

MARCELO FERNANDO RONSONI

**NÍVEIS SÉRICOS DE IGF-I E IGFBP-3 EM PACIENTES
ADMITIDOS POR COMPLICAÇÕES DA CIRROSE HEPÁTICA**

Dissertação apresentada ao Programa do Mestrado Profissional associado à Residência Médica, da Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do título de Mestre Profissional em Cuidados Intensivos e Paliativos.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon.

**FLORIANÓPOLIS, SC
2012**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Ronsoni, Marcelo Fernando
NÍVEIS SÉRICOS DE IGF-I E IGFBP-3 EM PACIENTES ADMITIDOS
POR COMPLICAÇÕES DA CIRROSE HEPÁTICA [dissertação] / Marcelo
Fernando Ronsoni ; orientador, Leonardo de Lucca Schiavon
- Florianópolis, SC, 2012.
71 p. ; 21cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas.

Inclui referências

1. Ciências Médicas. 2. Fator de Crescimento Insulin-
Like I. 3. Proteína 3 de Ligação ao Fator de Crescimento
Insulin-Like. 4. Cirrose hepática. I. Schiavon, Leonardo
de Lucca . II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amigos, Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon e Prof^ª Dr^ª. Janaína Luz Narciso Schiavon, por terem acreditado em mim e terem buscado junto à organização do Mestrado Profissionalizante a oportunidade de que eu, residente do Serviço de Endocrinologia, pudesse realizar meu trabalho de mestrado junto aos demais serviços que estavam incluídos nesse novo projeto. Além disso, agradeço ao Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon, meu orientador, pela presença constante em todo o processo de execução deste trabalho, pela confiança, incentivo e auxílio.

Aos professores do Mestrado Profissionalizante pelos ensinamentos e auxílio nessa importante etapa. Aos colegas do mestrado César Lazzaroto, Eduardo Berbigier, Leonardo Staub e Renata Viana pela amizade e parceria. Aos colegas do Núcleo de Estudos em Gastroenterologia e Hepatologia da UFSC (NEGH) pelo trabalho em equipe realizado neste último ano. Aos colegas Leonardo Fayad e Mariana Costa Silva pelo auxílio na coleta dos dados e inclusão dos pacientes.

Aos colegas e preceptores do Serviço de Endocrinologia do HU-UFSC por todo apoio, ensinamento e companheirismo nesses últimos dois anos. Ao colega Endocrinologista Alexandre Hohl, pela amizade, confiança e incentivo em toda essa formação. Ao Laboratório de Biologia Molecular e Microbactérias, liderado pelo Prof^ª. Dr^ª. Maria Luiza Bazzo, pela realização das dosagens laboratoriais e armazenamento das amostras de plasma.

Aos pacientes e seus familiares que consentiram em participar da pesquisa. O auxílio de todos foi imprescindível para este projeto.

Aos meus pais que sempre apoiaram os meus projetos, souberam entender a ausência nesse último ano e que, mesmo com a distância, sempre se fizeram presente. Ao meu irmão que nunca mediu esforços para incentivar os novos desafios, que sempre me orientou e me ouviu nas horas mais difíceis.

Esta conquista é de todos nós!

RESUMO

Introdução: IGF-I e IGFBP-3 fazem parte do sistema IGF e, por terem síntese predominantemente hepática, parecem se correlacionar com a intensidade da disfunção hepática.

Objetivos: Estudar o significado dos níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 em pacientes admitidos por complicações da cirrose hepática.

Material e Métodos: Estudo transversal que incluiu pacientes cirróticos admitidos por complicação da doença. Os níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 foram determinados por quimioluminescência. A correlação entre as variáveis numéricas foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman e as demais comparações foram feitas pelo teste Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis.

Resultados: Foram incluídos 74 pacientes com média de idade de 53,1 ± 11,6 anos, 73% homens. Os níveis de IGF-I se correlacionaram positivamente com IGFBP-3 e albumina e negativamente com a pontuação total do escore de Child-Pugh, escore de MELD, creatinina, RNI e razão-TTPA. Os níveis de IGFBP-3 se correlacionaram positivamente com IGF-I e albumina e negativamente com a pontuação total do escore Child-Pugh, escore de MELD, creatinina, RNI, bilirrubina total e razão-TTPA. Níveis significativamente mais baixos de IGF-I e IGFBP-3 foram observados em pacientes com maiores valores de MELD e estádios mais elevados da classificação de Child-Pugh ($P < 0,05$).

Conclusões: Em pacientes cirróticos admitidos por complicações da doença, níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 se associaram a variáveis relacionadas à disfunção hepática e doença hepática mais avançada. Os níveis destes marcadores parecem sofrer pouca interferência de outras variáveis clínicas e laboratoriais, refletindo, portanto majoritariamente a capacidade de síntese hepática.

Palavras Chave: Fator de Crescimento Insulin-Like I, Proteína 3 de Ligação ao Fator de Crescimento Insulin-Like, Cirrose hepática.

ABSTRACT

Introduction: IGF-I and IGFBP-3 are part of the IGF system and, due to its predominantly hepatic synthesis, it seem to correlate with the intensity of hepatic dysfunction.

Objectives: To investigate the significance IGF-I and IGFBP-3 serum levels in patients admitted to the hospital for complications of liver cirrhosis.

Material and Methods: Cross-sectional study that included cirrhotic patients admitted to the hospital due to complications of the disease. IGF-I and IGFBP-3 serum levels were measured by chemiluminescence. The correlations between the numerical variables were evaluated by Spearman's correlation coefficient, and the additional comparisons were made by the Mann-Whitney U-test or the Kruskal-Wallis test as appropriate.

Results: Seventy-four patients with a mean age of 53.1 ± 11.6 years, 73% of which males, were included in the study. IGF-I levels were positively correlated with IGFBP-3 and albumin and negatively correlated with Child-Pugh's total score, MELD score, creatinine, INR, and aPTT ratio. IGFBP-3 levels were positively correlated with IGF-I and albumin and negatively correlated with Child-Pugh's total score, MELD score, creatinine, INR, total bilirubin, and aPTT ratio. Significantly lower scores of IGF-I and IGFBP-3 were observed in patients with higher MELD values and higher Child-Pugh classes ($P < 0.05$).

Conclusions: In cirrhotic patients admitted to the hospital due to complications of the disease, IGF-I and IGFBP-3 serum levels were associated with variables related to liver dysfunction and to more advanced liver disease. The levels of these markers seem to undergo little influence from other clinical and laboratory variables, therefore mainly reflecting the hepatic functional status.

Keywords: Insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor-binding protein-3, liver cirrhosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TABELA 1 - Características da casuística	14
TABELA 2 - Coefficiente de correlação de Spearman entre os marcadores IGF-I e IGFBP-3 e as variáveis numéricas avaliadas	16
TABELA 3 - Níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 de acordo com a Classificação de Child-Pugh.....	18
TABELA 4 - Níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 de acordo com os valores de MELD categorizado em tercís	19
FIGURA 1 - Níveis séricos de IGF-I (Fig. 1A) e IGFBP-3 (Fig. 1B) de acordo com a Classificação de Child-Pugh.....	18
FIGURA 2 - Níveis séricos de IGF-I (Fig. 2A) e IGFBP-3 (Fig. 2B) de acordo com os valores de MELD categorizado em tercís.....	19

LISTA DE ABREVEATURAS

DP	Desvio Padrão
GH	Hormônio de Crescimento
HBV	Vírus da Hepatite B
HCV	Vírus da Hepatite C
HDA	Hemorragia Digestiva Alta
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IGF	Fator de Crescimento do tipo Insulina
IGF-I	Fator de Crescimento do tipo Insulina I
IGFBP-3	Proteína-3 de Ligação do Fator de Crescimento do tipo Insulina
MELD	<i>Model for End-Stage Liver Disease</i>
PBE	Peritonite Bacteriana Espontânea
Razão-TTPA	Razão entre o TTPA do Paciente e do Controle
RNI	Relação Normatizada Internacional
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TTPA	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado

SUMÁRIO

ARTIGO CIENTÍFICO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
3. RESULTADOS.....	14
4. DISCUSSÃO.....	20
5. CONCLUSÃO	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

ANEXO 1 -

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	28
--	----

APÊNDICE A -

Protocolo de coleta	31
---------------------------	----

APÊNDICE B -

Certificado de aprovação do Comitê de Ética em pesquisa com seres humanos.....	34
--	----

APÊNDICE C -

Comprovante de submissão do artigo científico.....	35
--	----

APÊNDICE D -

Artigo Científico (versão Língua Inglesa).....	36
--	----

ARTIGO CIENTÍFICO

Título: Níveis Séricos de IGF-I e IGFBP-3 em Pacientes Admitidos por Complicações da Cirrose Hepática

Artigo submetido à revista *Liver International* (Apêndice C)

1. INTRODUÇÃO

A cirrose é o estágio final de várias doenças hepáticas crônicas e é caracterizada por uma doença difusa, com fibrose, necrose e nódulos de regeneração. Diversas manifestações clínicas podem ser observadas em decorrência da hipertensão portal e do prejuízo na capacidade de síntese hepática. Em geral, a história natural da cirrose é caracterizada por uma fase assintomática, denominada compensada, seguida de uma fase rapidamente progressiva caracterizada pela ocorrência de complicações específicas, denominada cirrose descompensada (1). A transição de formas compensadas da doença para cirrose descompensada ocorre em uma taxa de 5 a 7% ao ano (2). As formas descompensadas da cirrose estão associadas a um prognóstico ruim, com sobrevida mediana de dois anos (2).

Pacientes com cirrose apresentam, caracteristicamente, um grande espectro de distúrbios metabólicos, incluindo desnutrição, resistência insulínica, osteopenia e hipogonadismo (3-5). Essas complicações são, ao menos em parte, relacionadas a alterações no eixo GH-IGF (hormônio de crescimento - fatores de crescimento do tipo insulina) observadas em decorrência da doença hepática. O hormônio do crescimento (GH) possui várias ações no organismo, incluindo efeitos sobre os ossos, cartilagem, tecido adiposo, músculo, coração, sistema imunológico e outros (6-7). O GH é liberado a partir da hipófise anterior e se liga principalmente a seus receptores no fígado, estimulando a síntese dos componentes do sistema IGF, principalmente o fator de crescimento do tipo insulina I (IGF-I) (8). O sistema IGF atua no anabolismo e proliferação celular e é composto de dois fatores de crescimento, dois receptores e sete proteínas de ligação do tipo insulina (IGFBP) (8). A IGFBP-3 é a proteína de ligação mais importante do sistema IGF e tem produção predominantemente hepática, sintetizada nas células de Kupffer (9-10).

