

AVALIAÇÃO DA TROMBOCITOPENIA E ENVOLVIMENTO DA ESPLENOMEGALIA EM RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE HIPERTENSÃO PORTAL

*EVALUATION OF THROMBOCYTOPENIA AND INVOLVEMENT OF SPLENOMEGALY IN RATS
SUBMITTED TO MODEL OF PORTAL HYPERTENSION*

TROMBOCITOPTOPENIA E ESPLENOMEGALIA NA HIPERTENSÃO PORTAL

Artigo original

Francielle França da Rosa¹
Beatriz Essenfelder Borges²
Jannaina Ferreira de Melo Vasco³
Luiz Fernando Kubrusly⁴
Camila Moraes Marques⁵

RESUMO

Na hipertensão portal (HP) ocorre o aumento da resistência vascular na veia porta e se desenvolve circulação colateral com dilatação das veias esplâncnicas para que o fluxo sanguíneo possa alcançar o sistema da veia cava superior, com consequente trombocitopenia. Para o diagnóstico de HP tem-se utilizado a esofagogastroduodenoscopia (EGD) e a medida do gradiente de pressão venosa hepática (GPVH), métodos invasivos e desconfortáveis. Muitos métodos não invasivos têm sido propostos para evidenciar a presença de varizes, entre eles a correlação entre a contagem de plaquetas (CP) e o diâmetro do baço (DB). Este trabalho teve como objetivo avaliar a CP e DB como preditivo de presença de varizes em ratos Wistar com HP induzida por Ligadura Parcial da Veia Porta (LPVP). O trabalho teve aprovação da CEUA da Faculdade Evangélica do Paraná, protocolo nº3881/2014. Foram utilizados 16 ratos Wistar, pesando em média 300g, divididos em Grupo I: Controle (SO) e Grupo II: LPVP. No 15º dia foram coletadas amostras de sangue para a contagem de plaquetas e removido o baço para medida do diâmetro. Foi feita análise estatística para comparação entre os grupos I e II, com significância de 5%. Não houve diminuição do número de plaquetas e aumento do diâmetro do baço significativos ao comparar os grupos ($p>0,05$). Concluindo, esse estudo mostrou que não existe diferença significativa na relação CP/DB entre o grupo I comparado ao grupo II, demonstrando que esse modelo não foi eficiente para avaliar esses parâmetros.

Palavras-chave: hipertensão portal; trombocitopenia; esplenomegalia.

ABSTRACT

Portal hypertension (PH) is an increase in the portal vein vascular resistance and development of collateral circulation with dilatation of the splanchnic veins for blood flow can achieve the superior vena cava system with consequent thrombocytopenia. Esophagogastroduodenoscopy (EGD) and measure of hepatic venous pressure gradient (HVPG) are used for the diagnosis of PH, both methods invasive and uncomfortable. Many non-invasive methods have been proposed to predict the presence of varicose veins, among them is the correlation between the platelet count (PC) and the spleen diameter (SM) measurement. This study aimed to assess PC and SM as a predictor of the presence of varicose veins in rats with PH induced by partial portal vein ligation (PPVL). The study was approved by the CEUA of the Faculdade Evangélica do Paraná, nº3881/2014 protocol. Sixteen wistar rats weighing approximately 300g were divided in two groups: Sham Operated (Group I) and partial portal vein ligation (Group II). Fifteen days after the surgery, blood samples were collected for PC and the spleen were removed for measurement of the diameter. Statistical analysis were performed to compare the groups, with 5% significance. The results show that there was no significantly decrease in PC and neither increase in the SM when comparing the groups ($p>0,05$). In conclusion, this study showed that does not exist significant difference in PC/SM relationship between the Group I comparing to Group II, demonstrating this model were not efficient to evaluate these parameters.

Key words: Portal Hypertension; Thrombocytopenia; Splenomegaly.

1 Acadêmica de Biomedicina do Centro Universitário Autônomo do Brasil - UniBrasil. Correspondências: Rua João Trevisan, 579 - Jardim Paulista, Campina Grande do Sul- Paraná. CEP: 83430-000. 2 Doutora em Patologia pelo programa de Microbiologia, Parasitologia e Patologia da Universidade Federal do Paraná - UFPR. 3 Mestre em Microbiologia pelo programa de Microbiologia, Parasitologia e Patologia da Universidade Federal do Paraná- UFPR. Professora e Coordenadora do curso de Biomedicina do Centro Universitário Autônomo do Brasil - UniBrasil. 4 Pós-doutor em Medicina pela Universidade Federal do Paraná, Hospital Vita Batel. 5 Doutora em Ciências Biológicas - Fisiologia, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS. Professora do Centro Universitário Autônomo do Brasil - UniBrasil.

INTRODUÇÃO

A circulação venosa portal engloba todas as veias que transportam sangue da porção abdominal do tubo digestório, do baço, do pâncreas e da vesícula biliar ⁽¹⁾. O sangue venoso, proveniente destas regiões, chega ao fígado pela veia porta. Desta forma, todo o sangue venoso drenado no trato gastrointestinal passa pelo território capilar sinusoidal hepático antes de atingir a circulação sistêmica. Esta particularidade anatômica é importante para as funções do fígado como principal órgão regulador da homeostase metabólica, como responsável pela biotransformação de toxinas e pela redução de micro-organismos provenientes da absorção intestinal ⁽²⁾.

A veia porta é formada pela união das veias mesentérica superior, esplênica e mesentérica inferior e ao longo de seus trajetos vão associando-se às veias gástricas e pancreatoduodenais, estende-se até o hilo hepático, dividindo-se em ramo direito e esquerdo, possuindo, desta forma, uma distribuição intra-hepática segmentar, acompanhando a artéria hepática ^(1;2).

