

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

Telma Erotides da Silva

***SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DE NÍVEIS CIRCULANTES DE
ADIPOCINAS E DE PARÂMETROS METABÓLICOS NA
CIRROSE***

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon

Florianópolis
2018

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

Silva, Telma Erotides da
Significado prognóstico de níveis circulantes de
adipocinas e de parâmetros metabólicos na cirrose /
Telma Erotides da Silva ; orientador, Leonardo de
Lucca Schiavon, 2018.
311 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas-Novo, Florianópolis,
2018.

Inclui referências.

1. Ciências Médicas-Novo. 2. Cirrose hepática.
3. Adipocinas. 4. Hemoglobina glicada. 5.
Prognóstico. I. Schiavon, Leonardo de Lucca. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas-Novo. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste Doutorado.

Aos meus pais e à minha família, especialmente ao André e meus filhos Leonardo e Bruno, pela compreensão, apoio e amor incondicional, além do incentivo na realização de mais uma etapa da minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon, colega de trabalho e professor-orientador admirável, que esteve muito presente na orientação deste trabalho. Obrigada pelo apoio, incentivo, amizade e confiança depositada e por compartilhar o seu conhecimento, proporcionando um aprendizado que levarei por toda a vida. Minha eterna gratidão pela valiosa orientação que tornou real a concretização deste doutorado.

Aos colegas gastroenterologistas e a toda a equipe do Serviço de Gastroenterologia e Hepatologia do HU-UFSC pelo apoio e auxílio na seleção de pacientes: Prof^a. Dra Esther Buzaglo Dantas Correa, Prof^a. Dra. Janaína Narciso Luz Schiavon e Dra. Fernanda Ramos Gunther.

Às companheiras de mestrado e doutorado Mariana Costa Silva, Giovana Denardin e Karina Correa, às nutricionistas Maria Luíza Ayres de Alencar e Mara Sérgia Honório Coelho e à acadêmica de nutrição Marina Saldanha da Silva pela grande contribuição nas fases iniciais deste trabalho.

Ao Laboratório de Biologia Molecular e Microbactérias do HU-UFSC, em especial à Prof^a. Dra. Maria Luíza Bazzo e à Farmacêutica-Bioquímica Letícia Muraro Wildner pela realização das dosagens laboratoriais e pelo armazenamento das amostras.

Aos pacientes e seus familiares que consentiram em participar da pesquisa.

A colaboração de todos foi fundamental para a realização deste trabalho.

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis" (José de Alencar).

RESUMO

Introdução: A cirrose hepática é uma doença catabólica caracterizada por redução da massa de tecido adiposo, hiperinsulinemia, alta incidência de resistência à insulina e diabetes mellitus e um estado pró-inflamatório representado pela elevação dos níveis de citocinas. Os níveis de adiponectina e resistina encontram-se aumentados em pacientes com cirrose, mas o seu significado prognóstico é desconhecido. Buscamos investigar os fatores associados aos níveis de adiponectina, resistina e HbA1c e seu significado prognóstico em pacientes com cirrose. **Materiais e métodos:** Estudo de coorte prospectivo que incluiu 122 indivíduos com cirrose em acompanhamento ambulatorial que foram avaliados inicialmente em 2012. A evolução para complicações, mortalidade ou transplante hepático foi avaliada em 2014 e 2015, durante as consultas ambulatoriais e por telefone. Os níveis de adiponectina e resistina séricos foram medidos em amostras coletadas em 2012 (adiponectina e resistina) e 2014 (adiponectina). Trinta pessoas saudáveis serviram como grupo controle. **Resultados:** Foram observados níveis maiores de adiponectina e resistina em pacientes com cirrose em comparação com os controles. Pacientes classificados como Child-Pugh B/C apresentaram maiores níveis de adiponectina em relação aos pacientes com Child-Pugh A. Os pacientes foram acompanhados por uma mediana de 34 meses. Na segunda medida, os níveis de adiponectina aumentaram significativamente em pacientes não transplantados e diminuíram em receptores de transplante de fígado. A análise univariada de Cox mostrou que, entre os pacientes com doença hepática alcoólica, os níveis de adiponectina foram associados a uma menor sobrevida livre de transplante, sendo a sobrevida significativamente menor entre os pacientes com doença hepática alcoólica e adiponectina $\geq 17 \mu\text{g/mL}$ em comparação com aqueles com níveis $<17 \mu\text{g/mL}$. Nenhuma correlação foi encontrada entre os níveis de resistina e sobrevida. Na avaliação dos não diabéticos, níveis de HbA1c $<5,25\%$ e MELD ≥ 10 foram associadas de forma independente à menor sobrevida livre de transplante. A probabilidade de sobrevida livre de transplante foi de 92,9% nos pacientes sem fatores de mau prognóstico, 62,9% naqueles com um dos fatores e de apenas 23,8% nos indivíduos com os dois fatores de mau prognóstico (HbA1c $< 5,25\%$ e MELD ≥ 10). **Conclusão:**

Em portadores de cirrose em acompanhamento ambulatorial os níveis de adiponectina, mas não de resistina, se associaram à intensidade da disfunção hepática. Níveis mais elevados de adiponectina foram associados à pior prognóstico apenas nos pacientes portadores de doença hepática alcoólica, sugerindo seu potencial como biomarcador prognóstico. Além disso, em pacientes cirróticos não diabéticos, níveis de HbA1c $< 5,25$ % e MELD ≥ 10 são fatores de mau prognóstico na cirrose, estando associados a uma menor sobrevida livre de transplante, sendo a sobrevida menor ainda na associação dos dois fatores.

Palavras-chave: Cirrose Hepática. Prognóstico. Adiponectina. Resistina. HbA1c.

ABSTRACT

Introduction: Liver cirrhosis is a catabolic disease characterized by reduced adipose tissue mass, hyperinsulinemia, high incidence of insulin resistance and diabetes mellitus and a pro-inflammatory state represented by elevated levels of cytokines. The levels of adiponectin and resistin are increased in patients with cirrhosis, but the prognostic significance is unknown. We sought to investigate the factors associated with adiponectin, resistin and HbA1c levels and their prognostic significance in patients with cirrhosis. **Materials and methods:** Prospective cohort study that included 122 subjects with cirrhosis attending the outpatient clinic. The entire cohort was initially evaluated in 2012. Development of complications, mortality or liver transplantation was assessed in 2014 and 2015 during outpatient visits and by periodic phone calls. Serum adiponectin and resistin levels were measured in samples collected in 2012 (adiponectin and resistin) and 2014 (adiponectin). Thirty healthy subjects served as a control group. **Results:** Higher levels of adiponectin and resistin were observed among patients with cirrhosis compared to controls. Patients classified as Child-Pugh B/C had significantly higher levels of adiponectin in relation to Child-Pugh A. Patients were followed up for a median of 34 months. At second measurement, adiponectin levels increased significantly in non-transplant patients and decreased in liver transplant recipients. Univariate Cox's analysis showed that among patients with alcoholic liver disease, adiponectin levels were significantly associated to lower transplant-free survival, and survival was significantly lower among patients with alcoholic liver disease and adiponectin ≥ 17 $\mu\text{g/mL}$ as compared to those with levels <17 $\mu\text{g/mL}$. No correlation was found between the levels of resistin and survival. In the non-diabetic subjects, levels of HbA1c $< 5.25\%$ and MELD ≥ 10 were independently associated with the lower transplant-free survival. The probability of transplant-free survival was 92.9% in patients without poor prognostic factors, 62.9% in those with one factor and only 23.8% in subjects with both poor prognostic factors (HbA1c $< 5.25\%$ and MELD ≥ 10). **Conclusion:** In patients with cirrhosis in outpatient follow-up, adiponectin levels, but not resistin, were associated with the severity of hepatic dysfunction. Higher levels of adiponectin were associated with worse prognosis only in patients with alcoholic liver disease, suggesting a potential as a prognostic biomarker. In addition, in non-diabetic