Como reflexo da diminuição capacidade de síntese hepática, níveis séricos mais baixos de IGF-I e IGFBP-3 têm sido demonstrados em pacientes portadores de cirrose quando comparados a controles saudáveis (7, 11). Esses marcadores também parecem se relacionar à intensidade da disfunção hepática, já que níveis reduzidos foram descritos em estádios mais avançados da cirrose (7, 11). Desta forma, estes testes parecem representar ferramentas promissoras na avaliação de portadores de cirrose hepática. Novos marcadores de reserva funcional hepática seriam especialmente úteis na avaliação de indivíduos admitidos por complicações da cirrose, que apresentam

elevada mortalidade e nos quais decisões terapêuticas rápidas são fundamentais. O objetivo do presente estudo foi estudar os níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 em pacientes admitidos por complicações da cirrose hepática.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Pacientes:

Estudo observacional transversal que incluiu indivíduos maiores de 18 anos com diagnóstico de cirrose hepática admitidos na Unidade de Emergência do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina no período entre janeiro e novembro de 2011 por complicações da doença (ascite, encefalopatia hepática, hemorragia digestiva alta secundária à hipertensão portal e síndrome hepatorenal). Pacientes cirróticos descompensados internados por quadros infecciosos também foram considerados elegíveis. Foram excluídos os indivíduos com internações para procedimentos eletivos; internações não relacionadas a complicações da cirrose hepática; diagnóstico duvidoso de cirrose hepática e recusa ou incapacidade do paciente ou responsável de compreender os termos do TCLE (Anexo 1).

O diagnóstico de cirrose hepática foi estabelecido histologicamente (quando disponível), ou clinicamente (pela combinação de achados de imagem, laboratoriais e clínicos, além de evidência de hipertensão portal). No caso de mais de uma internação no período de estudo, foram utilizados apenas os dados da última admissão hospitalar.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Procedimentos:

Os pacientes foram avaliados nas primeiras 24 horas de internação por um dos pesquisadores envolvidos e as seguintes variáveis clínicas foram coletadas: idade, sexo, raça, história de tabagismo e etilismo atual (definido como qualquer consumo etílico no mês anterior à internação), etiologia da cirrose, descompensações prévias e presença de ascite. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação laboratorial no momento da internação e os seguintes exames foram estudados: sódio, creatinina, albumina, bilirrubina total, relação normatizada internacional (RNI), razão entre o tempo de tromboplastina parcial ativado do paciente e do controle (razão-TTPA). Uma alíquota de soro das amostras coletadas no momento da internação foi estocada a -20° C para realização dos exames específicos deste estudo. Todos os indivíduos com suspeita de infecção, de acordo com o julgamento

clínico do médico assistente, foram submetidos à investigação específica na admissão.

A encefalopatia hepática foi graduada de acordo com os critérios de West-Haven (12) e a gravidade da doença hepática na admissão foi estimada por meio da Classificação de Child-Pugh (13). Além disso, foi utilizado o modelo MELD calculado com os exames laboratoriais do dia da admissão de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{MELD} = 10 \times (0,957 \text{ Ln}_{\text{creatinina[mg/dl]}} + 0,378 \text{ Ln}_{\text{bilirubina total[mg/dl]}} + 1,12 \text{ Ln}_{\text{RNI}} + 0,643) \quad (14)$$

Determinação dos níveis de IGF-I e IGFBP-3:

As dosagens de IGF-I e IGFBP-3 foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário em amostras de soro congeladas a -20° C coletadas no momento da admissão. Os níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 foram dosados por imunoquimioluminescência (Immulite® 2000, Diagnostic Products Corp., Los Angeles, CA). A sensibilidade analítica do método é de 25 ng/dL para IGF-I e de 0,50 mcg/mL para IGFBP-3.

Análise Estatística:

As variáveis foram descritas em números absolutos e proporções no caso de variáveis categóricas. Foi efetuado o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade da distribuição das variáveis. A correlação entre variáveis numéricas foi investigada pelo cálculo do coeficiente de correlação de Spearman. Para comparação das dos níveis de IGF-I e IGFBP-3 de acordo com a Classificação de Child-Pugh e as diferentes categorias de MELD foi inicialmente utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste Mann-Whitney para comparação dos subgrupos em pares. As demais comparações foram realizadas por meio do teste de Mann-Whitney. Valores de P menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Todos os testes utilizados foram executados pelo programa estatístico SPSS, versão 17.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

3. RESULTADOS

Características da Casuística:

Entre janeiro e novembro de 2011, 101 admissões por complicações da cirrose hepática foram realizadas. Quando avaliados apenas pela internação mais recente, um total de 74 indivíduos compôs a amostra final do presente estudo.

A tabela 1 exibe as características da amostra estudada. A média de idade foi de $53,07 \pm 11,56$ anos, houve predominância do sexo masculino (73,0%) e 82% eram da raça branca. História de descompensação anterior da cirrose foi observada em 65,7% da amostra e 40,5% dos indivíduos referiram consumo etílico nos últimos 30 dias. Com relação à etiologia da cirrose, causa viral foi observada em 47,3% dos casos (infecção pelo HBV em 5,4% e pelo HCV em 41,9%), alcoólica em 35,1% e outras causas menos comuns em 17,6% da amostra.

No momento da admissão, hemorragia digestiva alta foi observada em 48,6% dos casos, ascite em 45,9%, encefalopatia hepática em 59,5% e peritonite bacteriana espontânea em 10,8%. Grau de encefalopatia ≥ 3 foi estava presente em 14,9% dos pacientes. Quando avaliados quanto à classificação de Child-Pugh, 12% foram classificados como estágio A, 50% estágio B e 38% estágio C. A pontuação média do MELD foi de $16,07 \pm 6,98$ (mediana de 14).

Tabela 1. Características da casuística

Variáveis	Pacientes incluídos
Idade (anos), média \pm DP (mediana)	53,07 \pm 11,56
Sexo masculino, n (%)	54 (73,0)
Raça branca, n (%)	61 (82,0)
Etilismo atual, n (%)	30 (40,5)
Causa da Cirrose, n (%)	
Álcool	26 (35,1)
Vírus	35 (47,3)
Outros	13 (17,6)
Descompensações prévias, n (%)	46 (65,7)
Descompensação atual, n (%)	
Ascite	34 (45,9)
PBE	8 (10,8)
Encefalopatia	44 (59,5)

HDA	36 (48,6)
Encefalopatia Grau ≥ 3 , n (%)	11 (14,9)
Infecção na admissão, n (%)	20 (27,4)
Pontuação total Child-Pugh, média \pm DP	8,96 \pm 2,15 (9,0)
Classificação de Child-Pugh, n (%)	
A	9 (12)
B	36 (50)
C	27 (38)
MELD, média \pm DP (mediana)	16,07 \pm 6,98 (14,0)
Sódio (mEq/L), média \pm DP (mediana)	134,14 \pm 4,69
Creatinina (mg/dL), média \pm DP (mediana)	1,43 \pm 1,09 (1,0)
Albumina (g/dL), média \pm DP (mediana)	2,34 \pm 0,71 (2,3)
Bilirrubina Total (mg/dL), média \pm DP	3,65 \pm 6,10 (1,6)
RNI, média \pm DP (mediana)	1,45 \pm 0,34 (1,4)
Razão-TTPA, média \pm DP (mediana)	1,42 \pm 0,65 (1,2)
IGF-I (ng/dL), média \pm DP (mediana)	41,57 \pm 32,41
IGFBP-3 (mcg/mL), média \pm DP (mediana)	1,02 \pm 0,67 (0,88)

PBE = peritonite bacteriana espontânea, HDA = hemorragia digestiva alta, MELD = Model for End-Stage Liver Disease, RNI = relação normatizada internacional, Razão-TTPA = relação entre o tempo de tromboplastina parcial ativado do paciente e do controle, IGF-I = Fator de Crescimento do tipo Insulina I, IGFBP-3 = Proteína-3 de Ligação do Fator de Crescimento do tipo Insulina.

Relação entre os níveis de IGF-I e IGFBP-3 e as variáveis estudadas:

Detalhes das variáveis laboratoriais são exibidos na tabela 1. Os valores médios de IGF-I observados foram de 41,57 \pm 32,41 ng/dL (mediana de 28,5 ng/dL) e os níveis de IGFBP-3 foram de 1,02 \pm 0,67 mcg/mL (mediana de 0,88 mcg/mL).

Quando estudada a correlação de Spearman entre os níveis de IGF-I na admissão e as demais variáveis numéricas, foi observada uma correlação positiva entre este marcador e os níveis de IGFBP-3 ($r = 0,678$; $P < 0,001$) e albumina ($r = 0,393$; $P = 0,001$). Correlação negativa foi observada entre os valores de IGF-I e a pontuação total do escore de Child-Pugh ($r = -0,408$; $P < 0,001$), escore de MELD ($r = -0,388$; $P = 0,001$), creatinina ($r = -0,284$; $P = 0,015$), RNI ($r = -0,460$; $P < 0,001$) e relação-TTPA ($r = -0,426$; $P < 0,001$). Não foram observadas correlações significativas entre IGF-I e idade, sódio e bilirrubina total.

Em relação ao IGFBP-3, foi observada uma correlação positiva entre este marcador e os níveis de IGF-I ($r = 0,678$; $P < 0,001$) e albumina ($r = 0,471$; $P < 0,001$). Correlação negativa foi observada entre os valores de IGFBP-3 e a pontuação total do escore Child-Pugh ($r = -0,498$; $P < 0,001$), escore de MELD ($r = -0,470$; $P < 0,001$), creatinina ($r = -0,313$; $p = 0,007$), RNI ($r = -0,554$; $p < 0,001$), bilirrubina total ($r = -0,310$; $p = 0,008$) e relação de TTPA ($r = -0,294$; $P = 0,014$). Não foram observadas correlações significativas entre IGFBP-3 e idade e sódio. A tabela 2 demonstra os coeficientes de correlação entre os marcadores e as variáveis numéricas.