O fígado recebe sangue da artéria hepática e da veia porta, o que representa cerca de 25% do débito cardíaco (cerca de 1.200 ml/min.). Deste total, cerca de 25% são representados pelo suprimento arterial e 75% pela veia porta ⁽²⁾. Este elevado volume sanguíneo é necessário para que o fígado realize todas as suas funções. O fluxo venoso portal possui duas características hemodinâmicas importantes que são o alto fluxo sanguíneo com baixa resistência e baixa pressão. Em indivíduos adultos a pressão portal é de cerca 7 mmHg ⁽¹⁾.

A pressão portal tem relação direta com a resistência e com o fluxo sanguíneo de acordo com a lei de Ohm ($\Delta P = Q \times R$) ^(1;3). Em que ΔP é o gradiente de pressão da veia porta (a diferença entre a pressão portal e a pressão da veia cava inferior), Q é o fluxo sanguíneo portal e R é a resistência ao fluxo ⁽⁴⁾. A hipertensão portal (HP) é a síndrome clínica usualmente secundária à obstrução intra ou extra-hepática do fluxo portal, sendo o aumento da resistência do fluxo sanguíneo portal o fator primário desta doença ⁽¹⁾.

O primeiro sangramento por varizes, confirmado por necropsia, foi descrito em 1840 por Power, que não chegou a reconhecer a hepatopatia subjacente. Em uma série de 60 necropsias, em 1900, Preble estabeleceu a relação entre cirrose, varizes e sangramento gastrointestinal. O termo hipertensão portal foi usado pela primeira vez por Gilbert e Villaret em 1906 ⁽¹⁾.

Em função de ser um conjunto de veias que se anastomosam em um mesmo local, sempre que houver uma obstrução na circulação portal ocorrerá aumento da pressão e

desenvolvimento de vasos colaterais como varizes esofágicas e gástricas, estimulando o desenvolvimento de uma circulação hiperdinâmica esplâncica^(3; 5).

A HP é classificada como pré-hepática (trombose da veia porta ou esplênica); intra-hepática (cirrose) e pós-hepática (trombose da veia hepática, da veia cava inferior ou cardiopatia congestiva). A causa mais comum de HP é a cirrose, onde o aumento da resistência é causado principalmente pela distorção da arquitetura hepática (fibrose e nódulos regenerativos), mas cerca de um terço do aumento da resistência é causado por vasoconstrição intra-hepática, passíveis de vasodilatadores⁽⁶⁾.

A principal causa de morte entre pacientes cirróticos é pela hemorragia digestiva alta decorrente principalmente do rompimento de varizes e a gastropatia da HP⁽⁷⁾. A HP favorece outras hepatopatias, como ascite, síndrome hepatorenal e encefalopatia hepática^(3; 8; 9).

A hemorragia por ruptura de varizes é um dos eventos de maior impacto negativo na cirrose. O risco de hemorragia está relacionado com o calibre das varizes, a presença de “*red spots*” e o estágio da doença na classificação de Child-Pugh, que é utilizada para avaliar o prognóstico da cirrose, através de um score que pode variar de 5 a 15, obtido por meio da análise das dosagens séricas de bilirrubina, albumina, presença de ascite e encefalopatia, e avaliação do tempo de protrombina⁽¹⁰⁾.

O rastreamento endoscópico de varizes é recomendado em pacientes com doenças hepáticas crônicas. Tendo em vista a significativa morbidade e mortalidade (17 a 57%) associada à hemorragia por ruptura das varizes, é recomendado pela *American Association for the Study of the Liver (AASL)*, desde 1996, o rastreio desta doença através de uma esofagogastroduodenoscopia (EGD), que deve ser repetida de 2 a 3 anos em doentes sem varizes e no intervalo de 1 a 2 anos nos doentes com varizes de pequeno calibre^(10; 11). Através de reuniões de consenso da *AASL* e *European Association for the Study of the Liver (EASL)* em 2008 e *Baveno V* em 2010, esta recomendação foi reiterada a fim de identificar precocemente e beneficiar com a terapêutica profilática os doentes com varizes gastroesofágicas, o que reduz a incidência de hemorragia em aproximadamente 50%⁽¹⁰⁾.

São considerados os padrões de ouro para a avaliação da HP em pacientes com cirrose, a medida do gradiente de pressão venosa hepática (GPVH) e EGD. No entanto, ambos os tipos de investigação são invasivos e a medição do GPVH é rotineiramente disponível e/ou realizada com padrões adequados apenas em centros especializados. Existe, portanto, uma necessidade de métodos não invasivos capazes de prever, com precisão do diagnóstico aceitável, a progressão da hipertensão portal para os níveis de clinicamente significativos (isto

é, GPVH \geq 10 mmHg) e graves (GPVH \geq 12 mm Hg), bem como a presença e o tamanho das varizes esofágicas ^(10; 13; 14).

A trombocitopenia tem sido indicada como um parâmetro com valor preditivo da existência de varizes, porém há múltiplas causas que podem influenciar a contagem de plaquetas, alterando seu valor preditivo quando utilizada isoladamente, como o hiperesplenismo, destruição das plaquetas por anticorpos, diminuição da trombopoietina e o efeito mielotóxico do álcool. A esplenomegalia em cirróticos está relacionada principalmente com as alterações vasculares da HP ^(10; 13).

