum levels are elevated in patients with hepatitis B/C infection compared to other causes of chronic liver disease. *Liver* 2002. **22**: p. 114-20.
205. Okubo, M., G. Shiota, and H. Kawasaki, Thrombopoietin levels in serum and liver tissue in patients with chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Clin Sci (Lond)*, 2000. **99**(3): p. 207-14.
206. Ikura Y, O.M., Okada M, Iwai Y, Wakasa K, The significance of platelet consumption in the development of thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *Am J Med Sci*, 2013. **346**: p. 199-203.
207. Pradella P, B.S., Turchetto S, Uxa L, Comar C, Zorat F, De Angelis V, et al., Platelet production and destruction in liver cirrhosis. *J Hepatol*, 2010. **54**(5): p. 894-900.
208. Shimodaira, S., et al., Serum thrombopoietin (c-Mpl ligand) levels in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost*, 1996. **76**(4): p. 545-8.
209. Peck-Radosavljevic, M., et al., Blunted thrombopoietin response to interferon alfa-induced thrombocytopenia during treatment for hepatitis C. *Hepatology*, 1998. **28**(5): p. 1424-9.
210. Vyzantiadis T, T.S., Giouleme O, Evgenidis N, Vyzantiadis A, Garipidou V. K. Snowdon, N. Guha and J. A., Serum thrombopoietin levels in thrombocytopenic patients with liver cirrhosis. *Haematologica*, 2002. **87**: p. 890-1.

211. Temel T, C.D., Temel HE, Ozakyol AH., Serum thrombopoietin levels and its relationship with thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *Hepat Mon*, 2014. **14**(5).
212. Stefanich E, S.T., Widmer R, Fratino C, Keller GA, Fielder PJ, Metabolism of thrombopoietin (TPO) in vivo: determination of the binding dynamics for TPO in mice. *Blood*, 1997. **89**: p. 4063-70.
213. Ishikawa T, I.T., Matsuda Y, Sugitani S, Sugiyama M, Kato T, Miyazaki H, Asakura H., Reduced expression of thrombopoietin is involved in thrombocytopenia in human and rat liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*, 1998. **13**(9): p. 907-13.
214. Kondo R, Y.H., Nakashima O, Tanikawa K, Nomura Y, Kage M, Accumulation of platelets in the liver may be an important contributory factor to thrombocytopenia and liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*, 2013. **48**: p. 526-34.
215. Ishikawa T, I.T., Sugahara S, Yamagiwa S, Matsuda Y, Uehara K, Kato T, Miyazaki H, Asakura H., Thrombopoietin receptor (c-Mpl) is constitutively expressed on platelets of patients with liver cirrhosis, and correlates with its disease progression. *Hepatol Res*, 2002. **23**(2): p. 115-121.
216. Giannini EG, A.N., Sigal SH, Muir AJ, Reddy KR, Vijayaraghavan S, Elkashab M, Romero-Gómez M, Dusheiko GM, Iyengar M, Vasey SY, Campbell FM, Theodore D., Non-cirrhotic thrombocytopenic patients with hepatitis C virus: characteristics and outcome of antiviral therapy. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015. **16**.
217. Kaushansky, K., et al., Promotion of megakaryocyte progenitor expansion and differentiation by the c-Mpl ligand thrombopoietin. *Nature*, 1994. **369**(6481): p. 568-71.

10.LISTADO DE ABREVIATURAS

GP: Glicoproteína

vWF: Factor de von Willebrand

ADP: Adenosin Difosfato

TXA2: Tromboxano A2

AT: Antitrombina

FT: Factor Tisular

IFT: Inhibidor del Factor Tisular

PC-TM: Proteína C – Trombomodulina

PCA-PS: Proteína C Activada – Proteína S

ADAMTS: A Disintegrin And Metalloproteinase

PAI: Inhibidor del Activador del Plasminógeno

TAFI: Inhibidor del Factor Tisular

T-PA: Activador del Plasminógeno-Tisular

Meg-HPPC: Unidad de Alto Potencial Proliferativo, Megakaryocyte High Proliferative Potencial Cell.

Meg-BFC: Unidad Formadora de Estallidos de Megacariocitos, Megakaryocyte Burst-forming Cell.

Meg-CFC: Unidad Formadora de Colonias de Megacariocitos, Megakaryocyte Colony-forming Cell.

IL: Interleuquina

SCF: Factor de células madre, Stem Cell Factor

HGF: Factor de crecimiento hepatocitario, Hepatocyte Growth Factor

TNF-alfa: Factor de necrosis tumoral alfa, Tumoral Necrosis Factor – alfa

Evaluación de los factores determinantes del recuento de plaquetas en pacientes con cirrosis

SDF-1 alfa: Factor derivado de las células del estroma 1 alfa, Stromal cell-Derived Factor-1alfa

LIF: Factor Inhibidor de Leucocitos

EPO: eritropoyetina

TGF-B1: Factor de crecimiento transformante B1, Transforming Growth Factor- B1

MAPK: mitogen-activated protein kinases

JAK: Janus Kinase

STAT: signal transducer and activator of transcription

NMDA: N-Methyl—D-aspartic acid

CxCR4: chemokine receptor 4

Gp-130: glicoproteína 130

PF-4: Factor plaquetario 4

IFN: Interferón

SHU: Síndrome Hemolítico Urémico

PTT: Púrpura Trombótica Trombocitopénica

CID: Coagulación Intravascular Diseminada

CMV: citomegalovirus

VEB: Virus Epstein Barr

VIH: Virus Inmunodeficiencia Humana

PTI: Púrpura Trombocitopénica Idiopática

IECA: Inhibidores Enzima Convertidora Angiotensina

GPVH: Gradiente Presión Venosa Hepática

HTP: Hipertensión Portal

SRAA: Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

SNS: Sistema Nervioso Simpnático

ADH: Hormona Antidiurética

NO: Oxido Nítrico

PG: Prostaglandina

AA: Arteriola Aferente

PSHE: Presión Suprahepática Enclavada

PSHL: Presión Suprahepática Libre

RVS: Resistencias Vasculares Sistémicas

GC: Gasto Cardíaco

VCI: Vena Cava Inferior

SBC: Síndrome Budd-Chiari

THO: Trasplante Hepático

MELD: Model for End stage Liver Disease

TPO-P: trombopoyetina en vena periférica

TPO-H: trombopoyetina en vena suprahepática

TIPS: Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt

ELISA: Enzime Linked Immuno Sorbent Assay

EHD: Estudio Hemodinámico

GPHT: Gastropatía Hipertensiva

VEG: Varices esofagogástricas