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Spearman entre os marcadores IGF-I e IGFBP-3 e as variáveis numéricas avaliadas

Variáveis	r	P
<i>IGF-I</i>		
Idade	-0,077	0,516
Pontuação total Child-Pugh	-0,408	< 0,001
MELD	-0,388	0,001
Sódio	0,059	0,623
Creatinina	-0,284	0,015
Albumina	0,393	0,001
Bilirrubina total	-0,197	0,094
RNI	-0,460	< 0,001
Razão-TTPA	-0,426	< 0,001
IGFBP-3	0,678	< 0,001
<i>IGFBP-3</i>		
Idade	-0,056	0,637
Pontuação total Child-Pugh	-0,498	< 0,001
MELD	-0,470	< 0,001
Sódio	0,062	0,607
Creatinina	-0,313	0,007
Albumina	0,471	< 0,001
Bilirrubina total	-0,310	0,008
RNI	-0,554	< 0,001
Razão-TTPA	-0,294	0,014
IGF-I	0,678	< 0,001

MELD = Model for End-Stage Liver Disease, RNI = relação normatizada internacional, Razão-TTPA = relação entre o tempo de tromboplastina parcial ativado do paciente e do controle, IGF-I = Fator de Crescimento do tipo Insulina I, IGFBP-3 = Proteína-3 de Ligação do Fator de Crescimento do tipo Insulina.

Quando os níveis de IGF-I foram avaliados especificamente de acordo com as complicações da cirrose observadas na admissão, não foram notadas associações com a presença de ascite ou hemorragia digestiva alta ($P > 0,05$). Pacientes com encefalopatia hepática na admissão apresentavam níveis mais baixos de IGF-I quando comparados aos demais (25,0 vs. 33,9 ng/dL; $P = 0,037$). Com relação aos níveis de IGFBP-3, pacientes com ascite à admissão apresentaram medianas significativamente mais baixas deste marcador quando comparados aos demais (0,65 vs. 1,08 mcg/mL; $P = 0,003$). De forma semelhante, menor mediana de IGFBP-3 também foi observada naqueles pacientes com encefalopatia hepática à admissão (0,78 vs. 1,18 mcg/mL; $P = 0,013$). Não foram observadas diferenças quanto aos níveis de IGFBP-3 quando os indivíduos com hemorragia digestiva alta foram comparados com os demais.

As dosagens de IGF-I e IGFBP-3 também foram relacionadas a outras variáveis clínicas de interesse. Não foram observadas diferenças nos valores de IGF-I e de IGFBP-3 quando os indivíduos foram comparados com relação ao sexo, etiologia da cirrose (viral vs. não-viral), diagnóstico de diabetes mellitus, tabagismo atual e etilismo atual. Indivíduos com diagnóstico de infecção na admissão apresentaram menor mediana de IGFBP-3 (0,72 vs. 1,10 mcg/mL; $P = 0,009$) e uma tendência a menor mediana de IGF-I (25,0 vs. 31,7 ng/dL; $P = 0,057$) quando comparados aos demais.

Níveis de IGF-I e IGFBP-3 em relação ao grau de disfunção hepática:

A tabela 3 exibe os níveis de IGF-I e IGFBP-3 de acordo com a classificação de Child-Pugh. Níveis significativamente mais baixos de IGF-I foram observados nos pacientes nos estádios mais elevados da classificação de Child-Pugh ($P = 0,001$). Quando foi realizada a comparação entre os diferentes subgrupos, foram observados níveis mais elevados de IGF-I naqueles classificados como Child-Pugh A em relação aos classificados como B ($P = 0,002$) ou C ($P = 0,001$). Não foram observadas diferenças na comparação dos níveis de IGF-I entre os pacientes Child-Pugh B e C ($P = 0,151$) (figura 1A). De forma semelhante, indivíduos com estádios mais elevados da classificação de Child-Pugh apresentaram menores valores de IGFBP-3 quando comparados aos demais ($P < 0,001$). Na comparação dos subgrupos, indivíduos classificados como Child-Pugh A apresentaram níveis

significativamente mais elevados de IGFBP-3 em relação aos considerados Child-Pugh B ($P = 0,006$) ou C ($P < 0,001$). Os níveis de IGFBP-3 também foram mais altos entre os classificados como Child-Pugh B em relação aos Child-Pugh C ($P = 0,013$) (figura 1B).

Tabela 03. Níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 de acordo com a Classificação de Child-Pugh

	Child A (n = 9)	Child B (n = 36)	Child C (n = 27)	P
IGF-I (mediana, ng/dL)	73,30	28,70	25,00	0,001*
IGFBP-3 (mediana, mcg/mL)	1,57	0,89	0,68	< 0,001*

* Teste de Kruskal-Wallis

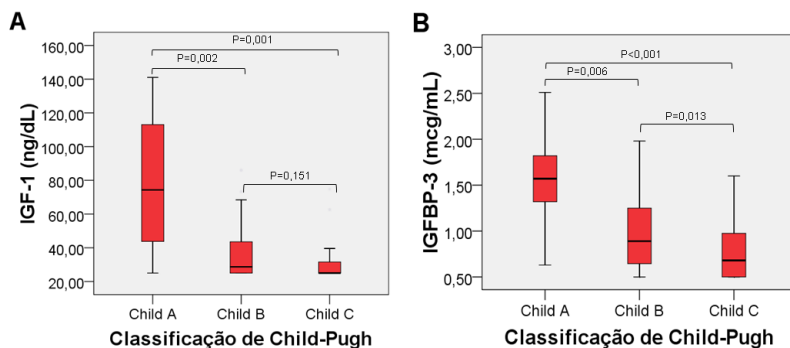


Figura 1. Níveis séricos de IGF-I (Fig. 1A) e de IGFBP-3 (Fig. 1B) de acordo com a Classificação de Child-Pugh.

A tabela 4 exibe os níveis de IGF-I e IGFBP-3 de acordo com o MELD categorizado em tercís. Foram observadas concentrações de IGF-I significativamente mais baixas nos pacientes com maiores valores de MELD ($P = 0,004$) (figura 2A). Quando avaliados conforme a categoria de MELD, foram notados níveis significativamente mais elevados de IGF-I no subgrupo com MELD $\leq 11,4$ em relação aos pacientes com MELD entre 11,4 e 18,1 ($P = 0,011$) ou $\geq 18,1$ ($P = 0,002$). Os níveis de IGF-I não diferiram na comparação dos pacientes com MELD entre 11,4 e 18,1 em relação àqueles com valores $\geq 18,1$ ($P = 0,450$) (Figura 2A). Resultados semelhantes foram obtidos para os níveis de IGFBP-3 que estavam significativamente reduzidos nos

indivíduos com maiores valores de MELD ($P < 0,001$). Na comparação entre os subgrupos, indivíduos classificados no tercil inferior de MELD apresentaram maiores concentrações de IGFBP-3 em relação aos classificados no tercil intermediário ($P = 0,001$) ou superior ($P < 0,001$). Não foram observadas diferenças nos níveis de IGFBP-3 entre os indivíduos classificados no tercil intermediário e aqueles do tercil superior ($P = 0,183$) (figura 2B).

Tabela 04. Níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 de acordo com os valores de MELD categorizado em tercís

	MELD ≤ 11,4	MELD 11,4 - 18,1	MELD ≥ 18,1	P
IGF-I (mediana, ng/dL)	44,40	25,90	25,00	0,004*
IGFBP-3 (mediana, mcg/mL)	1,29	0,78	0,62	< 0,001*

* Teste de Kruskal-Wallis

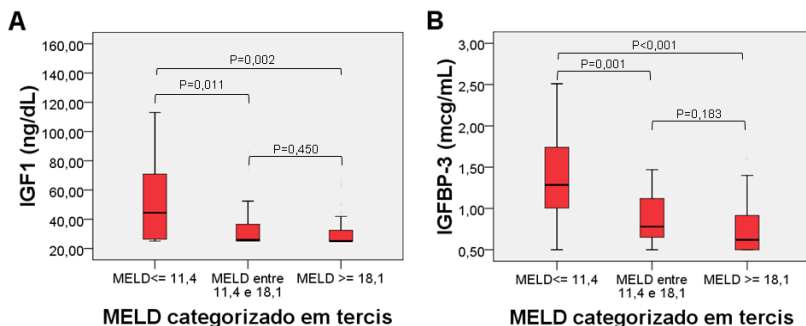


Figura 2. Níveis séricos de IGF-I (Fig. 2A) e de IGFBP-3 (Fig. 2B) de acordo com os valores de MELD categorizados em tercís.

4. DISCUSSÃO

A abordagem e o manejo do paciente cirrótico em unidades de emergência são dificultados não só pela heterogeneidade da própria doença hepática de base, como também pelas múltiplas complicações habitualmente observadas. Uma íntima relação entre a intensidade da disfunção hepática e o prognóstico no curto e longo prazo dos portadores de cirrose é descrita (1). Neste sentido, o reconhecimento de marcadores de reserva funcional hepática, especialmente testes laboratoriais objetivos, poderia permitir uma avaliação mais adequada destes indivíduos em situações de urgência e emergência. Idealmente, estes testes deveriam ser de execução simples e rápida, estar amplamente disponíveis e sofrer pouca influência de outros fatores não relacionados à disfunção de síntese hepática.

O IGF-I é um peptídeo que funciona como mediador do GH e estimula o crescimento somático, atuando na resposta anabolizante sobre os tecidos. É sintetizado por múltiplas células do tipo mesenquimal, principalmente a nível hepático. O IGFBP-3 faz parte da família das proteínas de ligação do IGF-I apresentando alta afinidade pelo mesmo. Entre todas as proteínas de ligação circulantes é a mais abundante e circula em estado saturado, sofrendo a ação das mesmas variáveis que alteram as concentrações séricas de IGF-I (15-17). Devido à participação hepática no mecanismo de produção e ação do sistema IGF, as patologias que interferem no funcionamento hepático vão interferir na atividade e nos níveis séricos do IGF-I e de seus ligantes.

No presente estudo, os níveis séricos de IGF-I se correlacionaram com outras variáveis séricas já definidas na literatura como associadas direta ou indiretamente à intensidade da disfunção hepática, como albumina, RNI e creatinina. Resultados semelhantes foram observados em um estudo turco com 42 portadores de cirrose, no qual os níveis de IGF-I se correlacionaram positivamente com albumina e sódio, e negativamente com a creatinina sérica (7). A correlação negativa entre IGF-I e creatinina observada nos dois estudos provavelmente reflete a gravidade da cirrose e não alterações renais, já que a doença renal crônica tem sido associada a níveis mais elevados de IGF-I (18). Em outro estudo que investigou 34 pacientes em acompanhamento ambulatorial por cirrose, Donaghy et al. demonstraram uma correlação positiva entre IGF-I e albumina mas não com RNI (19). No entanto, este estudo incluiu um número relativamente pequeno de pacientes e com uma menor proporção de indivíduos

classificados como Child-Pugh B ou C, o que pode justificar as diferenças observadas.