cirrhotic patients, levels of HbA1c $< 5.25\%$ and MELD ≥ 10 are factors of poor prognosis in cirrhosis, being associated with a lower transplant-free survival, and survival is still lower in the association of the two factors.

Keywords: Liver Cirrhosis. Prognosis. Adiponectin. Resistin. HbA1c.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - A adiponectina e seus mecanismos de ação | 40 |
| Figura 2 - Esquema de seguimento dos pacientes incluídos no estudo. . | 61 |
| Figura 3 - Concentrações de adiponectina de acordo com o grupo de estudo..... | 73 |
| Figura 4 - Concentrações de resistina de acordo com o grupo de estudo | 74 |
| Figura 5 - Coeficiente de correlação de Spearman entre os níveis de adiponectina e as variáveis com significância estatística | 76 |
| Figura 6 - Concentrações de adiponectina e resistina entre os grupos controle e pacientes com cirrose categorizados de acordo com a Classificação de Child-Pugh | 77 |
| Figura 7 - Fluxograma dos pacientes incluídos e seguimento | 79 |
| Figura 8 - Níveis de adiponectina e MELD na primeira e na segunda avaliação (pacientes não transplantados). | 80 |
| Figura 9 - Curva de sobrevida livre de transplante de Kaplan Meier de todos os pacientes avaliados e dos pacientes com doença hepática alcoólica estratificada de acordo com adiponectina..... | 82 |
| Figura 10 – Níveis de HbA1c de acordo com o grupo do estudo..... | 86 |
| Figura 11 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os níveis de HbA1c e as variáveis com significância estatística | 88 |
| Figura 12 - Curvas de sobrevida de Kaplan Meier de acordo com os pontos de corte escolhidos para HbA1c, MELD e ambos os fatores..... | 90 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Prevalência estimada e mecanismo proposto para o DM nas diversas doenças hepáticas | 30 |
| Tabela 2 - Recomendações atuais para o diagnóstico de DM | 32 |
| Tabela 3 - Efeitos propostos da adiponectina no fígado | 42 |
| Tabela 4 - Efeitos da resistina na fisiopatologia da doença hepática..... | 52 |
| Tabela 5 - Critérios de West Haven | 62 |
| Tabela 6 - Estimativa de peso corporal em pacientes com edema..... | 62 |
| Tabela 7 - Estimativa de peso corporal de acordo com a intensidade da ascite | 63 |
| Tabela 8 - Classificação de Child-Pugh | 65 |
| Tabela 9 - Características sociodemográficas e clínicas dos pacientes incluídos no estudo | 70 |
| Tabela 10 - Variáveis relacionadas à composição corporal e exames laboratoriais dos pacientes incluídos no estudo | 71 |
| Tabela 11 - Características sociodemográficas e clínicas e exames laboratoriais dos controles incluídos no estudo | 72 |
| Tabela 12 - Análise de correlação entre as adipocinas e variáveis demográficas, antropométricas e laboratoriais..... | 75 |
| Tabela 13 - Características dos pacientes incluídos..... | 84 |
| Tabela 14 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os níveis de HbA1c e as variáveis numéricas | 87 |
| Tabela 15 - Hazard ratio não ajustado e ajustado dos fatores associados com sobrevida livre de transplante..... | 89 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|---|
| ADA | <i>American Diabetes Association</i> |
| ADSF | Fator Secretor Específico do Tecido Adiposo |
| AdipoR1 | Receptor de Adiponectina tipo 1 |
| AdipoR2 | Receptor de Adiponectina tipo 2 |
| ALT | Alanina Aminotransferase |
| AMPK | Proteína Quinase Ativada por Adenosina Monofosfato |
| APPL1 | Proteína Adaptadora Contendo um Domínio de Homologia de <i>Pleckstrin</i> |
| AST | Aspartato Aminotransferase |
| CBP | Cirrose Biliar Primária |
| CHC | Carcinoma Hepatocelular |
| CPT-1 | Carnitina Palmitoiltransferase 1 |
| DCCT | <i>Diabetes Control and Complications Trial</i> |
| DCV | Doença Cardiovascular |
| DHENA | Doença Hepática Esteatótica Não Alcoólica |
| DM | Diabetes <i>Mellitus</i> |
| DM2 | Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2 |
| DP | Desvio Padrão |
| ELISA | <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> |
| FA | Fosfatase Alcalina |
| fAd | Molécula Intacta de Adiponectina |
| FIZZ | Zona Inflamatória |
| gAd | Fragmento Globular da Adiponectina |
| GGT | Gama-Glutamil Transferase |
| HAI | Hepatite Autoimune |
| Hb | Hemoglobina |
| HbA1c | Hemoglobina Glicada A1c |
| HDL | Lipoproteína de Alta Densidade |
| HMW | Adiponectina de Alto Peso Molecular |
| HOMA-IR | Modelo de Avaliação da Homeostase para Resistência à Insulina |

| | |
|----------------|--|
| HR | <i>Hazard ratio</i> |
| HU-UFSC | Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina |
| IC 95% | Intervalo de Confiança de 95% |
| IGF-1 | Fator de Crescimento semelhante à Insulina tipo 1 |
| IL-6 | Interleucina 6 |
| IL-8 | Interleucina 8 |
| IL-10 | Interleucina 10 |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| LDL | Lipoproteína de Baixa Densidade |
| LMW | Adiponectina de Baixo Peso Molecular |
| LPS | Lipopolissacárides |
| MCP-1 | Proteína quimiotática de monócitos 1 |
| MELD | <i>Model for End-Stage Liver Disease</i> |
| MMW | Adiponectina de Médio Peso Molecular |
| NASH | Esteatohepatite Não Alcoólica |
| NF-kB | Fator Nuclear Kappa B |
| PCR | Proteína C Reativa |
| PPAR- α | Receptor Alfa Ativado pelo Proliferador de Peroxissomo |
| PPAR- γ | Receptor Gama Ativado pelo Proliferador de Peroxissomo |
| QUICKI | Índice Quantitativo de Verificação de Sensibilidade à Insulina |
| RPB4 | Proteína 4 de Ligação do Retinol |
| RELM | Molécula semelhante à Resistina |
| RI | Resistência à Insulina |
| RNI | Relação Normatizada Internacional |
| ROS | Espécies Oxigênio Reativas |
| SM | Síndrome Metabólica |
| SNC | Sistema Nervoso Central |
| SREBP1c | Proteína 1c de Ligação ao Elemento Regulador de Esterol |
| TAP | Tempo de Atividade de Protrombina |
| TGF- β 1 | Fator Transformador de Crescimento - Beta 1 |

