

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE CHIRURGICHE**

Ciclo XXVIII

Settore Concorsuale di afferenza: 6/B1

Settore Scientifico disciplinare: MED/09

TITOLO TESI

**La Trombosi Portale Non-neoplastica nel Paziente Cirrotico:
studio della prevalenza ed eventuale correlazione con i maggiori
score di funzionalità epatica (CTP e MELD)**

Presentata da: Dott.ssa Marianna Mastroroberto

Coordinatore Dottorato

Relatore

Prof. Mauro Gargiulo

Prof. Pietro Andreone

Esame finale anno 2016

La Trombosi Portale Non-neoplastica nel
Paziente Cirrotico:
studio della prevalenza ed eventuale
correlazione con i maggiori score di funzionalità
epatica (CTP e MELD)

Sommario

Introduzione.....	4
La Cirrosi come substrato ideale per le complicanze trombotiche.....	4
Epidemiologia della Trombosi Portale	5
Fattori di rischio associati a PVT.....	6
Razionale della ricerca	8
Disegno dello studio.....	9
Materiali e metodi.....	11
Analisi Statistica	12
Descrizione della Popolazione	12
Risultati	13
Discussione.....	14
Ipotesi Alternativa.....	16
Conclusioni.....	18
Tabelle ed immagini.....	20
Bibliografia	24

Introduzione

La Trombosi non-neoplastica della Vena Porta (PVT) nel paziente cirrotico risulta ad oggi uno degli aspetti meno noti e chiari della patologia epatica.

A partire dalle modalità di insorgenza, fino alla risposta alla terapia, questa entità clinica si presenta estremamente eterogenea in assenza di chiari punti fermi descritti in letteratura o emergenti dalla pratica clinica¹⁻⁷. Tale complicanza infatti può manifestarsi in forma acuta e massiva, occludendo completamente il vaso, con conseguenze immediate ed importanti sul compenso epatico del paziente, come pure esprimersi con trombi di parete solo parzialmente occludenti che cronicizzano, si sviluppano probabilmente lentamente risultando dunque di difficile datazione e non hanno ripercussioni a breve termine^{1,2}. Ugualmente, un regime terapeutico anticoagulante standardizzato e ottimale non è ancora stato stabilito soprattutto per le differenti risposte anche nell'ambito di uno stesso farmaco con alte percentuali di recidive dopo sospensione e mancate risposte^{1,2,7,8}.

In letteratura inoltre sono presenti dati discordanti sulla sua eziologia non chiaramente attribuibile a precisi disordini della coagulazione^{1,2,7,9-12}. Inoltre, la correlazione tra PVT e la presenza ed il valore di ipertensione portale non sono univocamente descritti e, per quanto la sua presenza si correli ad una peggiore prognosi dopo trapianto^{17,13-15}, nemmeno il suo impatto sulla storia naturale della malattia epatica sembra raccogliere pareri concordi^{2,7,13,15,16}.

La Cirrosi come substrato ideale per le complicanze trombotiche

L'unico concetto cardine su cui convergono tutte le teorie sul meccanismo fisiopatologico alla base della PVT è fondato sulla citatissima triade di Virchow che comprende l'alterazione del flusso, il danno endoteliale ed una generica condizione di ipercoagulabilità¹⁷.

La trasformazione cirrotica del fegato determina una profonda alterazione dei flussi ematici conseguente alla vasodilatazione splancnica e alla stasi venosa secondaria all'ipertensione portale. Nella cirrosi infatti la disfunzione endoteliale è alla base dell'alterazione del tono della parete sinusoidale da cui, in ultima analisi, deriva l'aumento delle resistenze vascolari epatiche. Questo è uno dei meccanismi patogenetici fondamentali dell'ipertensione portale e contribuisce all'ipossia responsabile del peggioramento della funzione epatica in corso di cirrosi^{16,18}. Infine, nonostante i pareri contrastanti^{2,7,19,20}, è ritenuto cruciale lo sbilanciamento

tra fattori procoagulanti ed anticoagulanti^{9,17,21-25}. Lo sviluppo di trombosi, inoltre, può essere ulteriormente favorito da differenti fattori che possono sovrapporsi, il cui meccanismo fisiopatologico è comunque inquadrabile in uno degli elementi della triade di Virchow (processi infiammatori/infettivi, interventi chirurgici, sindromi trombofiliche ereditarie o acquisite, neoplasie, ecc.). Ad esempio sono stati pubblicati alcuni dati in merito alla trombosi portale post splenectomia. In particolare da uno studio di *Yu Zhang et al.*²⁶, è emerso che, in pazienti affetti da cirrosi HBV-relata con ipertensione portale, la ratio della velocità del flusso portale e del diametro della vena porta è il più accurato fattore predittivo di PVT dopo splenectomia con devascularizzazione esofagogastrica. Va però sottolineato che i risultati ottenuti in questo studio, per quanto basati su parametri utilizzati in generale per lo studio dell'ipertensione portale in tutte le tipologie di pazienti^{27,28}, non sono stati validati e non è pertanto possibile utilizzarli per individuare concretamente una popolazione a rischio ed eventualmente impostare un regime profilattico.

Epidemiologia della Trombosi Portale

La PVT viene descritta come reperto comune nei pazienti affetti da cirrosi indipendentemente dall'eziologia, con una prevalenza che pare aumentare con la severità della malattia epatica andando da meno dell'1% nella popolazione cirrotica generale²⁹, fino all'8%-26% nei pazienti candidati a trapianto di fegato³⁰⁻⁴¹.

Alcuni studi, tuttavia, riportano una prevalenza sovrapponibile tra pazienti valutati per trapianto e controlli non valutati⁴²⁻⁴⁴ con elevate percentuali, fino al 50%, di diagnosi di PVT ex-novo direttamente in sede operatoria^{32,40,41}.

*Yerdel*⁴⁰, in particolare, mostra una prevalenza dell'8% presentando uno studio retrospettivo con conferma diagnostica di trombosi in sede operatoria. In questo studio le variabili risultate associate a PVT sono il sesso maschile, il trattamento per l'ipertensione portale, l'eziologia alcolica della cirrosi e la classe C di Child-Pugh. Lo stesso autore tuttavia segnala l'alta percentuale di falsi negativi risultati dalla diagnostica ultrasonografica in caso di trombosi parziale minima.

Da evidenziare comunque che gli studi che mostrano le più elevate prevalenze di PVT, essendo stati condotti in ambito chirurgico, hanno consentito una conferma anatomica della presenza della trombosi, senza quindi prendere in considerazione la maggior parte della popolazione di pazienti cirrotici non candidata a trapianto, popolazione nella quale, essendo presente una miglior funzione

d'organo, la PVT potrebbe non essere stata rilevata dalla diagnostica radiologica e più spesso solo ecografica.

A riprova di questo, l'unico studio che riporta una prevalenza del 26%, si è occupato esclusivamente di pazienti candidati al trapianto, mostrando come non ci siano significative differenze di Child-Pugh score né di UNOS status³⁶ tra pazienti PVT positivi e PVT negativi.

Per quanta riguarda i dati sull'incidenza invece, gli studi riportati sono molto meno numerosi.

Uno studio prospettico che ha raccolto 1234 pazienti cirrotici in classe A e B di Child ha descritto un'incidenza cumulativa dopo 1 e 5 anni rispettivamente del 4,6% e del 10,7%^{1,10}, mentre un secondo studio, limitato a 73 pazienti con un valore medio di MELD score di 15,1, riporta un'incidenza annua del 16%^{1,45}. *Francoz*³² riporta un valore del 7% riferendosi però esclusivamente alla trombosi della vena splenica in 251 pazienti in lista d'attesa per trapianto, calcolando un periodo medio di 12 mesi. *Maruyama*⁴⁶ invece ha seguito 150 pazienti affetti da cirrosi ad eziologia virale senza trombosi al baseline, registrando, dopo lo stesso arco di tempo, un'incidenza cumulativa del 12,8% e globale, per un arco di tempo di 63 mesi, del 28%. In nessuno dei due studi è risultato significativo il legame tra PVT ed un elevato grado di scompenso epatico. Un valore molto inferiore giunge in fine da uno studio giapponese. In questo lavoro *Okuda*⁴⁷ descrive un'incidenza di PVT dello 0,573% complessivamente su una popolazione costituita da 708 pazienti cirrotici sottoposti ad angiografia. L'Autore cita inoltre uno studio statistico basato su 247.728 reperti autoptici dal quale risulta un'incidenza dello 0,055% di PVT e del 6,589% di cirrosi complessivamente, suggerendo che questa non sia una complicanza così comune della patologia epatica in Giappone⁴⁷. In questo lavoro la popolazione non è stata però stratificata.

Appare dunque evidente, alla luce di questi dati, che neppure per quanto riguarda la diffusione di questa complicanza nella popolazione vi sia un dato certo.