Os níveis de IGF-I foram também avaliados de acordo com a classificação de Child-Pugh e o MELD. Níveis mais baixos deste marcador foram observados em indivíduos em estádios mais elevados da classificação de Child-Pugh ou com maiores valores de MELD. Resultados semelhantes foram observados em outros estudos em relação à classificação de Child-Pugh. Wu et al encontrou níveis significativamente mais baixos de IGF-I em cirróticos quando comparados ao grupo controle e, mais importante, entre os cirróticos, aqueles com disfunção hepática mais acentuada (Child-Pugh C) apresentaram as menores concentrações do marcador (11). Mais recentemente, Assy et al. demonstraram que portadores de cirrose em estádios mais avançados da classificação de Child-Pugh ou MELD não só apresentam menores níveis de IGF-I, mas também menor elevação deste peptídeo em resposta ao estímulo com GH (20). Além disso, os autores comprovaram que os níveis de IGF-I, sejam basais ou em resposta à administração de GH, parecem refletir a extensão da disfunção hepatocelular e não a intensidade da hipertensão portal ou o estado nutricional (20).

No presente estudo, foram estudados também os níveis de IGFBP-3 e foi observada correlação entre este marcador e variáveis relacionadas à função hepática como albumina, bilirrubina total, RNI e creatinina. Estes resultados estão de acordo com estudos prévios que avaliaram a correlação entre IGFBP-3 e variáveis associadas à reserva funcional hepática (7, 19, 21). Assim como discutido anteriormente para o IGF-I, é provável que a correlação observada entre os níveis de IGFBP-3 e a creatinina reflita a gravidade da doença hepática de base, uma vez que os níveis deste marcador não parecem ser influenciados pela função renal (22).

Quando os níveis de IGFBP-3 foram avaliados de acordo com a classificação de Child-Pugh e o MELD, foi observado que indivíduos com evidências de doença hepática mais avançada apresentaram concentrações mais baixas deste marcador. Resultados semelhantes foram reportados inicialmente por Donaghy et al. que ao investigar 35 portadores de cirrose hepática observou níveis mais reduzidos de IGFBP-3 em pacientes Child-Pugh C quando comparados aos demais (19). Após este estudo, outros autores publicaram resultados semelhantes, reforçando a hipótese de que as concentrações de IGFBP-3 parecem refletir a gravidade da doença hepática em cirróticos (7, 11, 23-25).

Os níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 podem ser influenciados por diversas patologias não relacionadas ao fígado, por características específicas de cada indivíduo e também por hábitos como tabagismo e etilismo (8). Apesar de nem todas as condições que poderiam potencialmente alterar os níveis séricos destes testes terem sido sistematicamente avaliadas, não foram observadas associações com variáveis como idade, sexo, tabagismo e etilismo. Estes achados sugerem que a influência de fatores extra-hepáticos parece ser pequena, oferecendo ainda mais suporte ao uso do IGF-I e IGFBP-3 na avaliação da capacidade de síntese hepática.

Foram observados níveis mais baixos de IGF-I e IGFBP-3 nos indivíduos com diagnóstico de infecção à admissão quando comparados aos demais. Poucos estudos avaliaram o efeito da infecção sobre os níveis destes marcadores. Hunninghake et al sugeriram, em um modelo experimental, a associação entre baixos níveis de IGF-I e maior taxa de translocação bacteriana (26). Outros autores têm sugerido relação entre níveis de IGF-I com doenças infecciosas crônicas, como a infecção pelo HIV (27). É provável que, no presente estudo, os níveis mais baixos de IGF-I e IGFBP-3 observados nos indivíduos com infecção na admissão reflitam meramente a maior incidência de complicações infecciosas em portadores de cirrose hepática mais avançada. De fato, ao avaliarmos a presença de infecção na admissão em relação à classificação de Child-Pugh, esta complicação foi mais comum nos estágios mais elevados quando comparados aos classificados como Child-Pugh A (dados não mostrados).

Os resultados apresentados neste artigo fazem parte de uma coorte de pacientes cirróticos que está em acompanhamento e apresentam algumas limitações que devem ser discutidas. O número relativamente pequeno de indivíduos incluídos pode limitar a interpretação dos resultados alcançados. No entanto, os estudos prévios que avaliaram os níveis de IGF-I e IGFBP-3 incluíram um número menor de pacientes e foram realizados fora do contexto das descompensações agudas. Este estudo é o primeiro a investigar pacientes admitidos em serviço de emergência por complicações da cirrose e, provavelmente, a análise subsequente da coorte trará outros resultados importantes. Outra limitação que devemos destacar é a sensibilidade do teste usado para investigação dos níveis IGF-I. Apesar de a metodologia utilizada ser amplamente aceita e validada, a sensibilidade analítica deste método se mostrou baixa na avaliação de indivíduos portadores de cirrose hepática, uma vez que grande proporção destes (36%) apresentou valores abaixo do limite de detecção.

Desta forma, futuros estudos devem utilizar técnicas mais sensíveis com a finalidade de refinar as análises e permitir a investigação da relação entre os níveis de IGF-I e o prognóstico.

5. CONCLUSÕES

Com base nesses dados, é possível concluir que os níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 se associaram a variáveis relacionadas à disfunção hepática e doença hepática mais avançada em pacientes cirróticos admitidos por complicações da doença. Os níveis destes marcadores parecem sofrer pouca interferência de outras variáveis clínicas e laboratoriais, refletindo, portanto majoritariamente a capacidade de síntese hepática

6. REFERÊNCIAS:

1. Durand F VD. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 2008;28:110-22.
2. D'Amico G G-TG, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol.* 2006;44:217-31.
3. Huisman EJ TE, Siersema PD, van Hoek B, van Erpecum KJ. Protein energy malnutrition predicts complications in liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23:982-9.
4. Goral V RA, Kucukoner M. Insulin resistance in liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology.* 2010;57:309-15.
5. Luxon BA. Bone disorders in chronic liver diseases. *Curr Gastroenterol Rep.* 2011;13:40-8.
6. Perrini S LL, Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *J Endocrinol.* 2010;205:201-10.
7. Colakoglu O TB, Colakoglu G, Kizildag S, Ari Oscan F, Unsal B. Serum Insulin like growth factor-1 (IGF-1) and insulin like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) levels in liver cirrhosis. *Turk J Gastroenterol.* 2007;18:245-9.
8. Juul A. Serum level of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Horm IGF Res.* 2003;13:113-70.
9. Arany E AS, Strain AJ, Winwood PJ, Arthur MJ, Hill DJ. Differential cellular synthesis of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and IGFBP-3 within human liver. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:1871-6.
10. Chin E ZJ, Dal J, Baxter RC, Bondy CA. Cellular localization and regulation of gene expression for components of the insulin-like growth factor ternary binding protein complex. *Endocrinology.* 1994;134:2498-504.
11. Wu YL YJ, Zhang S, Zhong J, Xi RP. Clinical significance of serum IGF-I, IGF-II, IGF-3 in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2004;10:2740-3.
12. Ferenci P LA, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Biel AT. Hepatic encephalopathy-definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology.* 2002;35:716-21.

13. Pugh RN M-LI, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973;60:646-9.
14. Wiesner R EE, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, Kremers W, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology.* 2003;124:91-6.
15. Werner H WD, Bentov I. Similarities and differences between insulin and IGF-I: structures, receptors, and signalling pathways. *Arch Physiol Biochem.* 2008;114:17-22.
16. Adamo ML NS, LeRoith D, Roberts Jr CT. Structure, expression, and regulation of the IGF-I gene. *Adv Exp Med Biol.* 1993;343:1-11.
17. Denley A CL, Booker GW, Wallace JC, Forbes BE. Molecular interactions of the IGF system. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005;16:421-39.
18. Teppala S SA, Sabanayagam C. Association between IGF-1 and chronic kidney disease among US adults. *Clin Exp Nephrol.* 2010;14:440-4.
19. Donaghy A RR, Gimson A, Hughes SC, Holly J, Williams R. Growth hormone, insulin like growth factor-1, and insulin like growth factor binding proteins 1 e 3 in chronic liver disease. *Hepatology.* 1995;21:680-6.
20. Assy N PY, Gaitini D, Shen Orr Z, Hochberg Z, Baruch y. Growth hormone-stimulated IGF-1 generation in cirrhosis reflects hepatocellular dysfunction. *J Hepatol.* 2008;49:34-42.
21. Shaarawy M FM, Massoud BA, Lotfy S. Insulin-like growth factor binding protein-3: a novel biomarker for the assessment of the synthetic capacity of hepatocytes in liver cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3316-9.
22. Lepenies J WZ, Stewart PM, Strasburger CJ, Quinkler M. IGF-1, IGFBP-3 and ALS in adult patients with chronic kidney disease. *Growth Horm IGF Res.* 2010;20:93-100.
23. Scharf JG SF, Frystyk J, Skjaerbaek C, Moesus H, Blum WF, Ramadori G, et al. Insulin-like growth factor-I serum concentrations and patterns of insulin-like growth factor binding proteins in patients with chronic liver disease. *J Hepatol.* 1996;25:689-99.
24. Ottesen LH BF, Flyvbjerg A. The insulin-like growth factor binding protein 3 ternary complex is reduced in cirrhosis. *Liver.* 2001;21:350-6.
25. Assy N HZ, Amit T, Shen-Orr Z, Enat R, Barch Y. Growth hormone-stimulate insulin-like growth factor (IGF-) I and IGF-binding

protein-3 in liver cirrhosis. *J Hepatol.* 1997;27:796-802.

26. Hunninghake GW DK, Numon AB, Schmidt GA, Meuerholz DK, Ashare A. Insulin-like growth factor-1 levels contribute to the development of bacterial translocation in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182:517-25.

27. Spinola-Castro AM S-MA, da Silva MT, Gerra-Junior G. The use of growth hormone to treat endocrine-metabolic disturbances in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patients. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52:818-32.

ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

AVALIAÇÃO DE MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA DESCOMPENSADA

Você está sendo convidado para participar de um projeto de pesquisa: *Avaliação de marcadores prognósticos em portadores de cirrose hepática descompensada*. Este projeto tem o objetivo de identificar dados da avaliação médica ou de exames laboratoriais que possam nos ajudar a identificar os pacientes com doença mais grave. Os resultados desta pesquisa poderão permitir a criação de ferramentas para a identificação rápida dos pacientes com doença mais grave, permitindo assim um tratamento mais adequado.