| | |
|---------------|--|
| TNF- α | Fator de Necrose Tumoral Alfa |
| TSH | Hormônio Tiroestimulante |
| TOTG | Teste Oral de Tolerância à Glicose |
| TZD | Tiazolidinedionas |
| UKPDS | <i>United Kingdom Prospective Diabetes Study</i> |
| VCAM | Moléculas de Adesão Celular Vascular |
| VG | Variabilidade glicêmica |
| VHB | Vírus da Hepatite B |
| VHC | Vírus da Hepatite C |
| VLDL | Lipoproteína de Muito Baixa Densidade |
| WHO | <i>World Health Organization</i> |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 23 |
| 1.1 ASPECTOS GERAIS DA CIRROSE..... | 23 |
| 1.1.1 Epidemiologia..... | 23 |
| 1.1.2 Principais causas..... | 24 |
| 1.1.3 História natural..... | 24 |
| 1.2 IMPACTOS METABÓLICOS DA CIRROSE | 25 |
| 1.2.1 Impactos gerais sobre o sistema endócrino | 26 |
| 1.2.2 Impacto da cirrose sobre o metabolismo da glicose..... | 27 |
| 1.2.3 Parâmetros de metabolismo da glicose na cirrose | 31 |
| 1.2.3.1 Recomendações para diagnóstico de diabetes <i>mellitus</i> | 31 |
| 1.2.3.2 HbA1c como parâmetro de controle glicêmico | 33 |
| 1.2.3.3 Fatores de interferência e impacto da doença hepática crônica sobre os valores de HbA1c | 34 |
| 1.3 ADIPOCINAS NA CIRROSE HEPÁTICA..... | 36 |
| 1.3.1 Impactos gerais da cirrose sobre as adipocinas | 36 |
| 1.3.2 Adiponectina | 37 |
| 1.3.2.1 Ações biológicas da adiponectina | 37 |
| 1.3.2.2 Adiponectina e fígado..... | 41 |
| 1.3.2.3 Adiponectina e doenças hepáticas..... | 44 |
| 1.3.2.4 Adiponectina e sobrevida | 48 |
| 1.3.3 Resistina | 49 |
| 1.3.3.1 Ações biológicas da resistina..... | 49 |
| 1.3.3.2 Resistina e Fígado | 51 |
| 1.3.3.3 Resistina e Doenças Hepáticas | 53 |
| 2 JUSTIFICATIVA..... | 55 |
| 3 OBJETIVOS | 57 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL | 57 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 57 |
| 4 MÉTODOS..... | 59 |
| 4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO | 59 |
| 4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM..... | 59 |
| 4.3 PROCEDIMENTOS E VARIÁVEIS EM ESTUDO | 60 |
| 4.3.1 Avaliação inicial e seguimento dos pacientes | 60 |

| | |
|---|------------|
| 4.3.2 Variáveis sociodemográficas e clínicas..... | 61 |
| 4.3.3 Parâmetros antropométricos..... | 62 |
| 4.3.4 Variáveis laboratoriais | 63 |
| 4.3.4.1 Exames de rotina..... | 63 |
| 4.3.4.1.1 <i>Obtenção das amostras de soro</i> | <i>63</i> |
| 4.3.4.1.2 <i>Determinação dos exames laboratoriais</i> | <i>63</i> |
| 4.3.4.2 Níveis séricos de adiponectina e resistina..... | 64 |
| 4.3.4.2.1 <i>Determinação dos níveis séricos de adiponectina</i> | <i>64</i> |
| 4.3.4.2.2 <i>Determinação dos níveis séricos de resistina.....</i> | <i>65</i> |
| 4.3.5 Modelos prognósticos | 65 |
| 4.3.6 Cálculo do modelo de avaliação da homeostase para resistência à insulina (HOMA-IR) | 66 |
| 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 66 |
| 4.5 ASPECTOS ÉTICOS | 67 |
| 5 RESULTADOS | 69 |
| 5.1 CARACTERÍSTICAS DOS PORTADORES DE CIRROSE INCLUÍDOS NO ESTUDO..... | 69 |
| 5.2 CARACTERÍSTICAS DO GRUPO CONTROLE | 72 |
| 5.3 COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS DE ADIPOCINAS ENTRE OS GRUPOS..... | 73 |
| 5.4 FATORES ASSOCIADOS AOS NÍVEIS DE ADIPOCINAS ENTRE OS PACIENTES CIRRÓTICOS | 74 |
| 5.5 SEGUIMENTO DOS PACIENTES CIRRÓTICOS EM ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL E SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DOS NÍVEIS DE ADIPOCINAS | 78 |
| 5.5.1 Seguimento dos pacientes | 78 |
| 5.5.2 Medidas seriadas de adiponectina..... | 79 |
| 5.5.3 Significado prognóstico dos níveis de adipocinas | 81 |
| 5.6 PARÂMETROS DE METABOLISMO DA GLICOSE ENTRE PACIENTES CIRRÓTICOS ESTÁVEIS EM ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL | 83 |
| 5.6.1 Características da casuística | 83 |
| 5.6.2 Relação entre HbA1c e variáveis em estudo | 86 |
| 5.6.3 Significado prognóstico da HbA1c em cirróticos..... | 89 |
| 6 DISCUSSÃO | 93 |
| 7 CONCLUSÕES..... | 105 |

| | |
|--|------------|
| REFERÊNCIAS..... | 107 |
| ANEXO A – PROJETO DE PESQUISA SUBMETIDO AO COMITÊ DE ÉTICA..... | 145 |
| ANEXO B – PROJETO DE PESQUISA APROVADO PELO COMITÊ DE ÉTICA..... | 177 |
| ANEXO C – EMENDA DO PROJETO DE PESQUISA APROVADO PELO COMITÊ DE ÉTICA | 181 |
| ANEXO D – RELATÓRIO PARCIAL ENVIADO AO CEPESH-UFSC | 185 |
| ANEXO E – ARTIGO PUBLICADO | 201 |
| ANEXO F – ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO | 235 |
| ANEXO G – PUBLICAÇÕES, APRESENTAÇÕES ORAIS E POSTERES | 279 |
| APENDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS 2012. | 281 |
| APENDICE B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS 2014. | 293 |
| APENDICE C – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS DO GRUPO CONTROLE..... | 303 |
| APENDICE D – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS 2015. | 309 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS DA CIRROSE

1.1.1 Epidemiologia

A cirrose hepática é o estágio final de diversas doenças crônicas do fígado que cursam com fibrose progressiva e é um grande problema de saúde pública que acarreta significativa morbidade e mortalidade globalmente (1, 2), sendo responsável por grande incapacidade funcional e aumento dos gastos com a saúde (3). No Reino Unido, em meados de 2001, a incidência estimada de cirrose foi de 14,55 por 100.000 pessoas, com prevalência de 76,3 por 100 mil habitantes com mais de 25 anos. (4). Já nos Estados Unidos a cirrose acomete aproximadamente 0,27% da população, o que correspondia a 633.323 adultos no ano de 2010 (5), sendo a prevalência maior nos negros não hispânicos (5).