Em 2003, Giannini *et al* propuseram a relação contagem de plaquetas/diâmetro do baço (CP/DB) ((N/mm³)/mm) com *cut off* (limite de corte) de 909 como tendo valor preditivo negativo de 100% e preditivo positivo de 96% para existência de varizes de qualquer calibre ⁽¹⁵⁾. Estes mesmos autores em 2006 obtiveram em um estudo prospectivo multicêntrico resultados ligeiramente inferiores aos obtidos anteriormente. Contudo, refere que a eficácia deste método foi confirmada em diferentes estádios de gravidade, baseando-se no score de Child-Pugh, assim como nas diferentes etiologias da doença. Como consequência prática da validação da CP/DB, Giannini *et al* (2006) propuseram que os doentes com uma relação CP/DB superior a 909 não necessitam ser submetidos a EGD ou a terapêutica profilática ⁽¹¹⁾.

Este projeto de pesquisa está inserido na área de fisiologia digestiva com enfoque em modelos experimentais e o diagnóstico de HP. Dentro dessa linha procuramos investigar a relação entre a diminuição de plaquetas e o diâmetro do baço como diagnóstico não invasivo de HP em modelo experimental por ligadura parcial da veia porta (LPVP), levando em conta o risco de sangramento de varizes gastroesofágicas durante o procedimento endoscópico, e a necessidade de técnicas que estejam disponíveis rotineiramente e realizada com padrões adequados.

Tendo em vista estas considerações, nos propomos a desenvolver o modelo experimental de HP e nessa situação analisar a presença de trombocitopenia, esplenomegalia e presença de alterações histológicas no estômago e baço, decorrentes da circulação colateral da HP, permitindo a ampliação do conhecimento e entendimento sobre HP.

METODOLOGIA

Os procedimentos com os animais foram de acordo com o preconizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Evangélica do Paraná (FEPAR), protocolo número 3881/2014.

Este estudo teve caráter experimental qualitativo e quantitativo, e, para isso, foi realizada a indução do desenvolvimento da hipertensão portal, por ligadura parcial de veia porta (LPVP).

Foram utilizados 16 ratos machos *Wistar*, pesando em média 300 gramas, provenientes do biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Os animais foram mantidos durante o experimento no biotério da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em caixas plásticas individuais, de 47x34x18cm, forradas com maravalha, em ciclo de doze horas claro/escuro (luz das 7 às 19 horas) e temperatura de 22 ± 2 °C, água e a ração (Nuvilab®-Nuvital, Curitiba, PR) apropriada foram administradas livremente. Os animais foram previamente aclimatados por um período de sete (7) dias anteriormente à realização dos experimentos.

Os animais foram divididos em dois grupos, sendo de oito (8) animais cada:

- I. Grupo I - Controle (SO): Grupo submetido à simulação da cirurgia, sem a LPVP;
- II. Grupo II - Hipertensão Portal (LPVP): Grupo submetido à cirurgia de LPVP.

Foi utilizada uma mistura de Cloridrato de Xilazina (10 mg/Kg) e Cloridrato de Cetamina (90 mg/Kg) por via intraperitoneal para anestésiar os animais, e foram posicionados para a cirurgia. A cirurgia para indução de HP através de LPVP foi realizada de acordo com o modelo estabelecido por Sikuler *et al* ⁽¹⁵⁾. A intervenção cirúrgica se iniciou com realização de tricotomia e desinfecção da região abdominal, seguida de uma laparotomia ventral média, as alças intestinais foram expostas delicadamente sobre uma gaze umidificada com soro fisiológico e a veia porta isolada. Uma agulha de 20G foi colocada sobre a veia porta e ambas unidas por um fio seda 3.0, sendo retirada a agulha delicadamente após a ligadura, certificando de que não ocorresse a trombose da veia porta durante sua manipulação ⁽¹⁶⁾. A cavidade abdominal foi fechada com pontos individuais no plano cutâneo, e o peritônio e a camada muscular abdominal foram fechados com pontos contínuos.

Os animais do grupo I sofreram o mesmo procedimento não tendo, no entanto, a veia porta parcialmente ligada. Após a cirurgia, os animais se recuperaram da anestesia em caixas individuais forradas com maravalha. Uma solução antisséptica foi aplicada na região da cirurgia e os animais foram colocados em gaiolas individuais até o dia dos experimentos, com livre acesso à água e ração.

Transcorridos 15 dias do desenvolvimento do modelo conforme o grupo, os animais foram novamente pesados e anestesiados com uma mistura de Cloridrato de Xilazina (10 mg/Kg) e Cloridrato de Cetamina (90 mg/Kg) por via intraperitoneal.

Foi coletado sangue pela técnica de punção do plexo veno retro-orbital com tubo microcapilar de vidro heparinizado, e este material foi utilizado para realização de um hemograma completo, para avaliar a contagem de plaquetas através do contador hematológico CELL-DYN Ruby System® (Abbot Diagnostics) e a partir do soro foram feitos os testes de integridade hepática: aspartato aminotransferases (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FAL) e gama-glutamilttransferase (GGT) pelo método colorimétrico automatizado, através do aparelho Cobas Mira Plus Chemistry System® (Roche Diagnostic System Incorporated).

Posteriormente, foi realizada a tricotomia e desinfecção da região abdominal, seguida da eutanásia por exsanguinação com retirada do estômago, fígado e baço, que posteriormente foram pesados. Foi medido o diâmetro (eixo longitudinal) do baço no plano de corte coronal utilizando uma régua passando em linha reta o hilo esplênico e unindo a cúpula diafragmática à extremidade inferior do baço, para o traçado do maior eixo do órgão⁽¹⁷⁾. Depois de realizadas a contagem de plaquetas e medida do baço foi calculada a relação CP/DB.