Caso você concorde em participar deste estudo, será feita uma avaliação clínica (entrevista e exame físico) no primeiro dia da sua internação e 48 horas depois. Além disso, uma coleta de sangue será realizada por punção periférica na veia do antebraço também nestes dois momentos. Parte do material será destinada aos exames de rotina (que são necessários para avaliação do seu caso durante a internação) e uma outra porção será armazenadas em freezer a -80° C para a posterior dosagem dos exames referentes a este estudo, que são: Anti-HEV IgG, procalcitonina, GST- α , neoepítomos da CK-18 e queratina 18 solúvel. Além disso, uma amostra de fezes será coletada para realização da dosagem de calprotectina.

Não existem riscos importantes relacionados a tais procedimentos, podendo ocorrer, como consequência da coleta de sangue, dor no local da punção e/ou formação de hematoma local.

Não há benefício direto para o participante. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores envolvidos são o Dr. Marcelo Ronsoni, o Dr. Cesar Lazzarotto e o Dr. Leonardo de Lucca Schiavon que podem ser encontrados no endereço: Departamento de Clínica Médica, Hospital Universitário/Campus Universitário – Trindade - Cep 88040-970 - Florianópolis – SC Fone (48) 37219149/37219014; e-mail: cesarlazzarotto@ig.com.br ou marceloronsoni@terra.com.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Universidade Federal de Santa Catarina; Pró-

Reitoria de Pesquisa e Extensão - Campus Universitário - Trindade - Florianópolis/SC; Tel: (48) 3721-9206.

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, assim que os mesmos forem de conhecimento dos pesquisadores.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Segue abaixo os termos da declaração para poder participar do estudo:

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito do estudo **“Avaliação de marcadores prognósticos em portadores de cirrose hepática descompensada”**.

Eu discuti com os pesquisadores responsáveis sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar, caso seja necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento: antes ou durante o mesmo, sem penalidades, prejuízo, perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Nome do participante	Assinatura	Data
----------------------	------------	------

ou

Responsável legal	Assinatura	Data
-------------------	------------	------

Responsável pelo estudo	Assinatura	Data
-------------------------	------------	------

APÊNDICE A – Protocolo de Coleta

Anexo I

AVALIAÇÃO DE MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA DESCOMPENSADA Ficha admissão

Dados identificação:

Nome: _____		Num Emerg: _____	
Data internação: ____/____/____ hora: _____		Data avaliação: ____/____/____ hora: _____	
Registro: _____	Nasc: ____/____/____	Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	Raça: <input type="checkbox"/> Br <input type="checkbox"/> Negr <input type="checkbox"/> Pard <input type="checkbox"/> Asia <input type="checkbox"/> Verm
Telefone1: (____) _____	Falar com: _____	Telefone2: (____) _____	Falar com: _____
Profissão: _____		Estado civil: <input type="checkbox"/> Sol <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Divorciado <input type="checkbox"/> Anulado <input type="checkbox"/> Viúvo	

Dados da doença de base:

Causa da cirrose: <input type="checkbox"/> HBV <input type="checkbox"/> HCV <input type="checkbox"/> Álcool <input type="checkbox"/> HHV <input type="checkbox"/> CBP <input type="checkbox"/> CEP <input type="checkbox"/> Hemocr <input type="checkbox"/> NASH <input type="checkbox"/> Criptogênica <input type="checkbox"/> Outra: _____	
Já fez biópsia: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Onde: _____ Ano: _____	Paciente da gastro HU: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Médico: _____
Diagnóstico da cirrose (hipertensão portal + varizes esôfago/gástricas ou ascite com GASA \geq 1,1 ou USG Doppler sugestiva): <input type="checkbox"/> Biópsia <input type="checkbox"/> Hipertensão portal + exame imagem <input type="checkbox"/> Hipertensão portal + estigmas clínicos <input type="checkbox"/> Hipertensão portal + laboratório <input type="checkbox"/> Outro: _____	
Descompensações anteriores: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Ascite <input type="checkbox"/> HDA <input type="checkbox"/> Encefalopatia	Data primeira descompensação (mês e ano): ____/____

Antecedentes:

Comorbidades: <input type="checkbox"/> DM <input type="checkbox"/> HAS <input type="checkbox"/> HIV <input type="checkbox"/> Pneumo: _____ <input type="checkbox"/> Cardio: _____ <input type="checkbox"/> Gastro: _____ <input type="checkbox"/> Nefro: _____ <input type="checkbox"/> Endocrino: _____ <input type="checkbox"/> Reumato: _____ <input type="checkbox"/> Psiquiatria: _____ <input type="checkbox"/> Infecto: _____ <input type="checkbox"/> Outras: _____	
Medicações: <input type="checkbox"/> Propranolol ____mg/d <input type="checkbox"/> Espironolactona ____mg/d <input type="checkbox"/> Furosemida ____mg/d <input type="checkbox"/> Lactulose ____mL/d <input type="checkbox"/> Outras: _____	
Cirurgias: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim Quais/ano: _____	
Tabagismo: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Anos/mço: _____	Etilismo atual: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim ____g/dia Etilismo prévio: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim ____g/dia Ano início: ____ Ano final: ____
Uso drogas atual: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> quais (inclusive via)? _____	
Uso drogas prévio: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> quais (inclusive via)? _____	

Descompensação atual:

Motivo internação: <input type="checkbox"/> Descompensação da cirrose <input type="checkbox"/> Realização de exame <input type="checkbox"/> Outro: _____
Descompensações atuais(marcar mais de uma sh): <input type="checkbox"/> ascite <input type="checkbox"/> PBE <input type="checkbox"/> encefalopatia <input type="checkbox"/> HDA <input type="checkbox"/> SH-R <input type="checkbox"/> Ictericia
Início dos sintomas (que motivaram internação): ____/____/____

Dados exame físico (exame físico realizado pelo PESQUISADOR)

Peso: _____ kg	Altura: _____ m	PAS: _____	PAD: _____	FC: _____ bpm	FR: _____ irpm	SaO ₂ : _____ % FIO ₂ _____ %
Temperatura: _____ °C	Febre (controles enfermagem): <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim			Hipertensão (controles enfermagem): <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim		
Ictericia: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Eritema palmar: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Telangiectasias: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim		Ginecomastia: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim		
Flapping: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Circulação colateral: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Edema MMI: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim				

Ascite (preencher se **ASCITE** presente)

Início do aumento volume abdominal: _____ / _____ / _____
Gravidade: <input type="checkbox"/> Ausente <input type="checkbox"/> Grau 1 (apenas USG) <input type="checkbox"/> Grau 2 (moderada não tensa) <input type="checkbox"/> Grau 3 (ascite importante/tensa)
Paracentese: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Dia _____ / _____ / _____ Volume: _____

Hemorragia digestiva alta (preencher se paciente com HDA)

Início dos sintomas: _____ / _____ / _____	Hemátimese: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Melena: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Episódios ant: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim
Instabilidade hemodinâmica: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Transfusão: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> _____ Unidades Concentrado Hemácias		
EDA: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Fonte sangramento: <input type="checkbox"/> Varizes esôfago <input type="checkbox"/> Varizes gástricas <input type="checkbox"/> Gastropatia <input type="checkbox"/> Úlcera gástrica <input type="checkbox"/> Úlcera duodenal <input type="checkbox"/> outra _____			
Tratamento endoscópico: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> <input type="checkbox"/> Escleroterapia <input type="checkbox"/> Ligadura elástica <input type="checkbox"/> Cianocrilato <input type="checkbox"/> outro _____			

Encefalopatia hepática (preencher para **TODOS**)

Crênicos de West Haven: <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4	Glasgow: AO _____ RV _____ RM _____ Total: _____
Fator precipitante: <input type="checkbox"/> Desconhecido <input type="checkbox"/> HDA <input type="checkbox"/> Infecção sítio _____ <input type="checkbox"/> Constipação <input type="checkbox"/> Distúrbio hidroeletrólito <input type="checkbox"/> Benzodiazepínicos <input type="checkbox"/> Diuréticos <input type="checkbox"/> Outro _____	

Infecção (preencher para **TODOS** na admissão)

Infecção presente: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Tipo infecção: <input type="checkbox"/> PSE <input type="checkbox"/> ITU <input type="checkbox"/> Pneumonia <input type="checkbox"/> Pile <input type="checkbox"/> outro _____
Confirmado com exame laboratorial: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Confirmado com cultura: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Germe _____

Prescrição atual (medicamentos **JÁ INICIADOS** no momento da avaliação)

Oxetrolide: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Dose _____	Antibiótico: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Qual _____ Dose _____
Espironolactona: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Dose _____	Furosemida: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Dose _____
Lactulose: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Dose _____	Metronidazol: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Dose _____
Neomicina: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim -> Dose _____	Total volume (cristalóides/colóides) até o momento: _____ mL
Outras: _____	

Laboratório (apenas exames **ADMISSÃO**)

Hb:	Ht:	Leuco:	Formas jovens (n):	Neutr (n) :
Linfócitos (n):	Monócitos (n):	Eosínof (n):	Basof (n):	Plaquetas:
Na:	K:	Ur:	Cr:	TP:
AP:	RNI:	TTPA (seg):	TTPA (se):	Albumina:
Glicemia:	Insulina:	TSH:	T3:	T4L:
PCR:	Lactato:	AST:	ALT:	GGT:
FA:	BT:	BD:	IGF-I:	IGFBP3:
Procalcitonina:	GSTc:	CK18:		

APÊNDICE B – Certificado de aprovação do Comitê de Ética em pesquisa com seres humanos



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CERTIFICADO Nº 1822

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584-GR.99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o conteúdo no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP.

APROVADO

PROCESSO: 1822
FR: 402205

TÍTULO: AVALIAÇÃO DE MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA DESCOMPENSADA

AUTOR: Leonardo de Luca Schiavon, Esther Buzaglo Dantas Correa, Amalina Luz Narciso Schiavon, Maria Luiza Bazzo, Marcelo Ronsoni, César Lazzarotto

FLORIANÓPOLIS, 28 de Fevereiro de 2011.

Coordenador do CEPSH/UFSC

APÊNDICE C – Comprovante de submissão do artigo científico

Liver INTERNATIONAL
OFFICIAL JOURNAL OF THE INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

SCHOLARONE™
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Leonardo Schiavon

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Liver International*.