A mortalidade anual da cirrose pode variar entre 1% e 57% dependendo dos eventos de descompensação (6). Nos Estados Unidos no período de 1999 a 2010 um estudo populacional demonstrou mortalidade nos cirróticos de 26,4% por intervalo de 2 anos, em comparação com 8,4% nos controles (5). A cirrose hepática foi responsável por 1,8% de todas as mortes na Europa (3) e mais de um milhão de mortes no mundo no ano de 2010 (1), sendo a 12ª causa de morte nos Estados Unidos e a 5ª causa de morte entre 45 e 54 anos em 2009 (7). As mortes por cirrose aumentaram globalmente de 2005 a 2015 na Ásia Central, no norte da África e no Oriente Médio. A incidência de carcinoma hepatocelular (CHC) associado à cirrose também vem aumentando, causando 47.000 mortes por ano na Europa (3). Essas tendências refletem, em grande parte, o aumento do consumo de álcool e da infecção por hepatite C em algumas partes do mundo (8).

1.1.2 Principais causas

As hepatites virais figuram entre as principais causas de doenças hepáticas, com estimativa de 180 milhões de indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C (VHC) (9) e mais de 350 milhões de infectados pelo vírus da hepatite B (VHB) no mundo (10).

O consumo de álcool, bem como a doença hepática alcoólica, têm aumentado em todo o mundo (11, 12), sendo a causa mais comum de cirrose no mundo desenvolvido (13). O álcool é responsável por 44% de todas as mortes por doença hepática nos Estados Unidos (13). No entanto, o prognóstico a longo prazo de pacientes com cirrose melhora com a abstinência de álcool (13). Além disso, o consumo de álcool é considerado um fator de risco para a progressão da cirrose em pacientes com hepatite C e de risco de hepatocarcinoma em pacientes com hepatite B ou C (11).

O consumo de álcool e as hepatites virais crônicas B e C são as causas mais comuns de cirrose, porém a esteato-hepatite não alcoólica (NASH) devido à doença hepática esteatótica não alcoólica (DHENA) está emergindo como uma causa cada vez mais importante, especialmente nos países industrializados, como resultado do aumento das taxas de obesidade (11, 14).

Outros agentes etiológicos da cirrose são os fenômenos autoimunes (cirrose biliar primária, colangite esclerosante, hepatite autoimune), doenças genéticas (doença de Wilson, hemocromatose, deficiência de alfa-1-antitripsina), toxinas, fármacos e alterações vasculares (12, 15).

1.1.3 História natural

Em geral o curso clínico da cirrose se caracteriza por uma fase prolongada assintomática de doença compensada, com duração média de 10 a 12 anos, seguida de progressão para descompensação em até 60% dos cirróticos (12). A ascite é a complicação mais comum, ocorrendo em 50% dos casos (16). No entanto, quadros de hemorragia digestiva secundária à hipertensão portal, alterações na função renal (síndrome hepatorenal), infecções, distúrbios da coagulação e um largo espectro de alterações neuropsiquiátricas (encefalopatia hepática) são

frequentemente observados durante o acompanhamento desses casos (16, 17). As taxas de descompensações anuais variam entre 5% e 7% (12). Uma vez ocorrido o primeiro episódio de descompensação, as complicações tendem a se acumular, e a expectativa de vida é reduzida de forma significativa, com sobrevida média de dois anos (12). A deterioração progressiva da função hepática que ocorre nos pacientes portadores de cirrose está associada a múltiplas complicações como sangramento digestivo secundário à hipertensão portal, ascite, síndrome hepatorenal, encefalopatia hepática, infecções bacterianas e carcinoma hepatocelular (2, 18). A história natural está relacionada a uma série de fatores relacionados ao paciente (como idade, comorbidades, predisposição genética) e à doença (etiologia e, principalmente, presença de complicações da doença) (18), e, portanto, estabelecer o prognóstico de um paciente cirrótico é uma tarefa desafiadora.

Ainda que o prognóstico da cirrose varie de acordo com múltiplos fatores, a necessidade de modelos prognósticos para manejar os pacientes diante de diferentes opções terapêuticas é clara. Os dois principais modelos utilizados na avaliação do prognóstico da cirrose hepática são os escores de Child-Pugh e o MELD (*Model for End-Stage Liver Disease*) (19, 20), sendo o MELD utilizado nos pacientes em fila para transplante hepático (21, 22). Apesar de amplamente validados, ambos apresentam importantes limitações, como a ausência de inclusão de variáveis relacionadas à função renal (no caso do escore de Child-Pugh) (16) e a subestimação da gravidade em mulheres (no caso do MELD) (23). Além disso, importantes fatores relacionados à evolução para complicações e óbitos na cirrose hepática, como os distúrbios metabólicos e nutricionais, não foram incluídos nos modelos citados anteriormente.

1.2 IMPACTOS METABÓLICOS DA CIRROSE

O fígado é primariamente um órgão metabólico que orquestra uma ordem complexa de processos bioquímicos e fisiológicos, incluindo a regulação de proteínas e o metabolismo energético (24). Na cirrose, a composição corporal se altera nas fases iniciais da doença e aumenta com a sua progressão, com significativa redução da massa celular e gordura corporal e redistribuição da água corporal (25).

Consequentemente, pacientes com doença hepática avançada apresentam desnutrição (24).

A perda de gordura corporal que ocorre nos cirróticos implica em uma série de alterações metabólicas, visto que o tecido adiposo não é simplesmente um depósito de lipídios, mas é reconhecido também como uma importante fonte de hormônios que influenciam na adiposidade corporal, homeostase da glicose, inflamação e doenças cardiovasculares (26).

1.2.1 Impactos gerais sobre o sistema endócrino

O fígado é o maior órgão envolvido no metabolismo e local de síntese de proteínas e hormônios, como a globulina ligadora de hormônios sexuais e a globulina ligadora de tiroxina (27). Além disso, está envolvido nos processos de detoxificação, de modo que as doenças hepáticas crônicas são comumente associadas com endocrinopatias (27). A disfunção endócrina secundária à disfunção hepática pode ocorrer diretamente pelo efeito tóxico ou indiretamente por alteração na síntese de proteínas carreadoras (27). Além disso, existe relação bidirecional complexa entre fígado e tireoide e fígado e suprarrenal, na qual a disfunção de um órgão causa anormalidades na função do outro (28).

As manifestações endócrinas mais comuns na cirrose são distúrbios tireoidianos, hipogonadismo, baixa estatura, osteodistrofia hepática, atraso puberal e insuficiência suprarrenal (27), algumas delas reversíveis após transplante hepático (29).