Para realização do estudo histológico, os órgãos coletados foram fixados em formol a 10% em PBS 0,1M (pH 7,4), após foram colhidos fragmentos para processamento segundo técnica histológica convencional. Os fragmentos dos órgãos foram incluídos em paraplást e orientados para que os cortes obtidos resultassem em secções transversais do órgão, e, posteriormente, os cortes foram corados com HE.

Também foram calculadas as relações hepato-somática e esplenossomática através do peso obtido de cada órgão utilizando a fórmula: peso do órgão/ peso corporal do animal x 100.

Os resultados foram expressos em média ± DP (desvio padrão). Foi utilizado teste t de Student para variáveis paramétricas para o cálculo do *p* valor para comparação entre os grupos I e II. Os valores foram considerados significativos quando *p*<0.05. Os cálculos foram realizados através do programa estatístico *Graphpad Prism, version 14.0* (SPSS Inc., Chicago, IL, Estados Unidos).

RESULTADOS

Na relação hepato-somática não houve diferença significativa entre os grupos por tratar-se de um modelo de HP pré-hepático (Figura 1).

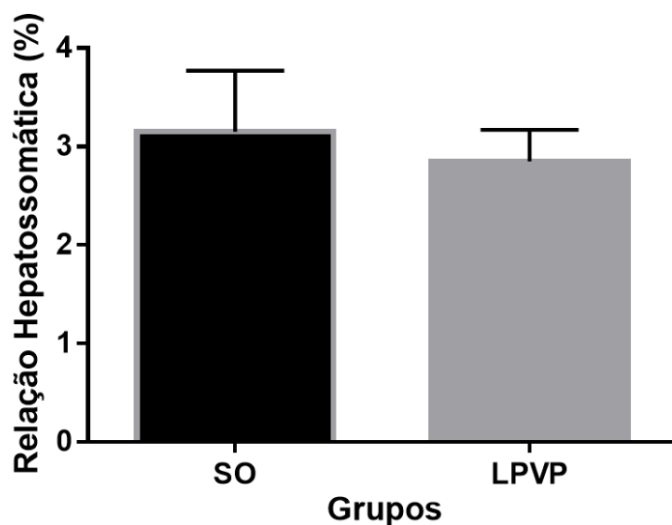


Figura 1: Valores médios da Relação Hepatosomática. Não apresenta diferença significativa entre os grupos, $p > 0,05$.

Devido ao desvio da circulação portal para a circulação hiperdinâmica esplênica, a relação esplenossomática dos animais do Grupo II (LPVP) foi maior quando comparados ao Grupo I (SO), sendo significativamente diferentes (Figura 2).

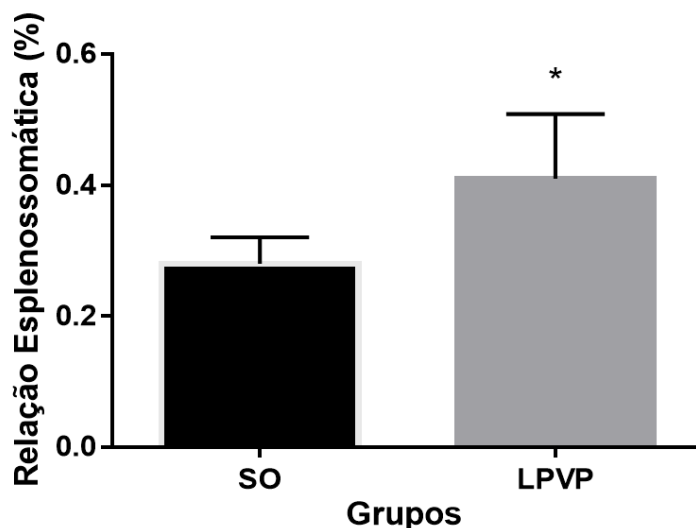


Figura 2: Valores médios da relação Esplenossomática. Apresenta diferença significativa entre os grupos, $p < 0,05$.

* diferença significativa do grupo LPVP em relação ao grupo SO ($p < 0,05$)

Na avaliação histológica da mucosa gástrica, foi visualizado o desenvolvimento de edema e vasodilatação no Grupo II quando comparado com o Grupo I, devido ao processo de angiogênese instalado (figura 3), no Grupo I não foram visualizadas modificações na mucosa gástrica (Fig 4).