Manuscript ID: LIVint-12-00180

Title: IGF-I and IGFBP-3 Serum Levels in Patients Hospitalized for Complications of Liver Cirrhosis

Authors: Ronsoni, Marcelo
Lazzaretto, Cesar
Fayad, Leonardo
Silva, Mariana
Nogueira, Christiane
Bazzo, Maria
Narciso-Schiavon, Janaina
Dantas-Corrêa, Esther
Schiavon, Leonardo

Date Submitted: 16-Feb-2012

[Print](#) [Return to Dashboard](#)

ScholarOne Manuscripts™ v4.8.1 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2012. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

[Follow ScholarOne on Twitter](#)

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

APÊNDICE D – Artigo Científico (Versão Língua Inglesa)

TITLE PAGE

Manuscript title:

IGF-I and IGFBP-3 Serum Levels in Patients Hospitalized for Complications of Liver Cirrhosis

Authors:

Marcelo Fernando Ronsoni¹, César Lazzarotto¹, Leonardo Fayad¹, Mariana Costa Silva¹, Christiane Lourenço Nogueira², Maria Luiza Bazzo², Janaína Luz Narciso-Schiavon¹, Esther Buzaglo Dantas-Corrêa¹, Leonardo de Lucca Schiavon¹

Affiliations:

¹Division of Gastroenterology, Federal University of Santa Catarina

²Department of Clinical Analysis, Federal University of Santa Catarina

Key words: Insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor-binding protein-3, liver cirrhosis

Potential conflict of interest: nothing to report

ABSTRACT

Background: IGF-I and IGFBP-3 are part of the IGF system and, due to its predominantly hepatic synthesis, they seem to correlate with the intensity of hepatic dysfunction. **Aims:** To investigate the significance IGF-I and IGFBP-3 serum levels in patients admitted to the hospital for complications of liver cirrhosis. **Methods:** Cross-sectional study that included cirrhotic patients admitted to the hospital due to complications of the disease. IGF-I and IGFBP-3 serum levels were measured by chemiluminescence. The correlations between the numerical variables were evaluated by Spearman's correlation coefficient, and the additional comparisons were made by the Mann-Whitney U-test or the Kruskal-Wallis test as appropriate. **Results:** Seventy-four patients with a mean age of 53.1 ± 11.6 years, 73% of which males, were included in the study. IGF-I levels were positively correlated with IGFBP-3 and albumin and negatively correlated with Child-Pugh's total score, MELD

score, creatinine, INR, and aPTT ratio. IGFBP-3 levels were positively correlated with IGF-I and albumin and negatively correlated with Child-Pugh's total score, MELD score, creatinine, INR, total bilirubin, and aPTT ratio. Significantly lower scores of IGF-I and IGFBP-3 were observed in patients with higher MELD values and higher Child-Pugh classes ($P < 0.05$). **Conclusions:** In cirrhotic patients admitted to the hospital due to complications of the disease, IGF-I and IGFBP-3 serum levels were associated with variables related to liver dysfunction and to more advanced liver disease. The levels of these markers seem to undergo little influence from other clinical and laboratory variables, therefore mainly reflecting the hepatic functional status.

Introduction

Cirrhosis is the end stage of various chronic liver diseases and is characterized by a diffuse hepatic involvement, fibrosis, necrosis, and regenerative nodules. Several clinical manifestations can be observed as a result of portal hypertension and impaired liver synthesis capacity. In general, the natural course of cirrhosis is characterized by an asymptomatic phase, also known as compensated phase, followed by a rapidly progressive phase characterized by specific complications and also known as decompensated cirrhosis (1). The transition from compensated forms of the disease to decompensated cirrhosis occurs at a rate 5-7% per year (2). Once patients have developed the first episode of decompensation, complications tend to accumulate and life expectancy is markedly reduced, with a median survival of two years (2).

Patients with cirrhosis characteristically show a broad spectrum of metabolic disorders, including malnutrition, insulin resistance, osteopenia, and hypogonadism (3-5). These complications are at least in part linked to changes in the GH-IGF axis observed as a result of liver disease. The growth hormone (GH) is a peptide hormone released from the anterior pituitary that stimulates growth, cell reproduction and regeneration, exerting metabolic effects on bone, cartilage, fat, muscle, heart, immune system, and others (6-7). In the liver, GH activation of GH receptors induces the Insulin-like growth factor-I (IGF-I) gene transcription, and subsequently the synthesis and release of IGF-I to the plasma (8). IGF-I is the major form of insulin-like growth factors (IGFs) family and it is thought to exert anabolic effects on the amino acid and carbohydrate metabolism, increasing muscle mass and improving bone mineral content and intestinal barrier function (8). IGFBP-3 is the most important component of circulating binding proteins of the IGF system

and it is mostly produced by the endothelial lining and Kupffer cells in the liver (9-10).

As a reflection of decreased hepatic synthetic function, lower IGF-I and IGFBP-3 serum levels have been demonstrated in patients with cirrhosis when compared to healthy controls (7, 11). These markers also seem to be related to the degree of hepatic dysfunction, as decreased levels were reported in more advanced stages of cirrhosis (7, 11). Therefore, these tests appear to represent promising tools for evaluating patients with liver cirrhosis. New markers of hepatic synthetic function would be especially useful in evaluating patients admitted to the hospital due to complications of cirrhosis, who have high mortality and for whom fast therapeutic decisions are critical. The aim of this study was to investigate the IGF-I and IGFBP-3 serum levels in patients admitted to the hospital due to complications of cirrhosis.

Material and Methods

Patients

Cross-sectional observational study that included consecutive adult subjects (≥ 18 years of age), admitted at the Emergency Unit of a Brazilian tertiary-care hospital due to complications of the disease (ascites, hepatic encephalopathy, upper gastrointestinal bleeding secondary to portal hypertension, and hepatorenal syndrome). Patients with decompensated cirrhosis hospitalized due to infectious diseases were also considered eligible. Patients in the following situations were excluded: admissions for elective procedures or not related to complications of cirrhosis, doubtful diagnosis of liver cirrhosis, and refusal or inability of the patient or caregiver to understand the terms of the informed consent.

The diagnosis of cirrhosis was established either histologically (when available) or by the combination of clinical, imaging and laboratory findings in patients with evidence of portal hypertension. In the case of more than one hospital admission during the study period, only the most recent hospitalization was considered.

The study protocol conformed to the ethical guidelines of the 1975 Helsinki Declaration and was approved by our institutional review board.

Methods

Patients were evaluated within 24 hours of admission by one of the researchers involved in the study, and the following clinical variables were collected: age, sex, race, smoking history, current alcohol

intake (defined as any alcohol intake in the month prior to hospitalization), etiology of cirrhosis, history of previous decompensations, and the presence of ascites. All subjects underwent laboratory evaluation at admission, and the following tests were performed for this study: sodium, creatinine, albumin, total bilirubin, international normalized ratio (INR) and ratio of activated partial thromboplastin time (aPTT ratio). All individuals with suspected infection at admission were investigated according to clinical judgment of the attending physician.

Hepatic encephalopathy was graded according to the West Haven criteria (12), and the liver disease severity at admission was assessed by the Child-Pugh classification (13) and by the MELD score (calculated with the laboratory tests performed at admission) (14).

IGF-I and IGFBP-3 serum levels

IGF-I and IGFBP-3 serum levels were measured in serum samples collected at admission and stored at -20 °C. The tests were performed within one week of collection. Serum levels of IGF-I and IGFBP-3 were measured by immunochemiluminescence (Immulite ® 2000, Diagnostic Products Corp., Los Angeles, CA). The reported analytic sensitivity of this assay is 25 ng/dL for IGF-I and 0.50 mcg/mL for IGFBP-3.

Statistical Analysis

The normality of the variable distribution was determined by One-Sample Kolmogorov–Smirnov test. The correlation between the numerical variables was evaluated by the Spearman’s correlation coefficient. To compare IGF-I and IGFBP-3 levels according to the Child-Pugh classification and the different MELD tertiles, we initially used the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney U test for comparison between two subgroups. The other comparisons were performed using the Mann-Whitney U test. A P value of less than 0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed by SPSS software version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Results

Characteristics of the sample

One hundred and one admissions due to complications of liver cirrhosis were reported between January and November 2011. When evaluated based only on the most recent hospitalization, a total of 74 individuals composed the final sample of the study.

Table 1 exhibits the characteristics of the included patients. The mean age was 53.07 ± 11.56 years, 82.0% were caucasians, and a male predominance was observed (73.0%). Previous history of cirrhosis decompensation was observed in 65.7% of the sample and 40.5% of subjects reported alcohol intake in the previous 30 days. Regarding the etiology of cirrhosis, chronic viral hepatitis was reported in 47.3% of the cases (HBV infection in 5.4% and HCV in 41.9%), alcohol in 35.1%, and other less common causes in 17.6% of the sample.

Upon admission, upper gastrointestinal bleeding was observed in 48.6% of cases, ascites in 45.9%, hepatic encephalopathy in 59.5%, and spontaneous bacterial peritonitis in 10.8%. Hepatic encephalopathy grade ≥ 3 was present in 14.9% of the patients. When evaluated according to the Child-Pugh classification, 12% were classified as stage A, 50% stage B, and 38% stage C. The mean MELD score was 16.07 ± 6.98 (median 14.0).

Relationship between IGF-I and IGFBP-3 levels and the studied variables

Data on laboratory variables are shown in Table 1. The mean levels of IGF-I were 41.57 ± 32.41 ng/dL (median of 28.5 ng/dL) and of IGFBP-3 were 1.02 ± 0.67 mcg/mL (median of 0.88 mcg/mL).

When the correlation between IGF-I levels on admission and the other numerical variables was studied, a positive correlation between this marker and the levels of IGFBP-3 ($r = 0.678$, $P < 0.001$) and albumin ($r = 0.393$, $P = 0.001$) was observed. A negative correlation was observed between IGF-I levels and the total Child-Pugh score ($r = -0.408$, $P < 0.001$), MELD score ($r = -0.388$, $P = 0.001$), creatinine ($r = -0.284$, $P = 0.015$), INR ($r = -0.460$, $P < 0.001$) and aPTT ratio ($r = -0.426$, $P < 0.001$). No significant correlations were observed between IGF-I and age, sodium, and total bilirubin.