Pacientes com cirrose apresentam alterações tireoidianas em 10-25% dos casos, havendo maior prevalência de distúrbios tireoidianos autoimunes na cirrose biliar primária (CBP), hepatite autoimune (HAI), colangite esclerosante e hepatite C (28, 30-33). Além disso, pacientes com cirrose tem frequentemente perfil bioquímico de síndrome do doente eutireoidiano, caracterizada por um estado de adaptação ou desregulação do controle de *feedback* tireotrópico, onde ocorre redução do T3 e aumento do T3 reverso, com ou sem alteração nos níveis de T4 livre e hormônio tireoestimulante (TSH) (34).

A função do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal também é afetada na cirrose e hipogonadismo ocorre em 20 a 65% dos casos,

especialmente na doença hepática alcoólica, onde se sobrepõe ao efeito inibitório do álcool no eixo, e na hemocromatose (27, 35, 36). Deficiência da ação do hormônio de crescimento ocorre em virtude dos baixos níveis de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) que é sintetizado pelo fígado (37). Alterações ósseas com desorganização da microarquitetura óssea e aumento da incidência de fraturas ocorrem em 14 a 68% dos cirróticos (38, 39). Esse conjunto de alterações, denominado osteodistrofia hepática, é secundário a uma série de alterações endócrinas, como redução da massa magra, hipovitaminose D, hipogonadismo, hipocortisolismo, desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal e deficiência de IGF-1, além dos efeitos do álcool e das doenças colestáticas (40).

Disfunção adrenocortical, caracterizada por insuficiência suprarrenal relativa, têm sido vista em cirróticos estáveis, além dos descompensados com sepse, ascite e sangramento e após transplante hepático, com prevalência de 30% a 60% (41).

Além disso, anormalidades no metabolismo da glicose decorrentes da resistência hepática à insulina são comuns em algumas doenças hepáticas como na doença hepática esteatótica não alcoólica e hepatite C (28).

1.2.2 Impacto da cirrose sobre o metabolismo da glicose

O diabetes e as doenças hepáticas são importantes causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. A prevalência e a mortalidade relacionadas ao diabetes *mellitus* (DM) aumentaram significativamente nas últimas décadas, ocasionando significativo impacto econômico e social (8, 42). De forma semelhante, a mortalidade relacionada às doenças hepáticas vem crescendo, com mais de um milhão de mortes por cirrose hepática no ano de 2010 (1). A coexistência de alterações do metabolismo da glicose e doenças hepáticas crônicas é comum em parte pela elevada prevalência das duas condições. Entretanto, o fígado é a principal fonte endógena de glicose e o principal local envolvido no metabolismo da insulina (43), desempenhando um papel fundamental na homeostase da glicose e seu mau funcionamento está relacionado ao aparecimento de diabetes (44,

45). Esta associação foi descrita por Bohan em 1947 (46) e nomeada como diabetes hepatogênico por Megyesi (44).

A distinção entre DM hepatogênico e DM tipo 2 (DM2) pode ser complicada, uma vez que DM2 também é um fator de risco para cirrose hepática (47). Os seguintes fatores sugerem o diagnóstico de DM hepatogênico: início após o diagnóstico da cirrose, ausência dos fatores de risco clássicos para DM2, glicemia de jejum e hemoglobina glicada normais, com teste oral tolerância à glicose (TOTG) alterado e menor incidência de complicações do DM (45). Ambas as situações impactam no prognóstico dos pacientes com cirrose, entretanto, existe potencial para reversão ou melhora do DM hepatogênico após o transplante hepático, o que não é observado no DM2 (48).

As doenças hepáticas estão associadas a aumento da prevalência de intolerância à glicose e diabetes *mellitus* (43). Nos cirróticos, intolerância à glicose é observada em cerca de um quarto dos pacientes e diabetes em até 70% (49-53). A prevalência de DM tipo 2 em cirróticos é cerca de 5 vezes maior do que em pacientes sem cirrose (54). Pacientes cirróticos com DM tem maior risco de complicações relacionadas à doença hepática, incluindo ascite, infecções bacterianas e encefalopatia hepática, e morte do que cirróticos sem DM (51, 52, 55-58). Por outro lado, o risco de morte por cirrose em diabéticos é 2,5 vezes maior que na população geral, sendo maior que a mortalidade cardiovascular cujo índice é 1,3 vezes (59). O pobre controle glicêmico em diabéticos está associado com aumento da incidência de carcinoma hepatocelular (60). O mecanismo pelo qual o DM influencia na carcinogênese ainda não está claro, porém alguns estudos sugerem o papel da hiperinsulinemia, que já foi associada a vários tipos de tumores sólidos (60). Sabe-se que a insulina estimula a mitose celular por ação direta e, indiretamente, estimulando a via intracelular do IGF-1, um grande efector mitogênico e antiapoptótico na carcinogênese, de modo que a hiperinsulinemia parece ser a ligação entre DM2 e hepatocarcinoma (60).

Alguns estudos demonstram a associação entre a resistência à insulina (RI) e estágios mais avançados de fibrose ou cirrose, especialmente em portadores de hepatite C (61-63), bem como a associação entre NASH e síndrome metabólica (SM) (64). Outras evidências recentes demonstram a associação entre a resistência insulínica e a ocorrência de carcinoma hepatocelular ou mortalidade relacionada à cirrose pelo VHC (65).

Vários mecanismos parecem estar relacionados à hiperinsulinemia dos pacientes cirróticos, como a redução do *clearance* de insulina, o aumento da resistência hepática à insulina e a hipertrofia das ilhotas pancreáticas, uma resposta adaptativa das células beta ao aumento da resistência à insulina (66). Outros fenômenos secundários à doença hepática avançada e que parecem contribuir para resistência insulínica nos cirróticos incluem o acúmulo de produtos finais de glicação avançada e de fator induzido por hipóxia (67). A hiperinsulinemia, que parece ser resultado tanto da disfunção hepática quanto das colaterais portossistêmicas, está associada à resistência à insulina, mediada pela redução da afinidade do receptor de insulina, redução do número de receptores expostos na superfície celular e alterações funcionais desses receptores (68-70).

Várias doenças hepáticas crônicas exercem impacto negativo sobre o metabolismo da glicose, por mecanismos variados (tabela 1).

Tabela 1 - Prevalência estimada e mecanismo proposto para o DM nas diversas doenças hepáticas

| Doença hepática | Prevalência estimada DM | Mecanismos propostos |
|--------------------------|--------------------------------|--|
| DHENA | 14% a 23,2% (71, 72) | Aumento da resistência hepática à insulina (73, 74). Alteração na função mitocondrial hepática com impacto sobre metabolismo de energia (75). Alterações no eixo entero-insular (76, 77). Polimorfismos genéticos como o TCF7L2, WFS1, KCNQ1 (78-80). |
| Hepatite C | 17,5% a 37,8% (81, 82) | Alterações morfológicas e funcionais nas células beta pancreáticas infectadas pelo VHC (83). Alteração na sinalização da insulina através de ação direta e indireta do VHC (84-88). |
| Hemocromatose | 10,5% a 21,9% (89, 90) | Estresse oxidativo nas células beta pancreáticas (91, 92). Doença hepática avançada (93, 94). Predisposição genética (95). |
| Cirrose | 37% a 71% (49, 54, 96) | Redução na depuração de insulina pelo fígado (68-70). Alterações da função e número dos receptores de insulina (68-70). Acúmulo de produtos finais de glicação avançada e de fator induzido por hipóxia (67). |
| Pós-transplante hepático | 13,7% a 44% (97, 98) | Alterações na gliconeogênese, glicogenólise e/ou sinalização da insulina (97, 99-101). Redução na atividade das células beta pancreáticas (100, 102-105). Alteração na microbiota intestinal (100, 106). |

DM = Diabetes *mellitus*; DHENA = Doença hepática esteatótica não alcoólica; VHC = Vírus da hepatite C.