Fattori di rischio associati a PVT

I fattori associati alla PVT noti in letteratura sono molti, fondamentalmente inquadrabili in due macro aree distinte in fattori esogeni ed endogeni. Al primo gruppo appartengono eventi come interventi di chirurgia maggiore quali splenectomia e altri stimoli flogistici importanti che in ultimo alterano l'anatomia del paziente. Storicamente, sono considerati fattori di rischio per PVT in pazienti cirrotici il trattamento endoscopico delle varici e gli shunt chirurgici per il trattamento delle complicanze dell'ipertensione portale¹. Il legame con tali eventi è stato più volte dimostrato in

letteratura e non è strettamente legato alla patologia cirrotica in quanto questi provvedimenti terapeutici risultano intrinsecamente trombogenici, facendo rientrare la PVT tra le complicanze previste. E' tuttavia ragionevole pensare che la presenza di cirrosi incrementi questo rischio.

Per quanto riguarda invece i fattori di rischio endogeni, essi possono a loro volta distinguersi in quelli legati alla patologia epatica di base, quelli legati alla condizione cirrotica, ed in fine in quelli legati alle caratteristiche proprie del paziente.

Molti autori hanno rilevato una correlazione con diversi tipi di eziologie. Ad esempio è stata riportata una maggior insorgenza di PVT in pazienti con cirrosi criptogenetica e malattia di Laennec³⁸; sono stati indicati alcuni virus epatotropi (EBV e CMV) come fattori di rischio minore⁴⁸; dati non confermati suggeriscono che l'HCV possa essere un fattore di rischio per il disequilibrio dei fattori della coagulazione associato all'infezione stessa⁴⁸; sono stati citati inoltre NASH, cirrosi alcolica e patologie colestatiche, ma i dati non sono concordi e nella maggior parte dei lavori l'eziologia non risulta significativa.

Per quanto concerne le alterazioni proprie legate alla degenerazione cirrotica del fegato, sappiamo che questa condizione prevede un aumento delle resistenze vascolari intraepatiche ed un ridotto flusso portale^{1,49}. Quest'ultimo dunque è stato spesso indicato come fattore indipendente associato a PVT in diverse condizioni^{2,44,45}. Tuttavia, da tali studi non è chiaro se questa riduzione sia causa o conseguenza della presenza di trombosi. Infatti è stato dimostrato che la terapia profilattica delle emorragie digestive da rottura di varici esofagee a base di propanololo, pur rallentando il flusso portale⁵⁰, non aumenta il rischio d' insorgenza di PVT^{6,51-53}.

In merito alle caratteristiche proprie del paziente, infine, l'assetto emocoagulativo e lo sbilanciamento dei fattori anti e pro - coagulanti hanno rappresentato in assoluto l'ambito più indagato. In particolare il Fattore VIII, importante fattore pro-coagulante coinvolto nella sintesi della trombina, è stato dimostrato che aumenta progressivamente col peggiorare della condizione cirrotica⁵⁴. Comportamento contrario invece ha dimostrato la proteina C, importante anticoagulante endogeno, che si riduce progressivamente col progredire della patologia epatica⁵⁵. La combinazione di questi due effetti è stata indicata più volte come importante fattore di rischio di TVP nei quadri di cirrosi avanzata^{9,54}. Pertanto grande attenzione hanno ricevuto alcune mutazioni coinvolte proprio in questo meccanismo come per esempio la mutazione G1691A per il fattore V Leiden, la mutazione C677T per la metilene tetraidrofolato reduttasi (MTHFR) o la mutazione G20210A per la trombina, riscontrate con grande frequenza nella popolazione cirrotica⁵⁶⁻⁵⁸. Tuttavia, anche in questo caso, i dati sono stati smentiti da studi successivi che hanno approfondito l'associazione di PVT anche con altri fattori quali anticorpi IgG e IgM anticardiolipina, livelli di anticorpi IgG e IgM antifosfolipidi, e

livelli di anticorpi IgG e IgM anti-2glicoproteina senza per altro trovare alcun legame significativo^{10,11}. Molti autori parlano di aumentata resistenza alla trombomodulina^{6,59}. Dunque l'orientamento corrente è quello di definire la patologia cirrotica come una condizione protrombotica acquisita: concetto nuovo che meglio si adatta e spiega la tendenza alla formazione di eventi trombotici in presenza di altri, non specificati, fattori di rischio¹¹.

Razionale della ricerca

Alla luce di questi dati e sulla base della nostra pratica clinica, ci è sembrato opportuno e di grande interesse cercare di capire che cosa, in effetti, esista alla base del meccanismo trombogenico nel paziente cirrotico, tale da generare una simile eterogeneità di quadri sotto tutti i diversi punti di vista.

La nostra ipotesi di partenza è stata che l'insorgenza di TVP sottintenda un unico reale fattore di rischio che, in una condizione predisponente quale la cirrosi epatica, si manifesti verosimilmente con fenotipi eterogenei.

Le evidenze di base infatti inducono a ritenere che tale complicanza insorga nell'ambito di un parenchima degenerato indipendentemente dalla patologia epatica sottostante, indicando la natura quasi certamente endogena del suddetto fattore.

L'elevata frequenza di falsi negativi in fase diagnostica e i dati non univoci circa la correlazione con gli score di gravità della malattia epatica, ci inducono a pensare che probabilmente non si tratti di qualcosa unicamente o strettamente legato alle alterazioni indotte dalla cirrosi. Ad avvalorare questa ipotesi ricordiamo che non sono state descritte differenze tra i valori medi di MELD e CHILD tra i pazienti che sviluppano trombosi e quelli che non la sviluppano, mentre nella popolazione che la sviluppa, l'incidenza relativa di PVT aumenta al crescere degli score, indicando che le alterazioni epatiche proprie dello scompenso, pur partecipando al processo trombogenico non sono sufficienti ad indurre tale complicanza.

Certamente le alterazioni della fisiologica cascata coagulativa giocano un ruolo fondamentale, ma la relazione diretta con PVT non è stata dimostrata in maniera univoca nemmeno in combinazione con le alterazioni di flusso legate all'ipertensione portale, inducendo così la

comunità scientifica a ricercare precise mutazioni all'interno di questo delicato processo soprattutto in senso pro-coagulante.

Infatti, poiché il disequilibrio coagulativo e le alterazioni al flusso sono proprie della patologia cirrotica, il discrimine tra pazienti PVT+ e PVT- deve necessariamente essere qualcosa legato al paziente stesso e dunque ad alta variabilità inter individuale. In questo senso dunque sono stati approfonditi studi su alterazioni dei medesimi fattori della coagulazione ma in senso genetico, con la ricerca di precisi genotipi potenzialmente patologici causati da mutazioni a livello di proteine chiave con funzione procoagulante e autoanticorpi.

Purtroppo finora neppure questa ipotesi ha riportato dati certi lasciando aperte ancora molte strade da esplorare e domande senza risposta.

Su questo si basa la ricerca perseguita in questo triennio. Questo studio sperimentale è stato infatti disegnato in maniera prospettica con popolazione reclutata in real life dalle strutture assistenziali coinvolte, ritenendo indispensabile una selezione coerente ma non eccessiva della popolazione di partenza da stratificare successivamente in fase di analisi. L'esclusione a priori di alcune categorie di pazienti potrebbe infatti precludere lo studio di alcuni fattori fondamentali e soprattutto potrebbe sminuire il valore clinico dei risultati ottenuti.

I quesiti aperti in merito alla TVP, ad oggi, non riguardano un ristretto target di pazienti e la necessità di un fattore chiaramente individuabile per selezionare la popolazione a rischio è indispensabile.

Disegno dello studio

I risultati presentati in questa sede sono stati estratti dal Database del Protocollo Osservazionale "TromboCir", che è uno studio prospettico di coorte avente come scopo primario l'identificazione di possibili fattori predisponenti alla trombosi portale non neoplastica nei pazienti con cirrosi epatica. Scopi secondari sono la valutazione della prevalenza di PVT in tutti i pazienti cirrotici afferenti consecutivamente alle strutture affiliate, la sua incidenza, la valutazione della comparsa di complicanze, la mortalità e fattori predittivi di mortalità nei casi prevalenti ed in fine la valutazione della frequenza dei ricoveri ospedalieri per scompenso dell'epatopatia.

Si tratta di uno studio monocentrico, osservazionale, prospettico, di coorte articolato in due fasi.

- ***fase 1: reclutamento dei pazienti cirrotici***

Sono stati valutati tutti i pazienti affetti da cirrosi epatica giunti consecutivamente all'osservazione nei reparti di degenza e negli ambulatori delle Unità Operative coinvolte, in un periodo di tempo di 12 mesi.

Il calcolo della numerosità del campione è risultato pari a 256 casi da valutare per ottenere un campione di 192 pazienti arruolabili tenuto conto di una percentuale di drop-out pari al 20% durante il follow-up.