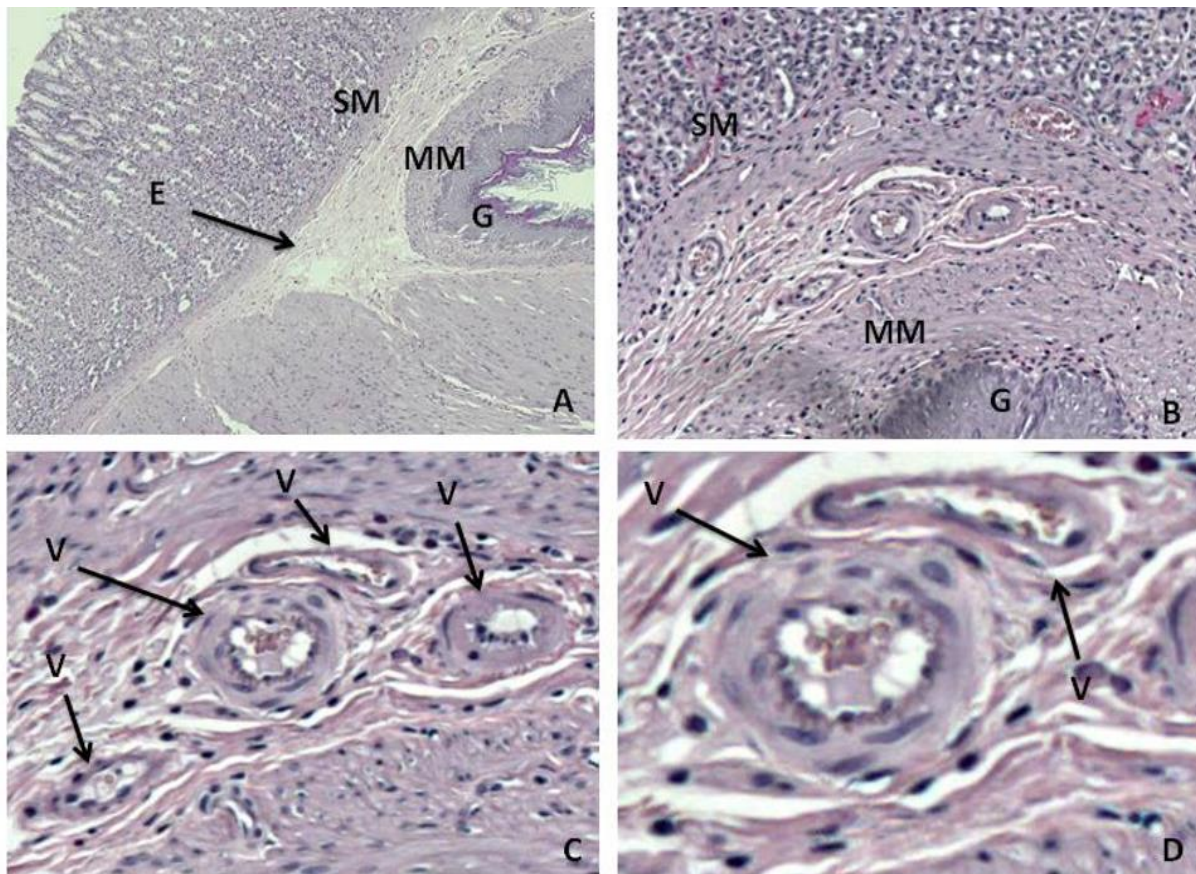


Figura 3: Fotomicrografia de estômago de animais do grupo com ligadura parcial de veia porta (LPVP) com coloração de hematoxilina-eosina nos aumentos A (10x), B (100x) C (200X) e D (400x), mostrando alterações da mucosa gástrica, que caracterizam a gastropatia da hipertensão portal. Presença de edema (E), formação de vasos com presença de hemácias e vasodilatação (V). Observa-se área glandular (G), muscular da mucosa (MM) e submucosa (SM).

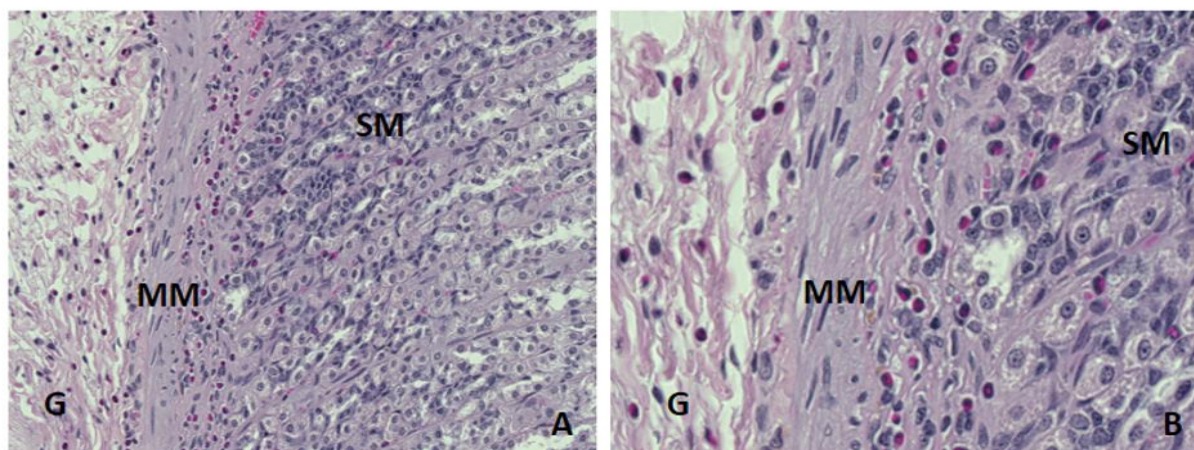


Figura 4: Fotomicrografia de estômago de animais do grupo controle (SO) com coloração de hematoxilina-eosina nos aumentos A (100x) e B (200x). Observa-se área glandular (G), muscular da mucosa (MM) e submucosa (SM).

A histologia hepática mostrou-se normal em ambos os grupos (Figura 5), confirmando que o modelo pré-hepático de HP não promove alterações na morfologia do fígado.