1.2.3 Parâmetros de metabolismo da glicose na cirrose

1.2.3.1 Recomendações para diagnóstico de diabetes *mellitus*

Ao longo das últimas décadas houve uma expressiva evolução nos critérios para diagnóstico das alterações do metabolismo da glicose. Entretanto, a dosagem da glicemia permaneceu por muitos anos como único método recomendado, com variações apenas nos pontos de corte para definição das diferentes situações clínicas (107). Medidas de glicemia podem refletir apenas alterações agudas e a utilização de marcadores que capturem a exposição glicêmica de longo prazo, como a hemoglobina glicada A1c (HbA1c), tem potencial de representar ferramentas diagnósticas mais adequadas neste contexto (108).

A HbA1c é considerada padrão ouro para o manejo dos pacientes com diabetes *mellitus*, sendo utilizada desde 1985 (109) como um parâmetro para ajuste de dose da terapia e auxílio na educação dos pacientes, visto que as complicações micro e macrovasculares do DM podem ser prevenidas ou retardadas com um ótimo controle glicêmico (110, 111). No ano de 2009, com a recomendação por parte do *International Expert Committee*, a dosagem de HbA1c passou a ser recomendada também para diagnóstico do diabetes (112). Tal recomendação foi posteriormente incluída nos guidelines da *American Diabetes Association (ADA)* e *World Health Organization (WHO)* e são atualmente adotadas (113, 114). A ADA e a Associação Européia para o Estudo do DM recomendam o teste da HbA1c para diagnóstico de DM, para controle glicêmico e ajuste de dose da terapia no seu algoritmo de tratamento do DM (110, 111, 113, 115), conforme a tabela 2.

Tabela 2 - Recomendações atuais para o diagnóstico de DM

| Critério diagnóstico de DM (113) | Vantagens | Desvantagens |
|---|---|--|
| HbA1c \geq 6,5% | <p>Não necessita jejum ou múltiplas amostras (116).</p> <p>Reflete os níveis crônicos de glicemia (116).</p> <p>Relação com risco de complicações crônicas (116).</p> <p>Não sofre alterações durante períodos de estresse (113).</p> <p>Útil como guia nas decisões terapêuticas e ajuste de terapia (116).</p> <p>Padronização internacional com DCCT e UKPDS (116).</p> <p>Menor coeficiente de variação inter e intrapessoal (116).</p> | <p>Sofre interferências em algumas doenças como hemoglobinopatias, alterações na eritropoese ou no <i>turnover</i> de células vermelhas (116).</p> <p>Não apropriado para o diagnóstico de diabetes gestacional (116).</p> <p>Maior custo que glicemia (113).</p> <p>Limite superior de normalidade de 6,0% gera um hiato entre 6,1 e 6,5% para o diagnóstico de diabetes (116).</p> <p>Discrepância entre nível diagnóstico de 6,5% e alvo terapêutico de 7,0% (116).</p> |
| Glicose plasmática venosa jejum \geq 7,0 mmol/L (126 mg/dL) | <p>Amplamente disponível e acessível na maioria dos países (108).</p> <p>Rápido processamento (108).</p> <p>Não sofre interferência de hemoglobinopatias, exceto se paciente muito doente (108).</p> <p>Útil no diagnóstico de glicemias muito elevadas quando há</p> | <p>Variabilidade diária (108)</p> <p>Necessita jejum (108).</p> <p>Eleva-se nas doenças severas ou agudas (108).</p> <p>Não é indicada para monitorização do tratamento (117).</p> |

sintomas clássicos de hiperglicemia ou crise hiperglicêmica (113).

| | | |
|--|--|--|
| <p>Glicemia após 2 horas do TOTG \geq 11,1 mmol/L (200 mg/dL)</p> | <p>Indicado para o diagnóstico de diabetes gestacional (118). Classifica os vários graus de intolerância à glicose (119). Identifica pacientes com risco de desenvolvimento de complicações do diabetes (120).</p> | <p>Necessita várias coletas pela manhã após jejum noturno (120). Fracamente reprodutibilidade, incluindo a variação biológica das concentrações plasmáticas de glicose, os efeitos variáveis da administração de uma solução de glicose hiperosmolar no esvaziamento gástrico e os efeitos da temperatura ambiente (120, 121).</p> |
|--|--|--|

DM = Diabetes mellitus; HbA1c = Hemoglobina glicada A1c; DCCT = *Diabetes Control and Complications Trial*; UKPDS = *United Kingdom Prospective Diabetes Study*; TOTG = Teste oral de tolerância à glicose.

1.2.3.2 HbA1c como parâmetro de controle glicêmico

A hemoglobina A é a forma principal e nativa da hemoglobina (Hb). Em pessoas saudáveis 97% da hemoglobina é tipo A1, 2,5% é tipo Hb A2 e 0,5% é Hb fetal (122). Aproximadamente 94% da HbA é não glicada e 6% é glicada (110). A hemoglobina glicada consiste em HbA1a e HbA1b que juntas somam 1% e HbA1c que corresponde a 5%. A HbA1c é formada quando a glicose se liga de forma estável e irreversível ao terminal NH₂ da valina na cadeia beta da molécula da hemoglobina (110, 123). A formação da HbA1c depende da interação entre as concentrações de glicose sanguínea e a meia-vida das hemácias e é diretamente proporcional às concentrações de glicose, de modo que a hiperglicemia crônica aumenta a formação de HbA1c (123). Aproximadamente 50% da HbA1c é resultado da exposição à glicose durante os últimos 30 dias, 40% dos últimos 31-90 dias e 10% é formado pela exposição à glicose nos 91-120 dias prévios, de modo que sua mensuração representa a média do status glicêmico dos últimos 2-3

meses (110).

A manutenção do nível de HbA1c abaixo de 7% é considerada uma das principais metas no controle do DM. Os estudos do *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) e *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) indicaram que as complicações crônicas começam a se desenvolver quando os níveis de HbA1c estão permanentemente acima de 7% (124, 125). Entretanto, mais recentemente tem sido sugerido que as metas de controle glicêmico devam ser individualizadas conforme a necessidade de cada paciente e aspectos específicos da sua doença (111). Meta de 6,5% pode ser recomendada em pacientes selecionados, sem hipoglicemia significativa ou efeitos adversos do tratamento, com DM de curta duração, longa expectativa de vida, sem comorbidades ou complicações cardiovasculares, tratados com mudanças no estilo de vida e drogas que não causam hipoglicemia, como metformina (111). Entretanto, meta de HbA1c de 8,0% pode ser apropriada para pacientes com história de hipoglicemia grave, expectativa de vida limitada, complicações micro ou macrovasculares avançadas, múltiplas comorbidades ou diabetes de longa duração na qual é difícil o controle através de educação, monitorização adequada da glicemia e doses eficazes de medicação como insulina (111).