Lo studio prevedeva la raccolta dei seguenti dati/campioni al momento dell'arruolamento:

- raccolta dei dati anamnestici e dei parametri clinici;
- prelievo per esame ematochimico di routine e specifico per fattori coagulativi significativi ai fini dello studio (conservazione di un campione di plasma e di un campione di siero);
- ecografia addome superiore con ecocolordoppler del distretto portale per verificare la presenza di PVT, l'emodinamica e l'evoluzione della cirrosi;
- HVPG per rilevare la presenza e l'evoluzione di ipertensione portale al momento dell'arruolamento;
- EGDS per l'inquadramento clinico dell'ipertensione portale;
- TC o RM per la stadiazione della condizione trombotica e lo studio del quadro vascolare (solo nei pazienti con PVT).

- ***fase 2: follow-up programmato (2 anni) degli eventi trombotici, dell'insorgenza di altre complicanze correlate alla cirrosi e della mortalità nella coorte di pazienti arruolati.***

Il monitoraggio dei pazienti inseriti nello studio è avvenuto attraverso:

- Controlli ambulatoriali clinici e laboratoristici ogni 6 mesi;
- Ecografia addome superiore con eco-color doppler del distretto portale eseguita ogni 6 mesi come da abituale gestione clinica del paziente cirrotico per verificare sia la presenza di PVT e monitorarne l'eventuale progressione, sia l'emodinamica e l'evoluzione della cirrosi;
- TC o RM alla fine dello studio (a 24 mesi) per la stadiazione della condizione trombotica e lo studio del quadro vascolare. La TC o RM sono state previste anche in occasione di un eventuale riscontro di trombosi di nuova insorgenza in corso di follow-up;

- HVPG, alla fine dello studio (a 24 mesi) per rilevare la presenza e l'evoluzione di ipertensione portale e prevista anche in occasione di un eventuale riscontro di trombosi di nuova insorgenza in corso di follow-up;
- EGDS alla fine dello studio (a 24 mesi) per l'inquadramento clinico dell'ipertensione portale. Nei pazienti con PVT all'arruolamento e nei casi di PVT di nuova incidenza durante il follow-up tale metodica è stata prevista anche alle valutazioni semestrali come da abituale gestione clinica.

Durante tutto il follow-up è stato previsto il report di tutti gli eventi clinici di rilievo e dei trattamenti ricevuti nel corso dello studio, così come delle cause di morte riportate in dettaglio per ogni paziente.

La comparsa di tumore intra o extraepatico, l'inizio di trattamento anticoagulante durante il follow-up ed il trapianto epatico, sono stati considerati come cause di drop-out.

Materiali e metodi

La selezione per l'arruolamento della popolazione in studio è stata effettuata a partire da Gennaio 2013 e si è conclusa ad Ottobre 2015 al fine di raggiungere un numero di casi adeguato al calcolo del campione eseguito in fase di progettazione dello studio e dichiarato in protocollo. Sono stati considerati criteri di inclusione la presenza di cirrosi epatica accertata, la maggior età ed il consenso informato scritto firmato. Sono invece stati esclusi pazienti con anamnesi positiva per neoplasie intra- ed extra-epatiche e/o malattia ematologica, terapia anticoagulante orale o terapia antiaggregante assunta per altre motivazioni, gravidanza in corso, età inferiore ai 18 anni o superiore ai 75.

Per limiti temporali dunque non è stato ancora possibile effettuare analisi complete in merito al follow up, mentre sono stati indagati come possibili fattori predisponenti i due maggiori indici di gravità della malattia epatica di base, il MELD ed il Child-Pugh score, più volte citati in letteratura in tal senso, ed è stato eseguito lo studio della prevalenza della trombosi.

Analisi Statistica

Per quanto riguarda la descrizione della popolazione in studio e dei relativi sottogruppi, sono state usate le principali statistiche descrittive, cioè la media e la deviazione standard (DS) con i valori minimi e massimi, per le variabili continue (età, parametri laboratoristici, MELD, Child-Pugh score) e le frequenze (assolute e relative) per quanto riguarda le variabili dicotomiche ed ordinali (sesso, eziologia, criteri di esclusione, Child-Pugh class, presenza di trombosi portale). I valori di INR e MELD sono stati inoltre dicotomizzati considerando come patologici i valori di INR superiori a 1,25 (limite superiore di riferimento) e valori di MELD uguali o superiori a 10.

Come statistiche inferenziali sono state usate l'analisi del Chi-quadro secondo Pearson per le variabili nominali, il test di Fisher per le variabili dicotomiche ed il test non parametrico di Kruskal-Wallis per le variabili continue. Sono stati considerati significativi valori di P a due code inferiori a 0,050.

Le regressioni logistiche univariate e multivariate sono state applicate per valutare i fattori associati alla presenza di trombosi portale. Sono stati calcolati gli "odds ratio" (OR) insieme ai limiti di confidenza al 95% (95% CI).

Descrizione della Popolazione

In 33 mesi sono stati studiati 418 pazienti cirrotici, di cui 260 maschi (62,2%), afferenti agli ambulatori epatologici, ai Day Hospital ed ai reparti di degenza delle Unità Operative coinvolte. L'età media (\pm DS) al momento della valutazione è stata di $61,1 \pm 12,2$ anni (range: 17,8 – 89,6 anni) e l'eziologia della malattia epatica è risultata così suddivisa: virale in 203 casi (48,6%); multifattoriale in 108 (25,8%); alcolica in 40 (9,6%); criptogenetica in 18 (4,3%); colestatica in 17 casi (4,1%); dismetabolica in 15 (3,6%); autoimmune in 4 (1,0%) ed imputabile ad altre cause in 13 (3,1%). La trombosi portale al momento dello screening è risultata presente in 64 casi (15,3%).

Da questa popolazione iniziale sono stati esclusi 104 pazienti (24,9%) per la presenza di epatocarcinoma (HCC); 31 (7,4%) per limite di età; 18 (4,3%) per la presenza di neoplasia extraepatica e 12 (2,9%) per la presenza di concomitante malattia ematologica per un totale di 165 pazienti esclusi. I pazienti considerati eleggibili sono risultati 253 (60,5% della popolazione sottoposta a screening).

I 253 pazienti eleggibili sono pertanto pazienti cirrotici in diversi stadi di malattia, liberi da neoplasie intra- od extra-epatiche, di età compresa tra i 18 ed i 75 anni di età, in assenza di malattia ematologica concomitante. In particolare si tratta di 157 maschi (62,1%) e 96 femmine (37,9%), di età media $56,8 \pm 10,3$ anni (range: 23 – 75 anni compiuti), che sono risultati affetti da cirrosi epatica secondaria ad infezione da virus epatotropi in 107 casi (42,3%), ad eziologia multifattoriale in 79 casi (31,2%), alcool-relata in 26 casi (10,3%), di natura criptogenetica in 10 casi (4,0%), derivante da dismetabolismo in 7 casi (2,8%), secondaria a condizioni autoimmuni in 3 casi (1,2%) ed imputabile ad altre cause in 8 casi (3,2%). Il dato di trombosi portale è stato rilevato in 33 casi (13,0%). Per il confronto fra i casi esclusi e quelli eleggibili si veda la **Tabella 1**. Dal confronto dei pazienti sottoposti a screening è emerso che quelli considerati eleggibili sono stati significativamente più giovani rispetto al gruppo di pazienti esclusi ($P < 0,001$) per i limiti anagrafici imposti dai criteri di esclusione che consideravano non idonei allo studio pazienti con età > 75 anni. E' risultata significativamente differente anche la distribuzione delle differenti eziologie alla base della malattia epatica. Il gruppo di pazienti esclusi ha infatti una maggior prevalenza di infezioni virali (HBV e HCV) e di malattia dismetabolica che favoriscono l'insorgenza di neoplasia epatica indicata come ulteriore criterio di esclusione. Il sesso e la presenza di trombosi portale sono distribuiti in maniera non significativamente diversa tra i due sottogruppi.

Risultati

La popolazione rispondente ai criteri di inclusione è stata successivamente valutata per l'inquadramento clinico della patologia cirrotica analizzando gli indici di funzionalità epatica e renale ed è stata classificata secondo i più utilizzati score di funzionalità predittori di sopravvivenza a breve termine. In particolare il valore medio di ematocrito è risultato essere $35,4 \pm 5,4\%$ (range: 22,7 – 46,2); piastrine $115,9 \pm 66,4 \times 10^3/\mu\text{L}$ (range: 25 – 480); INR $1,237 \pm 0,234$ (range: 0,75 – 2,33) in particolare 58 pazienti(22,9%) presentavano un valore di INR $> 1,25$; bilirubina totale $1,579 \pm 1,489$ mg/dL (range: 0,25 – 10,31); AST 57 ± 48 U/L (range: 13 – 295); ALT 55 ± 51 U/L (range: 8 – 271); albumina $3,8 \pm 0,6$ g/dL (range: 2,4 – 7); creatinina $1,04 \pm 1,38$ mg/dL (range: 0,40 – 14,11).