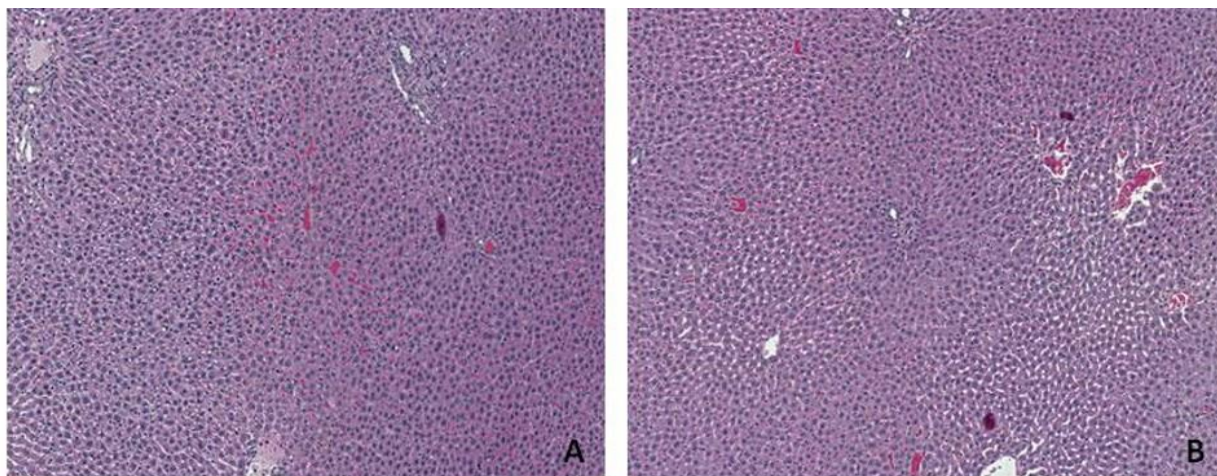


Figura 5: Fotomicrografia de fígado de animal do grupo SO (A) e LPVP (B) com coloração de hematoxilina-eosina no aumento de 10X.

Os resultados dos testes de função hepática AST, ALT e FAL não mostraram alterações comportamentais entre os grupos experimentais do modelo utilizado no estudo, confirmando que não há nenhuma mudança na integridade hepática, característica de modelo de LPVP, modelo pré-hepático de PH, em que não há danos no fígado ^(16, 17).

A CP não foi significativamente diferente entre os grupos (Fig 6). A medida do DB teve um pequeno aumento no grupo II, porém a diferença não foi significativa (Fig 7). Conseqüentemente, a relação CP/DB não diferiu significativamente entre os animais do Grupo I e os animais do Grupo II (Figura 9).

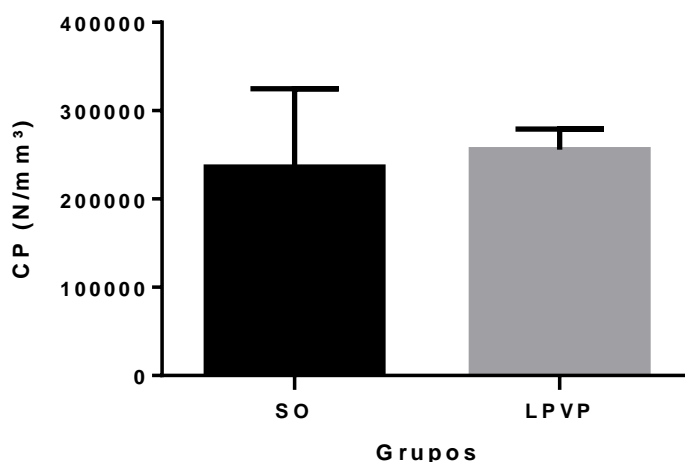


Figura 6: Valores médios da Contagem de Plaquetas (CP). Não apresenta diferença significativa entre os grupos, $p > 0,05$.

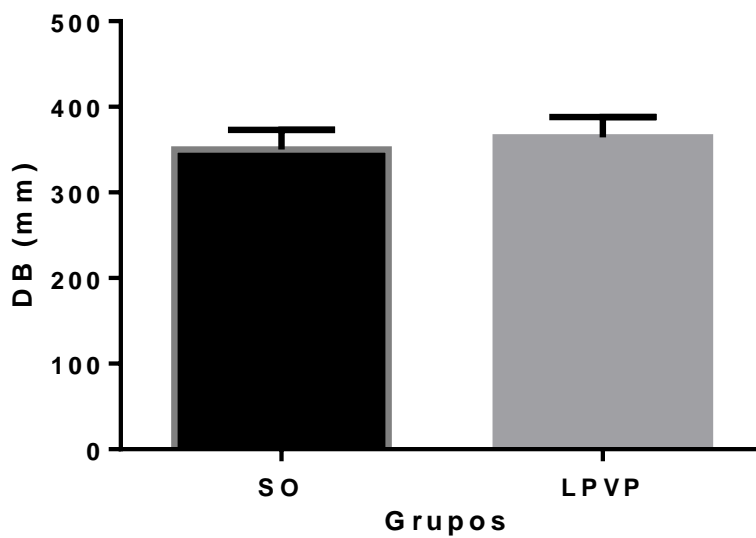


Figura 7: Valores médios do Diâmetro do Baço (DB). Não apresenta diferença significativa entre os grupos, $p > 0,05$.

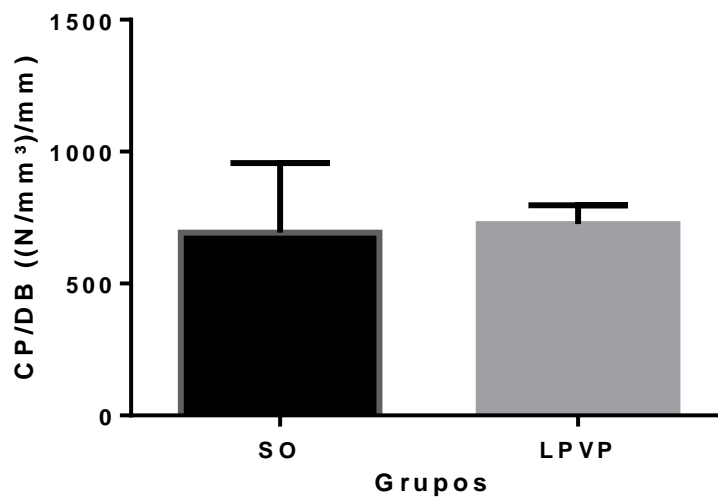


Figura 8: Valores médios da relação Contagem de Plaquetas /Diâmetro do Baço (CP/DB). Não apresenta diferença significativa entre os grupos, $p > 0,05$.