1.2.3.3 Fatores de interferência e impacto da doença hepática crônica sobre os valores de HbA1c

Vários fatores interferem na dosagem de HbA1c, podendo resultar em níveis falsamente baixos ou elevados. Entre os fatores que podem elevar os valores de HbA1c encontram-se as anemias associadas à *turnover* celular diminuído (ex. deficiência de ferro, folato e vitamina B12) (126-128), uremia (129), hipertrigliceridemia acentuada (130) e ingestão crônica de opióides e salicilatos (128, 131). Alguns fatores frequentemente relacionados às doenças hepáticas também podem levar a níveis falsamente elevados de HbA1c, como hiperbilirrubinemia acentuada (> 20mg/dL) (132) e alcoolismo (133, 134). Por outro lado, situações como anemia por perda sanguínea aguda ou crônica, hemólise, gravidez e ingestão de vitamina E são capazes de reduzir falsamente a HbA1c (135-141).

O tratamento da hepatite C crônica com interferon e ribavirina também podem reduzir os níveis de HbA1c, possivelmente devido à

hemólise induzida pela ribavirina (142, 143). Desta forma, mesmo com as terapias livres de interferon atualmente disponíveis, deve-se ter cuidado na interpretação da HbA1c em pacientes tratados com esquemas contendo ribavirina.

Outro fator importante relacionado à redução dos níveis de HbA1c é a cirrose hepática. Cacciatore *et al.* demonstraram que, ainda que intolerância à glicose e DM pelo TOTG tenham sido observados respectivamente em 15% e 27% dos pacientes com cirrose incluídos, os níveis de HbA1c dos cirróticos não diferiram dos portadores de hepatites crônicas e dos controles os quais não apresentavam DM (144). Nomura *et al.* também encontraram níveis de HbA1c semelhantes entre portadores de cirrose e controles não diabéticos, ainda que entre os cirróticos os níveis de glicemia fossem significativamente mais elevados (145). Neste mesmo estudo, a hepatite crônica sem cirrose não pareceu interferir significativamente sobre os níveis de HbA1c (145). Outros pequenos estudos encontraram resultados semelhantes (43, 146). Mais recentemente, um estudo incluiu 200 portadores de cirrose descompensada avaliados para transplante hepático, com HbA1c medida e três glicemias anteriores disponíveis, para realização do cálculo da HbA1c estimada (147). Neste estudo, uma diferença superior a 0,5% entre a HbA1c medida e estimada foi observada em 47% dos pacientes e a HbA1c foi menor que 5% em 49% dos casos (147). As razões para os níveis reduzidos de HbA1c em portadores de cirrose não estão completamente elucidadas. Uma possível explicação é a redução da vida útil dos eritrócitos e a anemia frequentemente observada nos portadores de doença hepática avançada (148). De fato, portadores de cirrose apresentam maior risco de anemia por sangramento aparente ou oculto relacionado à hipertensão portal, além de hemólise principalmente relacionada ao hiperesplenismo (148-150). Além disso, Lahousen *et al.* demonstraram que os níveis de HbA1c em cirróticos e em pacientes tratados com ribavirina se correlacionaram negativamente com a contagem de reticulócitos, reforçando a interferência da hemólise sobre este teste (43).

Desta forma, os níveis de HbA1c não parecem ser um parâmetro acurado para o controle glicêmico, especialmente no contexto da doença hepática mais avançada (67, 145). Ainda que os efeitos da cirrose sobre a HbA1c sejam conhecidos há décadas, não existem dados a respeito do significado prognóstico dos níveis de HbA1c nestes pacientes.

1.3 ADIPOCINAS NA CIRROSE HEPÁTICA

1.3.1 Impactos gerais da cirrose sobre as adipocinas

O tecido adiposo, inicialmente considerado apenas como um depósito de estoques de energia, tem múltiplos papéis nas adaptações sistêmicas, atuando como um órgão endócrino que recebe informações de outros tecidos metabólicos como músculos, cérebro e fígado, e transmite sinais na forma de adipocinas que atuam local ou sistemicamente na regulação do balanço de nutrientes, regulação do metabolismo da glicose e lipídeos, homeostase energética, sensibilidade à insulina, inflamação e adipogênese, além de interações com o sistema imune (26, 151).

O adipócito secreta várias adipocinas: leptina, adiponectina, adiposina, resistina, visfatina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e fator inibidor do ativador de plasminogênio (152). Diversos estudos têm relatado que a desregulação das adipocinas afeta as doenças hepáticas. Por exemplo, níveis de leptina e TNF- α são significativamente maiores, e níveis de adiponectina e grelina são significativamente menores em pacientes com NASH do que em controles (153). Outros estudos têm revelado a obesidade como um fator de risco independente para fibrose nas doenças hepáticas crônicas, como NASH (154), doença hepática alcoólica (155) e hepatite C crônica (156).

A cirrose hepática é uma doença catabólica caracterizada por redução da massa de tecido adiposo, hiperinsulinemia, alta incidência de RI e DM e um estado pró-inflamatório representado pela elevação dos níveis de citocinas, incluindo o TNF- α (157). Portanto, é provável que as alterações na composição corporal supracitadas, observadas nos indivíduos cirróticos, estejam associadas a diversos efeitos metabólicos, possivelmente mediados por distúrbios no equilíbrio da produção e/ou ação das adipocinas.

Dentre as adipocinas, a adiponectina e a resistina têm se destacado no contexto das doenças hepáticas.

1.3.2 Adiponectina

1.3.2.1. Ações biológicas da adiponectina

A adiponectina é uma proteína de 28 kDa composta de 274 aminoácidos (158), cujo gene GBP28 está localizado no braço longo do cromossomo 3, locus 3q27 (159). Foi identificada por quatro grupos independentes em 1995 e inicialmente chamada de apM1, ACRP30, AdipoQ e GBP28 (158, 160-162). É composta de uma sequência de sinal aminoterminal, uma região variável, um domínio tipo colágeno e um domínio globular carboxiterminal (158). A adiponectina existe na circulação em duas isoformas: como molécula intacta (full-length (fAd)) e como fragmento globular (fragmento clivado proteolítico, consistindo de domínio globular (gAd)) (163, 164). O fragmento globular está presente na circulação em pequena quantidade e aumenta a oxidação de ácidos graxos livres no músculo, sendo importante no controle da homeostase energética (163). A molécula intacta tem a capacidade de agrupar domínios globulares em três isoformas oligoméricas: forma trimérica (baixo peso molecular - LMW), hexamérica (médio peso molecular - MMW) e multimérica (alto peso molecular - HMW) (164, 165). Cada forma oligomérica apresenta propriedades biológicas distintas e ativa diferentes vias de sinalização celular em diversos tecidos (165). A forma monomérica (30 KDa) aparece confinada ao adipócito e não foi observada na circulação (166). Apenas a forma LMW ativa a proteína quinase ativada por adenosina monofostato (AMPK) no músculo esquelético, inibe a secreção de interleucina 6 (IL-6) e estimula a secreção de interleucina 10 (IL-10) (164, 165). As formas LMW e HMW ativam o fator nuclear kappa B (NF-kB) (167). A forma HMW é a forma mais ativa na mediação de várias ações da adiponectina, especialmente na sensibilidade à insulina (168). A ação central da adiponectina é atribuída às formas LMW e MMW (169).