Il valore medio di MELD è risultato $11,2 \pm 4,7$ (range: 6 – 35) ed in particolare in 116 (45,8%) casi è risultato >10 , con un Child-Pugh score di $6,2 \pm 1,716$ (range: 5 – 12) di cui 140 (69,7%) pazienti in classe A, 46 (22,9%) in classe B e 15 (7,5%) in classe C.

Trentatré pazienti della popolazione eleggibile hanno presentato trombosi portale; pertanto la prevalenza è risultata del 13,0%.

Per il confronto tra le caratteristiche dei pazienti positivi per PVT, rispetto ai controlli cirrotici negativi per trombosi, si rimanda alla **Tabella 2**. All'analisi univariata i controlli cirrotici trombosi-negativi sono risultati significativamente più anziani ($P = 0,004$) con un miglior assetto coagulativo in termini di conta piastrinica ed INR (rispettivamente $P < 0,001$ e $P = 0,024$) ed un MELD inferiore ($P = 0,001$). Sesso, eziologia, valori di ematocrito, bilirubina totale, AST, ALT, albumina e creatinina sono risultati sovrapponibili tra i due gruppi, così come i valori medi di Child-Pugh score e le relative classi. All'analisi multivariata solo la conta piastrinica è risultata come fattore indipendentemente associato alla presenza di trombosi portale (OR=0.97, 95%CI: 0.96-0.99; $P < 0.001$).

Discussione

Dalle analisi effettuate risulta che la Trombosi portale non neoplastica nella popolazione osservata ha una prevalenza del 13,0%, in linea con i dati descritti in letteratura. Si sottolinea inoltre che tra la popolazione esclusa, nonostante l'alta percentuale di neoplasia epatica, la prevalenza è sovrapponibile mentre in letteratura la presenza di tumore epatico in assenza di invasione microvascolare è stata descritta come fattore di rischio per trombosi portale non-neoplastica³³.

Per quanto riguarda il legame tra presenza di trombosi portale e classi di rischio funzionale di epatopatia, si conferma quanto detto in letteratura. Infatti non vi è correlazione tra MELD e Child-Pugh score o classi e l'insorgenza di PVT, mentre dall'analisi della variabile MELD dicotomizzata e dalla descrizione delle classi di Child-Pugh, emerge come nei pazienti che sviluppano trombosi, questa aumenti al peggiorare della funzione epatica. A conforto di questo risultato, neppure le singole variabili che rientrano nel calcolo degli score hanno dimostrato qualche significatività così come gli indici di funzionalità renale, indicando che probabilmente non è il grado di compromissione dell'organo che induce TVP né che la presenza della stessa trombosi induca un peggioramento della funzione epatica o una

progressione dello scompenso. Fa eccezione l'INR che, rientrando nel computo del MELD score, risulta un fattore di confondimento e porta una significatività alla variabile dicotomizzata che tuttavia si perde all'analisi multivariata da cui entrambi i fattori escono.

Anche i valori medi di questa ultima variabile infatti risultano sovrapponibili tra i pazienti positivi per trombosi e i controlli negativi, pur a fronte di una maggior frequenza di valori patologici nei primi. Questo risultato si può spiegare perché l'INR viene calcolato sulla base degli antagonisti della vitamina K, che nel paziente cirrotico sono ridotti, sovrastimando dunque il grado di compromissione della cascata coagulativa⁵⁴.

Di fatto però i livelli di entrambi i tipi di proteine, pro- and anti-coagulanti, sono ridotti nella cirrosi per una alterata funzione sintetica globale, con conseguente mantenimento del bilancio emostatico e senza tendenza alla trombosi o al sanguinamento⁶⁰. A riprova di questo, numerosi studi di popolazione hanno dimostrato che l'incidenza di tromboembolismo venoso, espresso come trombosi venosa profonda o tromboembolia polmonare, è la stessa tra pazienti cirrotici e soggetti senza patologia epatica⁶¹⁻⁶⁴.

Questo delicato equilibrio verte in ultima analisi sulla sintesi della trombina, che sposta la cascata in favore dei fattori pro-coagulanti^{54,55}: l'unico fattore che è stato dimostrato alterare la generazione della trombina nel paziente cirrotico è la presenza di severa trombocitopenia^{60,65}.

Nel nostro studio una più bassa conta piastrinica è anche l'unico fattore indipendentemente correlato alla presenza di trombosi portale non-neoplastica.

Questo dato è confermato da molti autori in letteratura ed in particolare *Francoz*³² sostiene che sono fattori indipendenti di rischio per trombosi della vena splenica la conta piastrinica ed un precedente sanguinamento da varici esofagee.

In oltre *Molmenti*, in uno studio sulla trombectomia chirurgica in pazienti sottoposti a trapianto epatico, riporta come significativamente più basso il valore di piastrine nel post-trapianto monitorato fino a 7 giorni dopo l'intervento³⁸ nei pazienti PVT+ al trapianto rispetto ai controlli PVT-. In aggiunta, *Manzanet* descrive 391 pazienti sottoposti a trapianto epatico con conferma chirurgica di PVT e sottolinea come la frequenza di recidiva dopo trapianto sia dell'1% nei pazienti con trombosi parziale e del 14.4% in pazienti con trombosi completa³⁷. Il dato di una maggior insorgenza di TVP post-trapianto in pazienti portatori di trombosi portale al momento dell'intervento rispetto ai controlli trombosi negativi è riportato anche da altri autori³⁹.

Mettendo insieme queste informazioni, è possibile ipotizzare un ruolo centrale della conta piastrinica come fattore di rischio cruciale per l'insorgenza di PVT.

Tuttavia, pur sapendo che il sequestro splenico secondario all'ipertensione portale e la scarsa sintesi secondaria all'insufficienza d'organo sono fattori che con l'avanzare della patologia riducono il numero di piastrine circolanti, i dati sul post-trapianto ci inducono a pensare che tale parametro non sia primariamente legato alla cirrosi.

Infine, anche l'età media significativamente più bassa nei pazienti con TVP rilevata nel nostro studio e precedentemente descritta in letteratura, oltre alla nota correlazione tra trombosi portale ed emorragie digestive, unitamente all'eterogeneità dei quadri clinici sopracitata, ci suggeriscono un'ipotesi alternativa ancora non citata in letteratura.

Ipotesi Alternativa

Le Trombocitopenie Ereditarie (ITs) sono un gruppo eterogeneo di disordini con differenti gradi di complessità e severità, causate dalla mutazione di diversi geni e caratterizzate da un ridotto numero di piastrine associato o meno ad una tendenza al sanguinamento che varia da assente a estremamente severa con rischio per la vita stessa del paziente^{66,67}.

Per alcune di esse il difetto è stato identificato in uno dei molti geni che partecipano al complesso processo di megacariocitopoiesi e produzione di piastrine, in altri casi il progenitore è integro ma le alterazioni agiscono su di un deterioramento precoce o in altri casi ancora sulla struttura stessa delle piastrine alterandone la funzione⁶⁸⁻⁷². Ad oggi infatti, sono state identificate 30 forme differenti⁷⁰ con almeno 25 geni responsabili per questo gruppo di patologie^{71,73}; tuttavia quasi il 40% dei pazienti con una forma ereditaria di trombocitopenia rimangono senza una diagnosi definitiva, perché la loro condizione non è mai stata descritta o non è stata riconosciuta come appartenente ad un disturbo noto^{66,74}.

Dal punto di vista molecolare, le ITs possono essere secondarie a mutazioni presenti in ogni fase della biogenesi piastrinica: dalla differenziazione e maturazione del megacariocita, alla produzione stessa di piastrine, fino al loro rilascio nel torrente circolatorio (**Figura 1**)⁷⁵.

Quando il difetto interessa le prime fasi della megacariocitopoiesi, la proliferazione delle cellule interessate è alterata con conseguente assenza o riduzione di megacariociti nel midollo osseo⁷⁵. In caso di alterata maturazione invece, i megacariociti sono normali o addirittura più numerosi ma immaturi, piccoli e con un nucleo ipolobulato e/o con un numero ridotto di alfa-granuli, i principali organelli contenuti nelle piastrine e deputati all'accumulo di mRNA e proteine implicati nei processi di adesione, emostasi e cicatrizzazione⁷⁶.

La trombocitopenia associata a normale produzione di megariociti è stata considerata un marcatore di produzione di precursori piastrinici difettosi, anche se in questo caso la trombocitopenia potrebbe essere accentuata dalla rimozione delle piastrine alterate⁷⁵.

La maggior parte delle ITs, tuttavia, non è associato ad alterazioni della megacariocitopoiesi, quanto piuttosto a mutazioni che interessano difetti della formazione delle piastrine stesse o il loro rilascio, comprendendo una riorganizzazione dinamica del citoscheletro, alterazioni delle vie di segnalazione extracellulare ed alterazione dei meccanismi di apoptosi⁷⁵. Anche in questo caso, un'alterata clearance piastrinica dal torrente circolatorio potrebbe contribuire alla trombocitopenia.