DISCUSSÃO

Atualmente, a EGD é o método considerado mais preciso para o rastreamento da presença de varizes gastroesofágicas no diagnóstico da HP^(14, 18, 19). A EGD é um método invasivo e implica a disponibilidade de profissionais especializados e de recursos econômicos^(10, 13, 14, 20).

Diversos estudos avaliaram métodos não invasivos utilizando parâmetros biológicos para prever a presença de varizes gastroesofágicas^(14, 18). Tem sido demonstrado que a relação CP/DB pode ser o preditor não invasivo mais útil para a presença de varizes gastroesofágicas em pacientes com HP^(15, 18, 21). A relação de CP/DB pode ser uma opção melhor para pacientes com cirrose hepática devido a um maior risco de complicações e sangramento de varizes, necessitando de um diagnóstico precoce e preciso⁽²²⁾.

Neste estudo foi utilizado a LPVP, um modelo experimental clássico estabelecido por Sikuller *et al*, em 1985, no qual em sete dias HP pré-hepática é estabelecida, mas as suas complicações não são evidenciadas. De acordo com este modelo, em quinze dias após LPVP ocorre o estabelecimento das complicações da HP⁽¹⁶⁾.

No cálculo da relação hepatossomática não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. Era esperada uma redução no tamanho do fígado de animais com LPVP, pois com a obstrução venosa portal diversos substratos, aminoácidos, fatores de crescimento e hormônios chegam em pequenas quantidades ao fígado ou são desviados para a circulação sistêmica através de colaterais portossistêmicos que conduzem a perdas para o desenvolvimento do fígado^(1, 23).

Sobre a relação esplenossomática, observou-se que nos animais do grupo II, que foram submetidos à LPVP, houve aumento significativo do tamanho do baço em comparação com os animais do grupo I. A esplenomegalia ocorre em resposta ao aumento no volume de sangue na área esplâncica devido à obstrução do sistema portal, o baço atua como um vaso sanguíneo principal^(24, 25, 26).

O DB aumentou ligeiramente no Grupo II, porém sem diferença significativa. O prazo de 15 dias para reoperação dos animais é considerada suficiente para a avaliação das repercussões da LPVP, e no trabalho de outros autores, que usam o mesmo modelo com intervalos de 15 e 30 dias, não havia diferença de tamanho do baço significativa em intervalos de tempo diferentes⁽²⁷⁾. Em um trabalho feito por Win *et al*, observou-se um aumento estatisticamente significativo de duas vezes o tamanho do baço⁽²⁸⁾.

Neste estudo, não se observou diferença entre os grupos na CP. Possíveis interferências, no entanto, devem ser consideradas na CP (anticoagulante, agregação plaquetária, método de análise). A trombocitopenia pode ser associada com o sequestro de plaquetas pelo baço devido ao aumento do fluxo de sangue, devido a mecanismos ou imuno-mediados ou em casos de cirrose por uma baixa produção de trombopoietina ^(10, 13, 29, 30).

A razão entre tamanho do baço e a CP permite a identificação do grau de trombocitopenia que é provavelmente o resultado de hiperesplenismo. Para pensar sobre o custo, a avaliação semestral da relação não leva ao aumento dos gastos no tratamento de pacientes com cirrose hepática. Neste estudo, não foi possível estabelecer um limite de corte para a razão CP/DB para o modelo LPVP.

A CP é avaliada rotineiramente, e o ultrassom abdominal é geralmente realizado a cada seis meses para a monitorização do carcinoma hepatocelular e a medida do diâmetro bipolar é tecnicamente fácil de ser realizada e, principalmente, na prática, a relação é fácil de calcular ^(11, 31). Observando os resultados de outros estudos, utilizando a razão CP/DB, os pacientes sem as varizes gastroesofágicas são identificados de forma segura um grande número de pacientes que as possuem. Este método pode ser aplicado como parte da investigação diagnóstica dos pacientes cirróticos, com o objetivo principal de reduzir o número de EGD pensando principalmente sobre o custo e o desconforto que envolvem a realização deste procedimento ^(10, 11, 31).

Este estudo concluiu que não existe diferença significativa na relação CP/DB entre o Grupo I em relação ao Grupo II, o que demonstra que este modelo não foi eficiente para avaliar esses parâmetros.