Regarding IGFBP-3, a positive correlation between this marker and IGF-I ($r = 0.678$, $P < 0.001$) and albumin ($r = 0.471$, $P < 0.001$) was observed. A negative correlation was observed between IGFBP-3 levels and the total Child-Pugh score ($r = -0.498$, $P < 0.001$), MELD score ($r = -0.470$, $P < 0.001$), creatinine ($r = -0.313$, $P = 0.007$), INR ($r = -0.554$, $P < 0.001$), total bilirubin ($r = -0.310$, $P = 0.008$) and aPTT ratio ($r = -0.294$, $P = 0.014$). No significant correlations were observed between IGFBP-3 and age or sodium. Table 2 shows the correlation coefficients between IGF-I and IGFBP-3 levels and the other numeric variables.

When IGF-I levels were evaluated according to specific complications of cirrhosis observed at admission, no associations with

the presence of ascites or gastrointestinal bleeding ($P > 0.05$) were found. Those individuals with hepatic encephalopathy at admission had lower IGF-I levels compared to the other patients (25.0 vs. 33.9 ng/dL, $P = 0.037$). Concerning IGFBP-3 levels, subjects with ascites on admission showed significantly lower median values of this marker when compared to the rest of the patients (0.65 vs. 1.08 mcg/mL, $P = 0.003$). Similarly, lower median IGFBP-3 was also observed in those patients with hepatic encephalopathy on admission (0.78 vs. 1.18 mcg/mL; $P = 0.013$). No differences in IGFBP-3 levels were observed when subjects with upper gastrointestinal bleeding were compared to the other patients.

IGF-I and IGFBP-3 levels were also related to other clinical variables of interest. No significant differences in IGF-I and IGFBP-3 levels were observed when the patients were compared according sex, etiology of cirrhosis (viral vs. non-viral), diabetes mellitus, current smoking, and current alcohol intake. Individuals with diagnosis of infection at admission showed lower median IGFBP-3 (0.72 vs. 1.10 mcg/mL, $P = 0.009$) and a trend toward lower median IGF-I (25.0 vs. 31.7 ng/dL, $P = 0.057$) when compared to the remaining patients.

IGF-I and IGFBP-3 serum levels according to the degree of liver dysfunction

Table 3 shows IGF-I and IGFBP-3 levels according to the Child-Pugh's classification. Significantly lower IGF-I levels were observed among those with higher Child-Pugh scores ($P = 0.001$). When comparing the different subgroups, higher IGF-I levels were observed in patients classified as Child-Pugh A as compared to patients classified as Child-Pugh B ($P = 0.002$) or C ($P = 0.001$). No differences were observed when comparing IGF-I levels between Child-Pugh B and C patients ($P = 0.151$) (Figure 1A). Similarly, individuals in higher stages of the Child-Pugh's score exhibited lower IGFBP-3 levels as compared to the remaining patients ($P < 0.001$). When comparing the subgroups, individuals classified as Child-Pugh A had significantly higher levels of IGFBP-3 than those rated as Child-Pugh class B ($P = 0.006$) or C ($P < 0.001$). IGFBP-3 levels were also higher among those classified as Child-Pugh B as compared to Child-Pugh C ($P = 0.013$) (Figure 1B).

Table 4 shows IGF-I and IGFBP-3 levels according to the MELD score categorized into tertiles. Significantly lower IGF-I concentrations were observed among patients with higher MELD scores ($P = 0.004$) (Figure 2A). When comparing the subgroups, significantly higher IGF-I levels were observed in the subgroup with MELD ≤ 11.4

as compared to patients with MELD scores between 11.4 and 18.1 ($P = 0.011$) or ≥ 18.1 ($P = 0.002$). IGF-I levels did not differ when comparing patients with MELD between 11.4 and 18.1 in relation to those with scores ≥ 18.1 ($P = 0.450$) (Figure 2A). Similar results were observed for IGFBP-3 levels, which were significantly decreased in individuals with higher MELD scores ($P < 0.001$). In the subgroup comparison, individuals classified in the lowest MELD tertile showed higher concentrations of IGFBP-3 in relation to patients classified in the intermediate ($P = 0.001$) or higher tertiles ($P < 0.001$). No differences in IGFBP-3 levels were observed for comparison of individuals classified in the intermediate tertile and those in the upper tertile ($P = 0.183$) (Figure 2B).

Discussion

The approach and management of cirrhotic patients in emergency departments are hampered not only by the heterogeneity of the underlying liver disease itself, but also by multiple complications usually observed in this setting. A close relationship between the intensity of liver dysfunction and prognosis of patients with cirrhosis is described (1). For that reason, the identification of markers of hepatic synthetic function, especially objective biochemical tests, could allow a better assessment of these individuals in emergency situations. Ideally, these tests should be inexpensive, reproducible, readily available and undergo little influence from other factors not related to liver synthesis capacity.

IGF-I is a peptide that acts as a mediator of the GH and stimulates somatic growth, inducing an anabolic response on tissues. It is synthesized by multiple mesenchymal-type cells, primarily in the liver. IGFBP-3 is the most abundant of six high affinity-binding proteins that share a common function in regulating the bioavailability of the insulin-like growth factors. It circulates in a saturated state and undergoes the influence of the same variables that affect serum concentrations of IGF-I (15-17). Given the importance of the liver in the synthesis and action of the IGF system components, conditions that impair liver function might result in reduced serum levels of IGF-I and its ligands.

In the present study, significant correlations were observed between IGF-I serum levels and other variables directly or indirectly associated with the intensity of liver dysfunction, such as albumin, INR, and creatinine. Similar results were observed in a Turkish study that included 42 patients with cirrhosis, in which IGF-I levels were

positively correlated with albumin and sodium, and negatively correlated with serum creatinine (7). The negative correlation between IGF-I and creatinine observed in both studies probably reflects the severity of cirrhosis and not the glomerular filtration rate itself, since chronic kidney disease has been associated with higher levels of IGF-I (18). In another study investigating 34 subjects receiving outpatient treatment for cirrhosis, Donaghy et al. demonstrated a positive correlation between IGF-I and albumin, but not with INR (19). However, this study included a relatively small number of patients, with a lower proportion of individuals classified as Child-Pugh B or C, which may explain the differences observed.

IGF-I levels were also evaluated according to the Child-Pugh's Classification and MELD scores. Lower levels of this marker were observed in individuals at higher stages of the Child-Pugh's classification or with higher MELD scores. Similar results were observed by Wu et al., that reported significantly lower IGF-I levels in cirrhotic patients when compared to the control group and, more importantly, among cirrhotic patients, those with a more severe liver dysfunction (Child-Pugh C) had the lowest concentrations of this marker (11). More recently, Assy et al. demonstrated that cirrhotic patients in more advanced stages of the Child-Pugh's classification or with higher MELD scores not only have lower levels of IGF-I, but also exhibit lower increase of this peptide in response to GH stimulation (20). Furthermore, the authors showed that IGF-I levels, whether basal or in response to GH administration, seem to reflect the extent of hepatocellular dysfunction and not the intensity of portal hypertension or the nutritional status (20).

In the present study, IGFBP-3 levels also correlated with variables related to liver function such as albumin, total bilirubin, INR, and creatinine. These results are consistent with previous studies that evaluated the correlation between IGFBP-3 and markers of hepatic synthetic function (7, 19, 21). Similarly, as discussed above for IGF-I, the correlation observed between IGFBP-3 levels and creatinine probably reflects the severity of the underlying liver disease, since previous studies indicate that IGFBP-3 levels does not seem to be influenced by renal function (22).

When IGFBP-3 levels were evaluated according to Child-Pugh's classification and MELD score, we observed that individuals with evidence of more advanced liver disease had lower concentrations of this marker. Similar results were first published by Donaghy et al. who investigated 35 patients with liver cirrhosis and reported lower

IGFBP-3 levels in Child-Pugh C patients as compared to the remaining participants (19). After this study, other authors published similar results, reinforcing the hypothesis that IGFBP-3 concentrations seem to reflect the severity of liver disease in cirrhotic patients (7, 11, 23-25).

Serum levels of IGF-I and IGFBP-3 may be influenced by several conditions not related to the liver, as well as by specific individual characteristics and lifestyle habits, such as cigarette smoking, alcohol consumption (8). Although not all conditions that could potentially alter the serum levels of these tests have been systematically evaluated, no significant associations with variables such as age, sex, smoking and alcohol intake were observed. These findings suggest that the influence of non-hepatic factors seems to be small, offering even more support to the use of IGF-I and IGFBP-3 in the assessment of liver synthesis capacity.

Lower IGF-I and IGFBP-3 levels were observed in subjects with a diagnosis of infection at admission when compared to those without infectious complications. Although, there are few studies regarding the influence of infection on IGF-I and IGFBP-3 serum levels, experimental data suggests the association between low IGF-I levels and a higher rate of bacterial translocation (26). Other authors have suggested a relationship between IGF-I levels and chronic infectious diseases, such as HIV infection (27). However, in the present study, it is likely that the lower IGF-I and IGFBP-3 levels observed in individuals with infection at admission merely reflect a higher incidence of infectious complications in patients with more advanced liver cirrhosis. Actually, when evaluating the presence of infection on admission in relation to the Child-Pugh's classification, this complication was more common in the highest stages when compared to patients classified as Child-Pugh A (data not shown).

We acknowledge some limitations to our analysis. The relatively small number of patients included may limit the extrapolation of the results. However, previous studies evaluating IGF-I and IGFBP-3 levels in patients with cirrhosis included a smaller number of subjects and were performed outside the context of acute decompensation. To our knowledge, this is the first study investigating patients admitted to the emergency department due to complications of cirrhosis. In this context, we believe that our data brings an important contribution and may represent a start point for cohort studies aimed at investigating the prognostic significance of IGF-I and IGFBP-3 in cirrhotic patients admitted for acute decompensation. Another limitation that we should highlight is the sensitivity of the test used for determining IGF-I levels.

Despite the methodology being widely accepted and validated, the analytical sensitivity of the method proved to be low in the setting of liver cirrhosis, since a large proportion of the patients (36%) exhibited values below the detection limit. Consequently, the use of more sensitive techniques is advised for future studies, especially in the evaluation of prognostic significance of IGF-I in liver cirrhosis.

Based on these data, we conclude that IGF-I and IGFBP-3 serum levels were associated with variables related to the intensity of liver dysfunction and to more advanced liver disease in cirrhotic patients admitted to the hospital due to complications of the disease. The levels of these markers seem to undergo little influence from other clinical and laboratory variables, therefore mainly reflecting the hepatic functional status.