Lo spettro delle manifestazioni cliniche è amplissimo ed assolutamente eterogeneo, variando da sindromi complesse associate a malformazioni e gravi complicanze emorragiche o ematologiche, a pazienti completamente asintomatici in cui il riscontro di valori borderline di piastrinopenia sono del tutto casuali. Questo comporta purtroppo quasi sempre una erronea o addirittura mancata diagnosi, esponendo i pazienti a cure non necessarie o deleterie come terapie cortisoniche e splenectomia o a gravi rischi per la vita, soprattutto in caso di trasmissione alla progenie^{67,77}.

In tal senso, dal punto di vista clinico/fenotipico, la classificazione di base divide le ITs primariamente in sindromiche e non sindromiche e successivamente, per quanto concerne le forme non sindromiche, in base alla morfologia piastrinica, in altre tre sottocategorie: a ridotto, normale o aumentato volume⁷⁸. Su tali basi, per facilitare il processo diagnostico, è stato validato un algoritmo decisionale volto all'individuazione di precise patologie già note o una patologia di nuovo riscontro portando alla diagnosi di ITs con una sensibilità del 100% (**Figura 2**). Esso si basa su una prima fase di investigazione clinica e test semplici di laboratorio eseguibili in qualsiasi centro al fine di formulare l'ipotesi⁷⁹. Una volta rilevato il dato di piastrinopenia, i pazienti sono categorizzati in base alla presenza o assenza di altri segni clinici oltre a quelli secondari ai difetti piastrinici facendo una prima selezione tra forme sindromiche e non sindromiche. Nelle prime, l'anamnesi e l'esame obiettivo devono indurre il sospetto diagnostico⁷⁹. Per le forme non sindromiche invece, la fase successiva richiede l'approfondimento della morfologia e della funzionalità piastriniche attraverso l'esame morfologico ed immuno-morfologico su striscio di sangue periferico, lo studio dell'aggregazione piastrinica in vitro, la citometria a flusso, e la sintesi della catena della globina. Una volta raccolti tali dati e raggiunto anche in questo caso il sospetto diagnostico,

l'ultima fase dell'algoritmo, finalizzata alla diagnosi definitiva, viene effettuata con indagini specialistiche in base ai risultati precedentemente ottenuti⁷⁹.

In tal senso lo sviluppo di tecniche di "next generation sequencing" stanno fornendo un grande apporto nell'individuazione di nuove forme di ITs nei casi di malattia non ancora descritta e genotipi non ancora catalogati, contribuendo a migliorare la gestione di questi pazienti⁷³.

Conclusioni

La TVP è una complicanza relativamente frequente nei pazienti cirrotici, indipendentemente dall'eziologia della malattia epatica e dal grado di insufficienza d'organo. La prevalenza risulta maggiore nei pazienti candidati a trapianto epatico per la possibilità del riscontro diretto in sede operatoria: sembra infatti che esistano alte percentuali di falsi negativi all'imaging in particolare per quanto riguarda le trombosi parziali con scarsa invasione endoluminale.

Tra i dati ricorrenti osserviamo l'assenza di legame causale con i fattori della coagulazione finora indagati e, invece, il legame con un pregresso sanguinamento da varici esofagee e quello con una più bassa conta piastrinica rispetto ai controlli anche dopo trapianto, seguito per altro da una maggior frequenza di recidive in pazienti con pregressa trombosi rispetto a trombosi de novo in pazienti negativi al momento dell'intervento^{31,37}.

Anche dai nostri dati l'unico fattore indipendente legato alla presenza di TVP risulta il valore minore di piastrine rispetto ai controlli negativi superando gli score di rischio, la funzione patica, il più utilizzato indice di coagulazione ed i diversi tipi di eziologia. Anche l'insorgenza in pazienti notevolmente più giovani suggerisce la presenza di un substrato genetico.

In particolare si ipotizza la presenza di trombocitopenie ereditarie sottostanti non diagnosticate. Tale gruppo di patologie, nel contesto di un substrato estremamente favorevole come la degenerazione cirrotica, spiegherebbe l'eterogeneità dei quadri e delle risposte alla terapia anticoagulante. E' stato elaborato un algoritmo per l'individuazione di tali patologie, anche in assenza di elaborati test genetici⁷⁴, finalizzato alla formulazione di ipotesi diagnostiche di ITs basato inizialmente sulla morfologia e funzionalità piastrinica. Pertanto, per quanto la patologia cirrotica preveda una piastrinopenia secondaria al sequestro splenico e agli effetti dell'ipertensione portale, sarebbe comunque possibile tentare una sua applicazione in tale contesto.

Se questa ipotesi venisse verificata, consentirebbe l'utilizzo di una terapia profilattica⁸⁰ mirata riducendo il rischio di TVP nel paziente cirrotico e delle complicanze ad essa legate. Inoltre, se utilizzato in pazienti con stati non avanzati di epatopatia, potrebbe modificare in maniera sostanziale l'approccio al trattamento e probabilmente all'intera gestione del paziente pre-cirrotico. A questo scopo è in fase di preparazione uno studio pilota volto all'individuazione di ITs nella popolazione epatopatica.

Tabelle ed immagini

Tabella 1 – Confronto tra pazienti esclusi e popolazione eleggibile al momento dello screening

	Pazienti esclusi (n=165, 39,5%)	Pazienti eleggibili (n=253, 60,5%)	P
Sesso:			1,000 ^b
- Maschi	103 (62,4%)	157 (62,1%)	
- Femmine	62 (37,6%)	96 (37,9%)	
Età (anni compiuti)	67,6 ± 17,6 (17 – 89)	58,8 ± 10,3 (23 – 75)	<0,001 ^c
Eziologia:			0,023 ^d
- Virale	96 (58,2%)	107 (42,3%)	
- Multifattoriale	29 (17,6%)	79 (31,2%)	
- Alcolica	14 (8,5%)	26 (10,3%)	
- Dismetabolica	8 (4,8%)	7 (2,8%)	
- Criptogenetica	8 (4,8%)	10 (4%)	
- Colestatica	4 (2,4%)	13 (5,1)	
- Autoimmune	1 (0,6%)	3 (1,2%)	
- Altro ^a	5 (3,0%)	8 (3,2%)	
Trombosi portale	31 (18,8%)	33 (13,0%)	0,127 ^b

^aAltre eziologie: Sindrome di Budd-Chiari (1 – 0); Emocromatosi (0 – 1); Cirrosi esotossica non alcool-relata (1 – 0); FNH (0-2); JEK2 positività (1 – 0); Malattia vascolare di natura da diagnosticare (2 – 3); NASH (0 – 1); Policistosi (0 – 1); Schistosomiasi (0 – 1).

^b Test esatto di Fisher

^c Test di Kruskal-Wallis

^d Test del chi-quadro secondo Perason

Tabella 2 – Confronto tra popolazione TVP positivi e controlli cirrotici TVP negativi.

	TVP + (n=33, 13,0%)	Controlli TVP - (n=220, 87,0%)	Analisi univariata OR (95% CI)	Analisi multivariata OR (95% CI)
Sesso:				
- Maschi	21 (63,6%)	136 (61,8%)	Riferimento	NS
- Femmine	12 (36,4%)	84 (38,2%)	0,93 (0,43-1,98) P=0,841	
Età (anni compiuti)	51,9 ± 13,2 (23 - 75)	57,5 ± 9,6 (23 - 75)	0,95 (0,92-0,98) P=0,004	NS
Eziologia:			P=0,467	
- Virale	12 (36,4 %)	95 (43,2%)	Riferimento	
- Multifattoriale	10 (30,3 %)	69 (31,4 %)	2,38 (0,57-9,86) P=0,234	
- Alcolica	2 (6,1 %)	24 (10,9 %)	1,32 (0,15-11,9) P=0,805	
- Dismetabolica	1 (3,0 %)	6 (2,7 %)	3,96 (0,33-47,0) P=0,276	NS
- Criptogenetica	1 (3,0 %)	9 (4,1 %)	0,66 (0,14-3,15) P=0,602	
- Colestatica	3 (9,1 %)	10 (4,5 %)	1,15 (0,47-2,81) P=0,763	
- Autoimmune	1 (3,0 %)	0 (0,0 %)	0,88 (0,10-7,56) P=0,907	
- Altro ^a	3 (9,1%)	5 (2,3 %)	4,75 (1,01-22,4) P=0,049	
Ematocrito (%)	33,6 ± 2,5 (29,7 - 36,9)	35,7 ± 5,8 (22,7 - 46,2)	0,93 (0,80-1,08) P=0,340	NS
Piastrine (x 10 ³ /microL)	73,1 ± 48,1 (25 - 174)	122,1 ± 66,6 (35 - 482)	0,98 (0,97-0,99) P=0,001	0,97 (0,96-0,99) P <0,001
INR	1,33 ± 0,22 (0,96 - 1,78)	1,22 ± 0,23 (0,75 - 2,33)	4,64 (0,94-23,0) P=0,060	
INR > 1,25	12/22 (54,5%)	46/155 (29,7%)	2,84 (1,15-7,04) P=0,024	NS
Bilirubina totale (mg/dL)	1,59 ± 0,81 (0,50 - 3,72)	1,58 ± 1,56 (0,25 - 10,31)	1,01 (0,74-1,37) P=0,965	NS
AST (U/L)	44,6 ± 27,9 (22 - 131)	58,3 ± 53,3 (13 - 295)	0,99 (0,98-1,01) P=0,252	NS
ALT (U/L)	33,2 ± 17,9 (11 - 66)	57,7 ± 53,4 (8 - 271)	0,98 (0,97-1,00) P=0,074	NS
Albumina (g/dL)	3,66 ± 0,44 (2,60 - 4,30)	3,77 ± 0,61 (2,40 - 7,00)	0,70 (0,31-1,61) P=0,407	NS
Creatinina (mg/dL)	0,87 ± 0,28 (0,60 - 1,59)	1,07 ± 1,47 (0,40 - 14,11)	0,81 (0,37-1,78) P=0,604	NS
MELD	11,8 ± 2,6 (6 - 20)	11,1 ± 5,0 (6 - 35)	1,03 (0,95-1,11) P=0,473	
MELD => 10	25/29 (86,2%)	91/179 (50,8%)	6,04 (2,02-18,1) P=0,001	NS
Child-Pugh Score	6,62 ± 1,77 (5 - 11)	6,13 ± 1,71 (5 - 12)	1,16 (0,93-1,43) P=0,184	
- A	15 (57,7%)	127 (71,4%)	Riferimento	
- B	8 (30,8%)	38 (21,7%)	1,75 (0,69-4,45) P=0,237	NS
- C	3 (11,5%)	12 (6,9%)	2,08 (0,53-8,23) P=0,295	