REFERÊNCIAS

- (1) Sherlock S, Dooley J. Diseases of the liver and Biliary system. 11 ed, New York: ed. Blackwell.Scientific Production; 2002.
- (2) Bosch J, Abraldes JG, e Groszmann R. Current management of portal hypertension. *J Hepatol.* 2003; 38 (1):54-68.
- (3) Bosch J, Pizcueta P, Feu F, Fernández M, García-Pagán JC. Pathophysiology of portal hypertension. *Gastroenterol Clin North Am.* 1992; 21(1):1-14.
- (4) Abraldes JG, Pasarin M, García-Pagán JC. Animal models of portal hypertension. *World J Gastroenterol.* 2006; 12 (41): 6577-84.
- (5) Bosch, J, Garcia-Pagán JC, Berzigotti A, Abraldes JG. Measurement of portal pressure and its role in the management of chronic liver disease. *Semin Liver Dis.* 2006; 26 (4): 348-62.
- (6) Bhathal PS, Grossman HJ. Reduction of the increased portal vascular resistance of the isolated perfused cirrhotic rat liver by vasodilators. *J Hepatol.* 1985; 1 (4): 325-37.
- (7) Moreira AJ, Fraga C, Alonso M, Collado PS, Zettler C, Marroni C, Marroni N, González-Gallego J. Quercetin prevents oxidative stress and NF-kappaB activation in gastric mucosa of portal hypertensive rats. *Biochem Pharmacol.* 2004; 68: 1939-1946.
- (8) Reichen J, Lebec D. The future treatment of portal hypertension. *Best Pract Res ClinGastroenterol.* 2007; 21(1):191-202.
- (9) Wright AS, Rikkers LF. Current Management of Portal Hypertension. *J Gastrointest Surg.* 2005 ;9 (7): 992–1005.
- (10) Jasmins L. Rastreo de varizes esofágicas em doentes com hipertensão portal: Haverá lugar para um método não endoscópico? *J Port Gastreterol.* 2012; 19(1): 10-11.
- (11) Giannini EG, Zaman A, Kreil A, Floreani A, Dulbecco P, Testa E, Sohaey R, et al. Platelet Count/ spleen diameter ratio for noninvasive diagnosis of esophageal varices: results of a multicenter, prospective, validation study. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101 (11):2511-9.
- (12) Dittrich S, Mattos AA, Cheinquer H, Araujo FB. Correlação entre a contagem de plaquetas no sangue e o gradiente de pressão venosa hepática em pacientes cirróticos. *Arq. Gastroenterol.* 2005; 42 (1): 35-40.
- (13) Treiber G, Csepregi A, Malfertheiner P. The pathophysiology of portal hypertension. *Dig Dis* 2005; 23: 6-10.
- (14) Castera L, Pinzani M, Bosch J. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol.* 2012; 56 (3):696-703.

- (15) Giannini EG, Botta F, Borro P, Risso P, Romagnoli P, Fasoli A, et al. Platelet count/spleen diameter ratio: proposal and validation of a non-invasive parameter to predict the presence of esophageal varices in patients with liver cirrhosis. *Gut*. 2003; 52:1200-1205.
- (16) Sikuler E, Kravetz D e Groszmann RJ. Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. *Am J Gastrointest Liver Physiol*. 1985; 248: G618- G625.
- (17) Casadevall M, Piqué JM, Cirera I, Goldin E, Elizalde JI, Panés J, Martínez-Cuesta MA, Bosch J, Terés J, Rodés J. Involvement of nitric oxide and prostaglandins in gastric mucosal hyperemia of portal-hypertensive anesthetized rats. *Hepatology*. 1993; 18:628–634.
- (18) Afonso M, Pinto J, Veloso R, Freitas T, Carvalho J, Fraga J. Manifestations of severe portal hypertension: Validation of a non-invasive score in cirrhotic patients. *J Port Gastrenterol*. 2012; 19(1): 21-25.
- (19) Min YW, Bae SY, Gwak GY, Paik YH, Choi MS, Lee JH, et al. A clinical predictor of varices and portal hypertensive gastropathy in patients with chronic liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2012; 18: 178-84.
- (20) Thomopoulos K, Theocharis G, Mimidis K, Lampropoulou-Karatza Ch, Alexandridis E, Nikolopoulou V. Improved survival of patients presenting with acute variceal bleeding. Prognostic indicators of short- and long-term mortality. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 899-904.
- (21) Barikbin R, Hekmatnia A, Omidifar N, *et al*. Prediction severity of esophageal varices: a new cutoff point for Platelet count/spleen diameter ratio. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2010; 56:1-6.
- (22) Berzigotti A, Seijo 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):102-111.
- (23) Wilkins RA, Nunnerley, HB. *Imaging of the liver, pancreas and spleen*. 1 ed. New York: ed. Blackwell scientific publications, 1990.
- (24) Jannini DS, Oliveira IRS, Widman A, Ianhez LE, Cerri GG. Aspectos morfológicos e hemodinâmicos do baço em indivíduos normais: estudo por ultra-som Doppler. *Radiol Bras*. 2003; 36 (4): 213-218.
- (25) Blendis L, Wong F. The hyperdynamic circulation in cirrhosis: an overview. *Pharmacol. Therapeu*, 2001; 89: 221-231.
- (26) Sarin SK, Agarwal, MD. Extrahepatic portal vein obstruction. *Seminars in liver disease*. 2002; 22 (1): 43-58.
- (27) Silva AR, Kriguer-Júnior RJ, Serigiolle LC, Gomes HMP, Rodrigues DAB, Leme PLS. Aumento do volume do baço em modelo experimental de hipertensão portal pré-hepática em ratos. *ABCD, Arq. Bras. Cir. Dig*. 2013;26 (3): 206-212.

(28) Pockros PJ, Duchini A, McMillan R, Nyberg LM, McHutchison J, Viernes E. Immune thrombocytopenic purpura in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J. Gastroenterol.* 2002; 97(8):2040-5.

(29) Giannini EG. Review article: thrombocytopenia in chronic liver disease and pharmacologic treatment options. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2006;23(8):1055-65.

(30) Martins RN, Cleve R, Gouveia EM, Ghosn NB, Herman P. Correlação entre esplenomegalia e plaquetopenia na forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica. *ABCD, Arq. bras. cir. dig.* 2010; 23 (4): 254-258.