References

1. Durand F, Valla D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008;28:110-22.
2. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol* 2006;44:217-31.
3. Huisman EJ, Trip EJ, Siersema PD, van Hoek B, van Erpecum KJ. Protein energy malnutrition predicts complications in liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011;23:982-9.
4. Goral V, Atalay R, Kucukoner M. Insulin resistance in liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2010;57:309-15.
5. Luxon BA. Bone disorders in chronic liver diseases. *Curr Gastroenterol Rep* 2011;13:40-8.
6. Perrini S, Laviola L, Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *J Endocrinol* 2010;205:201-10.
7. Colakoglu O, Taskiran B, Colakoglu G, Kizildag S, Ari Ozcan F, Unsal B. Serum insulin like growth factor-1 (IGF-1) and insulin like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) levels in liver cirrhosis. *Turk J Gastroenterol* 2007;18:245-9.
8. Juul A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Horm IGF Res* 2003;13:113-70.
9. Arany E, Afford S, Strain AJ, Winwood PJ, Arthur MJ, Hill DJ. Differential cellular synthesis of insulin-like growth factor binding

protein-1 (IGFBP-1) and IGFBP-3 within human liver. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1871-6.

10. Chin E, Zhou J, Dai J, Baxter RC, Bondy CA. Cellular localization and regulation of gene expression for components of the insulin-like growth factor ternary binding protein complex. *Endocrinology* 1994;134:2498-504.

11. Wu YL, Ye J, Zhang S, Zhong J, Xi RP. Clinical significance of serum IGF-I, IGF-II and IGFBP-3 in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2004;10:2740-3.

12. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology* 2002;35:716-21.

13. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973;60:646-9.

14. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, Kremers W, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology* 2003;124:91-6.

15. Werner H, Weinstein D, Bentov I. Similarities and differences between insulin and IGF-I: structures, receptors, and signalling pathways. *Arch Physiol Biochem* 2008;114:17-22.

16. Adamo ML, Neuenschwander S, LeRoith D, Roberts CT, Jr. Structure, expression, and regulation of the IGF-I gene. *Adv Exp Med Biol* 1993;343:1-11.

17. Denley A, Cosgrove LJ, Booker GW, Wallace JC, Forbes BE. Molecular interactions of the IGF system. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16:421-39.

18. Teppala S, Shankar A, Sabanayagam C. Association between IGF-1 and chronic kidney disease among US adults. *Clin Exp Nephrol* 2010;14:440-4.

19. Donaghy A, Ross R, Gimson A, Hughes SC, Holly J, Williams R. Growth hormone, insulinlike growth factor-1, and insulinlike growth factor binding proteins 1 and 3 in chronic liver disease. *Hepatology* 1995;21:680-8.

20. Assy N, Pruzansky Y, Gaitini D, Shen Orr Z, Hochberg Z, Baruch Y. Growth hormone-stimulated IGF-1 generation in cirrhosis reflects hepatocellular dysfunction. *J Hepatol* 2008;49:34-42.

21. Shaarawy M, Fikry MA, Massoud BA, Lotfy S. Insulin-like growth factor binding protein-3: a novel biomarker for the assessment of

the synthetic capacity of hepatocytes in liver cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3316-9.

22. Lepenies J, Wu Z, Stewart PM, Strasburger CJ, Quinkler M. IGF-1, IGFBP-3 and ALS in adult patients with chronic kidney disease. *Growth Horm IGF Res* 2010;20:93-100.

23. Scharf JG, Schmitz F, Frystyk J, Skjaerbaek C, Moesus H, Blum WF, Ramadori G, et al. Insulin-like growth factor-I serum concentrations and patterns of insulin-like growth factor binding proteins in patients with chronic liver disease. *J Hepatol* 1996;25:689-99.

24. Ottesen LH, Bendtsen F, Flyvbjerg A. The insulin-like growth factor binding protein 3 ternary complex is reduced in cirrhosis. *Liver* 2001;21:350-6.

25. Assy N, Hochberg Z, Amit T, Shen-Orr Z, Enat R, Baruch Y. Growth hormone-stimulated insulin-like growth factor (IGF) I and IGF-binding protein-3 in liver cirrhosis. *J Hepatol* 1997;27:796-802.

26. Hunninghake GW, Doerschug KC, Nymon AB, Schmidt GA, Meyerholz DK, Ashare A. Insulin-like growth factor-1 levels contribute to the development of bacterial translocation in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:517-25.

27. Spinola-Castro AM, Siviero-Miachon AA, da Silva MT, Guerra-Junior G. [The use of growth hormone to treat endocrine-metabolic disturbances in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patients]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008;52:818-32.

Table 1. Demographic, Clinical, and Biochemical Features of Included Patients

Variables	Patients (n = 74)
Age; years, mean \pm SD (median)	53.07 \pm 11.56
Sex (male), n (%)	54 (73.0)
Ethnicity (caucasians), n (%)	61 (82.0)
Alcohol intake (current), n (%)	30 (40.5)
Etiology of Cirrhosis, n (%)	
Alcohol	26 (35.1)
Viral	35 (47.3)
Others	13 (17.6)
History of previous decompensation, n (%)	46 (65.7)
Decompensation (current), n (%)	
Ascites	34 (45.9)
SBP	8 (10.8)
Encephalopathy	44 (59.5)
Upper Gastrointestinal Bleeding	36 (48.6)
Encephalopathy grade \geq 3, n (%)	11 (14.9)
Infection at admission, n (%)	20 (27.4)
Total Child-Pugh Score, mean \pm SD (median)	8.96 \pm 2.15 (9.0)
Child-Pugh's Classification, n (%)	
A	9 (12)
B	36 (50)
C	27 (38)
MELD, mean \pm SD (median)	16.07 \pm 6.98 (14.0)
Sodium (mEq/L), mean \pm SD (median)	134.14 \pm 4.69
Creatinine (mg/dL), mean \pm SD (median)	1.43 \pm 1.09 (1.0)
Albumin (g/dL), mean \pm SD (median)	2.34 \pm 0.71 (2.3)
Total Bilirubin (mg/dL), mean \pm SD (median)	3.65 \pm 6.10 (1.6)
INR, mean \pm SD (median)	1.45 \pm 0.34 (1.4)

aPTT Ratio, mean \pm SD (median)	1.42 \pm 0.65 (1.2)
IGF-I (ng/dL), mean \pm SD (median)	41.57 \pm 32.41
IGFBP-3 (mcg/mL), mean \pm SD (median)	1.02 \pm 0.67 (0.88)

SD = Standard Deviation, SBP = spontaneous bacterial peritonitis, MELD = Model for End-Stage Liver Disease, INR = international normalized ratio, aPTT ratio: ratio of activated partial thromboplastin time

Table 2. Spearman's correlation coefficient between IGF-I and IGFBP-3 levels and the numeric variables.

Variables	r	P
<i>IGF-I</i>		
Age	-0.077	0.516
Child-Pugh's Score	-0.408	< 0.001
MELD	-0.388	0.001
Sodium	0.059	0.623
Creatinine	-0.284	0.015
Albumin	0.393	0.001
Total Bilirubin	-0.197	0.094
RNI	-0.460	< 0.001
aPTT Ratio	-0.426	< 0.001
IGFBP-3	0.678	< 0.001
<i>IGFBP-3</i>		
Age	-0.056	0.637
Child-Pugh's Score	-0.498	< 0.001
MELD	-0.470	< 0.001
Sodium	0.062	0.607
Creatinine	-0.313	0.007
Albumin	0.471	< 0.001
Total Bilirubin	-0.310	0.008
RNI	-0.554	< 0.001
aPTT Ratio	-0.294	0.014
IGF-I	0.678	< 0.001

MELD = Model for End-Stage Liver Disease, INR = international normalized ratio, aPTT ratio: ratio of activated partial thromboplastin time

Table 3. Serum IGF-I and IGFBP-3 according to the Child Pugh's Classification

	Child-Pugh A (n = 9)	Child-Pugh B (n = 36)	Child-Pugh C (n = 27)	P
IGF-I (median, ng/dL)	73.30	28.70	25.00	0.001*
IGFBP-3 (median, mcg/mL)	1.57	0.89	0.68	< 0.001*

* Kruskal-Wallis Test

Table 4. IGF-I and IGFBP-3 levels according to the MELD score categorized into tertiles.

	MELD ≤ 11,4	MELD 11,4 - 18,1	MELD ≥ 18,1	P
IGF-I (median, ng/dL)	44.40	25.90	25.00	0.004*
IGFBP-3 (median, mcg/mL)	1.29	0.78	0.62	< 0.001*

* Kruskal-Wallis Test

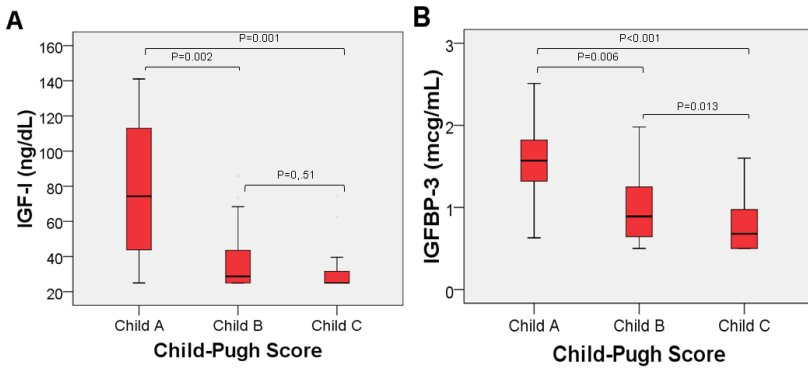


Figure 1. Serum IGF-I (Fig. 1A) and IGFBP-3 levels (Fig. 1B) according to Child-Pugh's Classification.

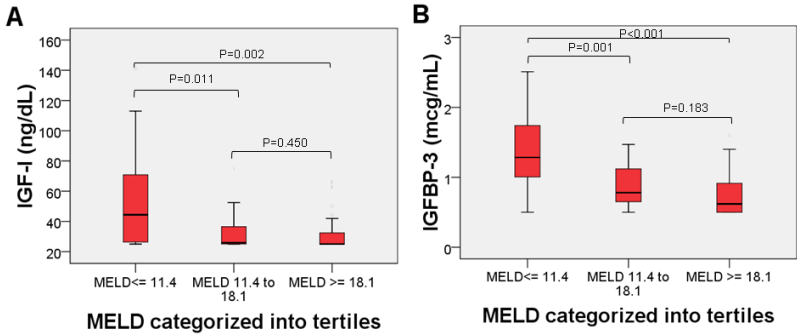


Figure 2. Serum IGF-I (Fig. 2A) and IGFBP-3 levels (Fig. 2B) according to MELD score categorized into tertiles.