^aAltre eziologie: Emocromatosi (0 - 1); FNH (1-1); Malattia vascolare di natura da diagnosticare (2 - 1); NASH (0 - 1); Policistosi (0 - 1); Schistosomiasi (1 - 0).

Figura 1- Rappresentazione schematica della megacariocitopoiesi e della produzione piastrinica⁷⁵.

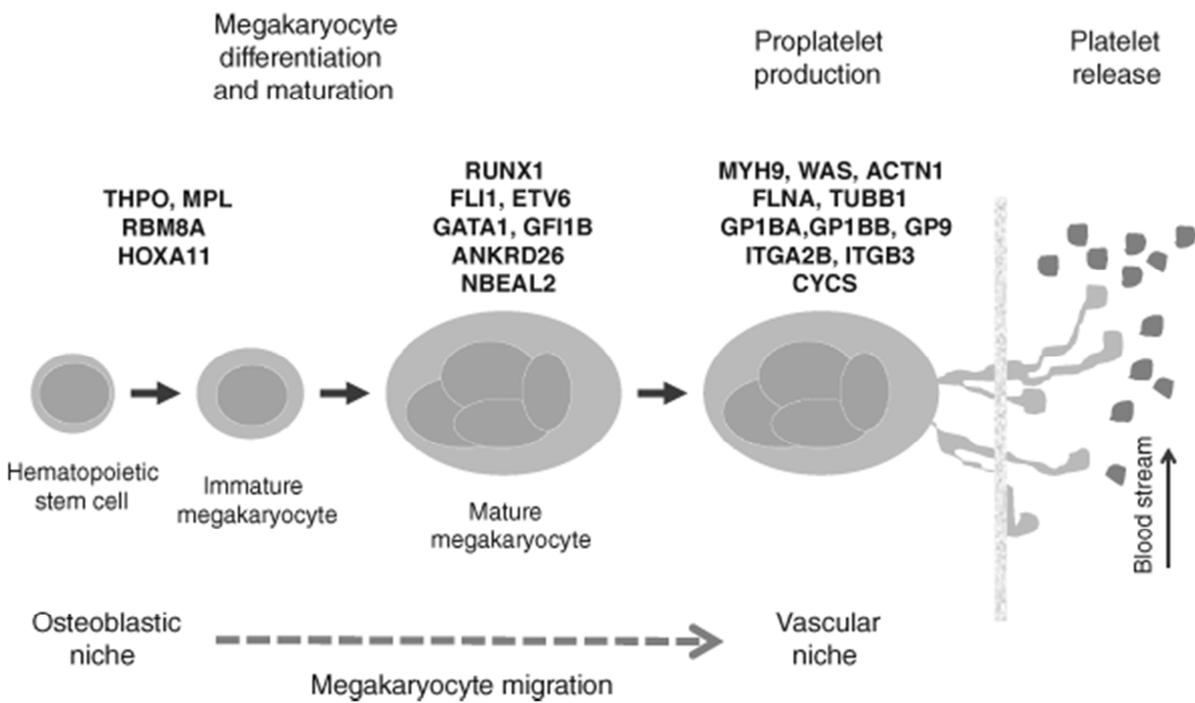
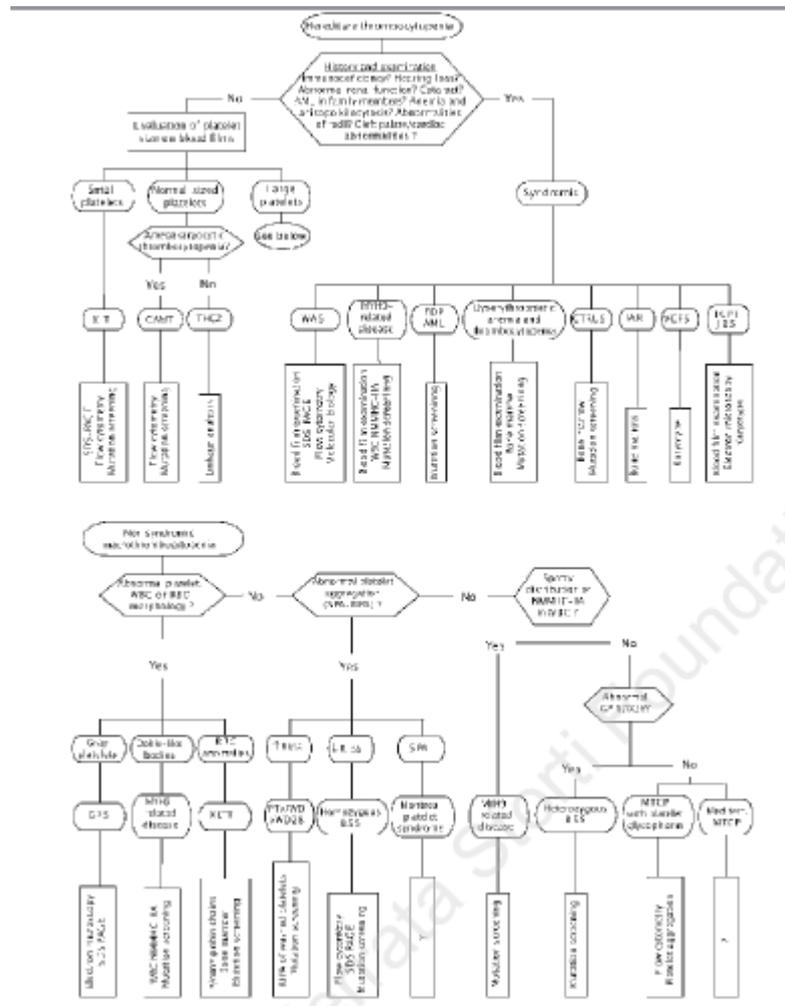


Figura 2 – Algoritmo diagnostico per le Trombocitopenie ereditarie preparato dal *Gruppo Italiano di Studio delle Piastrine* e modificato da Noris⁷⁴



Bibliografia

1. Harding DJ, Perera MTPR, Chen F, Olliff S, Tripathi D. Portal vein thrombosis in cirrhosis: Controversies and latest developments. *World J Gastroenterol*. 2015;21(22):6769-6784. doi:10.3748/wjg.v21.i22.6769.
2. Kinjo N, Kawanaka H, Akahoshi T, et al. Portal vein thrombosis in liver cirrhosis. *World J Hepatol*. 2014;6(2):64-71. doi:10.4254/wjh.v6.i2.64.
3. Cohen J, Edelman RR, Chopra S. Portal vein thrombosis: a review. *Am J Med*. 1992;92(2):173-182. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1543202>.
4. Janssen HL, Wijnhoud A, Haagsma EB, et al. Extrahepatic portal vein thrombosis: aetiology and determinants of survival. *Gut*. 2001;49(5):720-724. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1728504&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed May 26, 2016.
5. Condat B, Pessione F, Hillaire S, et al. Current outcome of portal vein thrombosis in adults: risk and benefit of anticoagulant therapy. *Gastroenterology*. 2001;120(2):490-497. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11159889>. Accessed May 26, 2016.
6. Nery F, Valla D. Splanchnic and Extrasplanchnic Thrombosis in Cirrhosis: Prophylaxis vs Treatment. *Curr Hepatol Reports*. 2014;13(3):224-234. doi:10.1007/s11901-014-0233-7.
7. Primignani M, Tosetti G, La Mura V. Therapeutic and clinical aspects of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis. *World J Hepatol*. 2015;7(29):2906-2912. doi:10.4254/wjh.v7.i29.2906.
8. Qi X, Han G, Fan D. Management of portal vein thrombosis in liver cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11(7):435-446. doi:10.1038/nrgastro.2014.36.
9. Tripodi A, Anstee QM, Sogaard KK, Primignani M, Valla DC. Hypercoagulability in cirrhosis: causes and consequences. *J Thromb Haemost*. 2011;9(9):1713-1723. doi:10.1111/j.1538-7836.2011.04429.x.
10. Nery F, Chevret S, Condat B, et al. Causes and consequences of portal vein thrombosis in 1243 patients with cirrhosis: results of a longitudinal study. *Hepatology*. 2014. doi:10.1002/hep.27546.
11. Senzolo M, Caldwell S. Portal vein thrombosis in cirrhosis: ignore, prevent, or treat? *Gastroenterology*. 2013;144(2):e19-e20. doi:10.1053/j.gastro.2012.11.036.
12. Fallon MB, Batra S. Inherited thrombophilia and the risk of portal vein thrombosis: progress toward individualized anticoagulation in cirrhosis? *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014;12(11):1813-1814. doi:10.1016/j.cgh.2014.07.040.
13. Englesbe MJ, Schaubel DE, Cai S, Guidinger MK, Merion RM. Portal vein thrombosis and liver transplant survival benefit. *Liver Transpl*. 2010;16(8):999-1005. doi:10.1002/lt.22105.
14. Doenecke A, Tsui T-Y, Zuelke C, et al. Pre-existent portal vein thrombosis in liver transplantation: influence of pre-operative disease severity. *Clin Transplant*. 24(1):48-55. doi:10.1111/j.1399-0012.2009.00977.x.
15. Chen H, Turon F, Hernández-Gea V, et al. Nontumoral portal vein thrombosis in patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl*. 2016;22(3):352-365. doi:10.1002/lt.24387.

16. Wanless IR, Wong 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(5):1238-1247. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7737629>. Accessed November 13, 2012.
17. Primignani M. Portal vein thrombosis, revisited. *Dig Liver Dis*. 2010;42(3):163-170. doi:10.1016/j.dld.2009.08.003.
18. García-Pagán J-C, Gracia-Sancho J, Bosch J. Functional aspects on the pathophysiology of portal hypertension in cirrhosis. *J Hepatol*. 2012;57(2):458-461. doi:10.1016/j.jhep.2012.03.007.
19. Qi X, Chen H, Han G. Effect of Antithrombin, Protein C and Protein S on Portal Vein Thrombosis in Liver Cirrhosis: A Meta-Analysis. *Am J Med Sci*. 2012. doi:10.1097/MAJ.0b013e31826485fc.
20. Chen H, Qi X, He C, Yin Z, Fan D, Han G. Coagulation imbalance may not contribute to the development of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis. *Thromb Res*. 2012. doi:10.1016/j.thromres.2012.11.003.
21. Castera L, Pinzani M, Bosch J. Non invasive evaluation of portal hypertension using transient elastography. *J Hepatol*. 2012;56(3):696-703. doi:10.1016/j.jhep.2011.07.005.
22. Thabut D, Shah V. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: new targets for the treatment of portal hypertension? *J Hepatol*. 2010;53(5):976-980. doi:10.1016/j.jhep.2010.07.004.
23. Iwakiri Y, Grisham M, Shah V. Vascular biology and pathobiology of the liver: Report of a single-topic symposium. *Hepatology*. 2008;47(5):1754-1763. doi:10.1002/hep.22203.
24. Tsochatzis EA, Senzolo M, Germani G, Gatt A, Burroughs AK. Systematic review: portal vein thrombosis in cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;31(3):366-374. doi:10.1111/j.1365-2036.2009.04182.x.
25. Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med*. 2011;365(2):147-156. doi:10.1056/NEJMra1011170.
26. Zhang Y, Wen T-F, Yan L-N, et al. Preoperative predictors of portal vein thrombosis after splenectomy with periesophagogastric devascularization. *World J Gastroenterol*. 2012;18(15):1834-1839. doi:10.3748/wjg.v18.i15.1834.
27. Berzigotti A, Piscaglia F. Ultrasound in portal hypertension--part 1. *Ultraschall Med*. 2011;32(6):548-568; quiz 569-571. doi:10.1055/s-0031-1281856.
28. Berzigotti A, Piscaglia F. Ultrasound in portal hypertension--part 2--and EFSUMB recommendations for the performance and reporting of ultrasound examinations in portal hypertension. *Ultraschall Med*. 2012;33(1):8-32; quiz 30-31. doi:10.1055/s-0031-1299145.
29. Okuda K, Ohnishi K, Kimura K, et al. Incidence of portal vein thrombosis in liver cirrhosis. An angiographic study in 708 patients. *Gastroenterology*. 1985;89(2):279-286. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4007419>. Accessed September 12, 2012.
30. Francoz C, Valla D, Durand F. Portal vein thrombosis, cirrhosis, and liver transplantation. *J Hepatol*. 2012;57(1):203-212. doi:10.1016/j.jhep.2011.12.034.
31. Englesbe MJ, Kubus J, Muhammad W, et al. Portal Vein Thrombosis and Survival in Patients

with Cirrhosis. 2010;83-90. doi:10.1002/lt.

32. Francoz C, Belghiti J, Vilgrain V, et al. Splanchnic vein thrombosis in candidates for liver transplantation: usefulness of screening and anticoagulation. *Gut*. 2005;54(5):691-697. doi:10.1136/gut.2004.042796.
33. Ravaioli M, Zanella M, Grazi GL, et al. Portal vein thrombosis and liver transplantation: evolution during 10 years of experience at the University of Bologna. *Ann Surg*. 2011;253(2):378-384. doi:10.1097/SLA.0b013e318206818b.
34. Cherqui D, Duvoux C, Rahmouni A, et al. Orthotopic liver transplantation in the presence of partial or total portal vein thrombosis: problems in diagnosis and management. *World J Surg*. 17(5):669-674. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8273391>. Accessed May 28, 2016.
35. Tao Y-F, Teng F, Wang Z-X, et al. Liver transplant recipients with portal vein thrombosis: a single center retrospective study. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2009;8(1):34-39. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19208512>. Accessed May 28, 2016.
36. Gayowski TJ, Marino IR, Doyle HR, et al. A high incidence of native portal vein thrombosis in veterans undergoing liver transplantation. *J Surg Res*. 1996;60(2):333-338. doi:10.1006/jsre.1996.0053.
37. Manzanet G, Sanjuán F, Orbis P, et al. Liver transplantation in patients with portal vein thrombosis. *Liver Transpl*. 2001;7(2):125-131. doi:10.1053/jlts.2001.21295.
38. Molmenti EP, Roodhouse TW, Molmenti H, et al. Thrombendvenectomy for organized portal vein thrombosis at the time of liver transplantation. *Ann Surg*. 2002;235(2):292-296. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1422428&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed May 28, 2016.
39. Lladó L, Fabregat J, Castellote J, et al. Management of portal vein thrombosis in liver transplantation: influence on morbidity and mortality. *Clin Transplant*. 21(6):716-721. doi:10.1111/j.1399-0012.2007.00728.x.
40. Yerdel MA, Gunson B, Mirza D, et al. Portal vein thrombosis in adults undergoing liver transplantation: risk factors, screening, management, and outcome. *Transplantation*. 2000;69(9):1873-1881. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10830225>. Accessed May 28, 2016.
41. Dumortier J, Czyglik O, Poncet G, et al. Eversion thrombectomy for portal vein thrombosis during liver transplantation. *Am J Transplant*. 2002;2(10):934-938. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12482145>. Accessed May 28, 2016.
42. Englesbe MJ, Kubus J, Muhammad W, et al. Portal vein thrombosis and survival in patients with cirrhosis. *Liver Transpl*. 2010;16(1):83-90. doi:10.1002/lt.21941.
43. Amitrano L, Brancaccio V, Guardascione MA, et al. Inherited coagulation disorders in cirrhotic patients with portal vein thrombosis. *Hepatology*. 2000;31(2):345-348. doi:10.1002/hep.510310213.
44. Amitrano L, Guardascione MA, Brancaccio V, et al. Risk factors and clinical presentation of portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. *J Hepatol*. 2004;40(5):736-741. doi:10.1016/j.jhep.2004.01.001.

45. Zocco MA, Di Stasio E, De Cristofaro R, et al. Thrombotic risk factors in patients with liver cirrhosis: correlation with MELD scoring system and portal vein thrombosis development. *J Hepatol.* 2009;51(4):682-689. doi:10.1016/j.jhep.2009.03.013.
46. Maruyama H, Okugawa H, Takahashi M, Yokosuka O. De novo portal vein thrombosis in virus-related cirrhosis: predictive factors and long-term outcomes. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(4):568-574. doi:10.1038/ajg.2012.452.
47. Okuda K, Ohnishi K, Kimura K, et al. Incidence of portal vein thrombosis in liver cirrhosis. *Gastroenterology.* 2015;89(2):279-286. [http://www.gastrojournal.org/article/0016-5085\(85\)90327-0/abstract](http://www.gastrojournal.org/article/0016-5085(85)90327-0/abstract).
48. Galli L, Gerdes VEA, Guasti L, Squizzato A. Thrombosis Associated with Viral Hepatitis. *J Clin Transl Hepatol.* 2014;2(4):234-239. doi:10.14218/JCTH.2014.00031.
49. Shah V. Molecular mechanisms of increased intrahepatic resistance in portal hypertension. *J Clin Gastroenterol.* 41 Suppl 3:S259-S261. doi:10.1097/MCG.0b013e318150d0e1.
50. Bosch J, Masti R, Kravetz D, et al. Effects of propranolol on azygos venous blood flow and hepatic and systemic hemodynamics in cirrhosis. *Hepatology.* 4(6):1200-1205. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6500511>. Accessed June 2, 2016.
51. Garcia-Pagan JC, Valla D-C. Portal vein thrombosis: a predictable milestone in cirrhosis? *J Hepatol.* 2009;51(4):632-634. doi:10.1016/j.jhep.2009.06.009.
52. Leithead JA, Rajoriya N, Tehami N, et al. Non-selective β -blockers are associated with improved survival in patients with ascites listed for liver transplantation. *Gut.* 2015;64(7):1111-1119. doi:10.1136/gutjnl-2013-306502.
53. Bossen L, Krag A, Vilstrup H, Watson H, Jepsen P. Non-selective β -blockers do not affect mortality in cirrhosis patients with ascites: Post hoc analysis of three RCTs with 1198 patients. *Hepatology.* 2015;63(6):1968-1976. doi:10.1002/hep.28352.
54. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, et al. An imbalance of pro- vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterology.* 2009;137(6):2105-2111. doi:10.1053/j.gastro.2009.08.045.
55. Tripodi A, Primignani M, Lemma L, Chantarangkul V, Mannucci PM. Evidence that low protein C contributes to the procoagulant imbalance in cirrhosis. *J Hepatol.* 2013;59(2):265-270. doi:10.1016/j.jhep.2013.03.036.
56. Janssen HL, Meinardi JR, Vleggaar FP, et al. Factor V Leiden mutation, prothrombin gene mutation, and deficiencies in coagulation inhibitors associated with Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: results of a case-control study. *Blood.* 2000;96(7):2364-2368. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11001884>. Accessed June 2, 2016.
57. Pasta L, Marrone C, D'amico M, et al. MTHFR C677T mutations in liver cirrhosis with and without portal vein thrombosis. *Liver Int.* 2006;26(2):269-270. doi:10.1111/j.1478-3231.2005.01215.x.
58. Amitrano L, Guardascione MA, Ames PRJ, et al. Increased plasma prothrombin concentration in cirrhotic patients with portal vein thrombosis and prothrombin G20210A mutation. *Thromb Haemost.* 2006;95(2):221-223. doi:10.1160/TH05-08-0555.

59. La Mura V, Tripodi A, Cavallaro F, Chantarangkul V, Colombo M, Primignani M. P464 RESISTANCE TO THROMBOMODULIN IS ASSOCIATED WITH DE NOVO PORTAL VEIN THROMBOSIS AND COULD BE A MODIFIABLE FACTOR TO IMPROVE PROGNOSIS IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS. *J Hepatol*. 2014;60(1):S223-S224. doi:10.1016/S0168-8278(14)60626-7.
60. Monroe DM, Hoffman M. The coagulation cascade in cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2009;13(1):1-9. doi:10.1016/j.cld.2008.09.014.
61. Sogaard KK, Horváth-Puhó E, Grønbaek H, Jepsen P, Vilstrup H, Sørensen HT. Risk of venous thromboembolism in patients with liver disease: a nationwide population-based case-control study. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(1):96-101. doi:10.1038/ajg.2008.34.
62. García-Fuster MJ, Abdilla N, Fabiá MJ, Fernández C, Oliver V, Forner M J. [Venous thromboembolism and liver cirrhosis]. *Rev española enfermedades Dig organo Of la Soc Española Patol Dig*. 2008;100(5):259-262. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18662076>. Accessed June 2, 2016.
63. Northup PG, McMahon MM, Ruhl AP, et al. Coagulopathy does not fully protect hospitalized cirrhosis patients from peripheral venous thromboembolism. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(7):1524-1528; quiz 1680. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00588.x.
64. Gulley D, Teal E, Suvannasankha A, Chalasani N, Liangpunsakul S. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in cirrhosis patients. *Dig Dis Sci*. 2008;53(11):3012-3017. doi:10.1007/s10620-008-0265-3.
65. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, et al. Thrombin generation in patients with cirrhosis: the role of platelets. *Hepatology*. 2006;44(2):440-445. doi:10.1002/hep.21266.
66. Pippucci T, Savoia A, Perrotta S, et al. Mutations in the 5' UTR of ANKRD26, the ankirin repeat domain 26 gene, cause an autosomal-dominant form of inherited thrombocytopenia, THC2. *Am J Hum Genet*. 2011;88(1):115-120. doi:10.1016/j.ajhg.2010.12.006.
67. Nurden AT, Nurden P. Inherited thrombocytopenias. *Haematologica*. 2007;92(9):1158-1164. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17768118>. Accessed May 29, 2016.
68. Rabbolini DJ, Morel-Kopp MC, Stevenson W, Ward CM. Inherited macrothrombocytopenias. *Semin Thromb Hemost*. 2014;40(7):774-784. doi:10.1055/s-0034-1387922.
69. Rao AK, Songdej N. Inherited thrombocytopenias: the beat goes on. *Blood*. 2015;125(5):748-750. doi:10.1182/blood-2014-11-610675.
70. Balduini CL, Melazzini F, Pecci A. Inherited thrombocytopenias-recent advances in clinical and molecular aspects. *Platelets*. 2016:1-11. doi:10.3109/09537104.2016.1171835.
71. Favier R, Raslova H. Progress in understanding the diagnosis and molecular genetics of macrothrombocytopenias. *Br J Haematol*. 2015;170(5):626-639. doi:10.1111/bjh.13478.
72. Pecci A. Diagnosis and treatment of inherited thrombocytopenias. *Clin Genet*. 2016;89(2):141-153. doi:10.1111/cge.12603.
73. Marconi C, Di Buduo CA, Barozzi S, et al. SLFN14-related thrombocytopenia: identification within a large series of patients with inherited thrombocytopenia. *Thromb Haemost*. 2016;115(5):1076-1079. doi:10.1160/TH15-11-0884.

74. Noris P, Pecci A, Di Bari F, et al. Application of a diagnostic algorithm for inherited thrombocytopenias to 46 consecutive patients. *Haematologica*. 2004;89(10):1219-1225. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15477207>. Accessed May 29, 2016.
75. Savoia A. Molecular basis of inherited thrombocytopenias. *Clin Genet*. 2016;89(2):154-162. doi:10.1111/cge.12607.
76. Machlus KR, Thon JN, Italiano JE. Interpreting the developmental dance of the megakaryocyte: a review of the cellular and molecular processes mediating platelet formation. *Br J Haematol*. 2014;165(2):227-236. doi:10.1111/bjh.12758.
77. Balduini CL, Savoia A. Inherited thrombocytopenias: molecular mechanisms. *Semin Thromb Hemost*. 2004;30(5):513-523. doi:10.1055/s-2004-835672.
78. Balduini CL, Cattaneo M, Fabris F, et al. Inherited thrombocytopenias: a proposed diagnostic algorithm from the Italian Gruppo di Studio delle Piastrine. *Haematologica*. 2003;88(5):582-592. <http://www.haematologica.org/content/88/5/582.abstract>. Accessed June 3, 2016.
79. Noris P, Pecci A, Di Bari F, et al. Application of a diagnostic algorithm for inherited thrombocytopenias to 46 consecutive patients. *Haematologica*. 2004;89(10):1219-1225. <http://www.haematologica.org/content/89/10/1219.full.pdf+html>. Accessed June 3, 2016.
80. Villa E, Cammà C, Marietta M, et al. Enoxaparin prevents portal vein thrombosis and liver decompensation in patients with advanced cirrhosis. *Gastroenterology*. 2012;143(5):1253-1260.e1-e4. doi:10.1053/j.gastro.2012.07.018.