A adiponectina circula no plasma em concentrações que representam 0,05% de todas as proteínas plasmáticas (158). Apesar de sua abundante presença no plasma, sua meia-vida é de 75 minutos (170). Os efeitos da adiponectina são mediados por receptores/proteínas integrantes da membrana tipo 1 (AdipoR1), mais abundante no músculo esquelético, e tipo 2 (AdipoR2), que se expressa predominantemente no fígado (171). AdipoR1 tem alta afinidade com o fragmento globular e

baixa afinidade com a molécula intacta e AdipoR2 tem afinidade intermediária tanto com a molécula intacta quanto com o fragmento globular (171). A adiponectina também se liga à T-caderina, um receptor localizado no endotélio vascular e nas células musculares que se liga às formas hexaméricas e multiméricas de adiponectina e pode justificar os efeitos antiaterogênicos e vasculoprotetores da adiponectina (172-174).

A figura 1 apresenta os principais mecanismos de ação da adiponectina. A adiponectina interage com a proteína adaptadora contendo um domínio de homologia de pleckstrin (APPL1) (175) e provoca a ativação da via do AMPK e do receptor alfa ativado pelo proliferador de peroxissomo (PPAR- α), sinalizando várias moléculas na maioria dos tecidos como músculo esquelético, fígado, coração, endotélio, adipócitos e cérebro (164, 176-179). Ela determina o aumento da captação de glicose em nível muscular, inibe a síntese hepática de glicose (gliconeogênese) e estimula a oxidação de ácidos graxos em nível muscular e hepático (176, 180), levando à diminuição da RI, ao reduzir o conteúdo de triglicerídeos no músculo e no fígado (181). Inibe, ainda, as vias do NF- κ B e citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF- α e estimula citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 (165, 167, 182). Sendo assim, a adiponectina é considerada um modulador do metabolismo da glicose e lipídeos com importante papel na regulação da sensibilidade à insulina e da resposta inflamatória (183), sendo importante na patogênese das doenças metabólicas (184), pois tem se revelado um componente-chave nas relações entre adiposidade e RI (173).

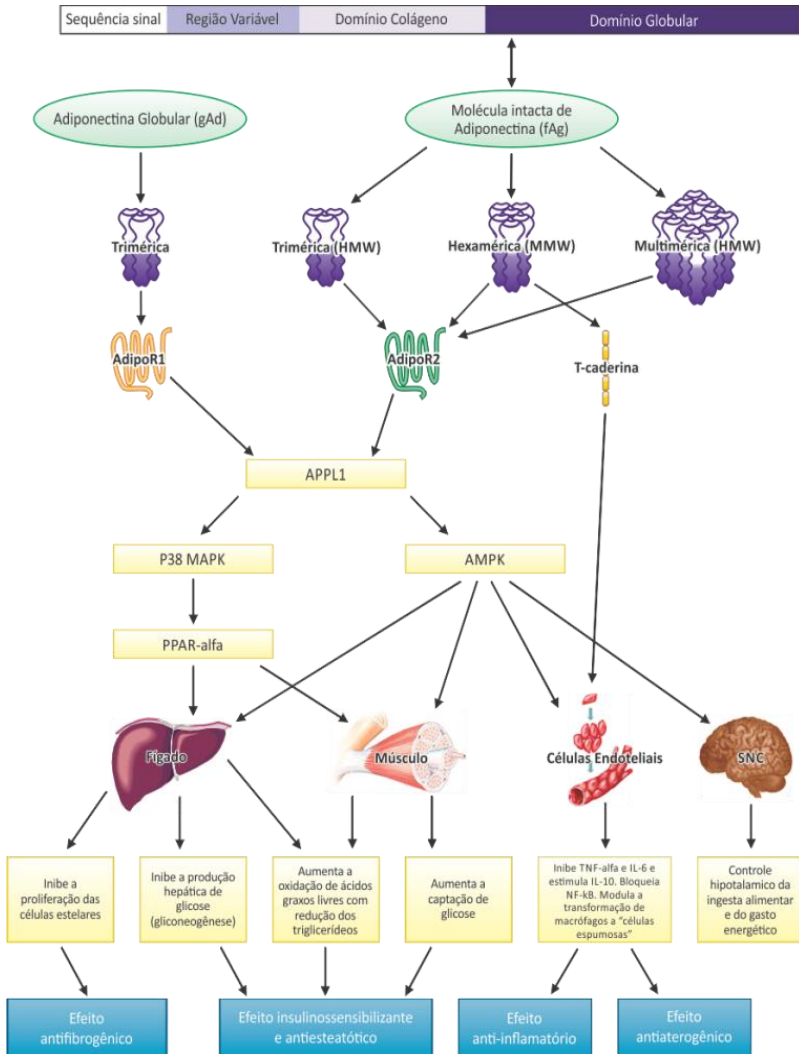
A secreção de adiponectina varia com o ritmo circadiano (185), sendo influenciada por vários hormônios, como prolactina (186), somatotrofina (186), testosterona (187), osteocalcina (188), agonistas beta adrenérgicos (189) e por tratamentos com glicocorticóides (190).

A secreção de adiponectina é inversamente proporcional ao IMC (191), de modo que níveis de adiponectina são mais altos em indivíduos não obesos do que em obesos (191, 192). Níveis mais elevados foram relatados em pacientes com anorexia nervosa (193). A adiponectina é considerada um marcador de proteção contra síndrome metabólica e DM2 (194, 195), e a elevação dos seus níveis após gastroplastia redutora sugere a expressão da adiponectina no *feedback* inibitório na obesidade (196, 197). Embora indivíduos obesos tenham mais gordura corporal, a hipertrofia dos adipócitos e a infiltração de macrófagos na obesidade ativam citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-10) e óxido nítrico

(198, 199). Essas alterações geram uma desregulação das adipocitocinas (redução na expressão do RNAm da adiponectina e na liberação da adiponectina pelos adipócitos) (191). A adiponectina e TNF- α se inibem mutuamente e a expressão da adiponectina é suprimida pela IL-6 (182, 200). O efeito final é a redução da sensibilidade à insulina e das adipocinas anti-inflamatórias (adiponectina) e o aumento das adipocinas pró-inflamatórias (TNF- α , interleucinas e resistina) (201). A produção de adiponectina no tecido adiposo também parece ser regulada pelo estresse oxidativo, que encontra-se aumentado na gordura acumulada e a redução na produção de espécies oxigênio-reativas (ROS) no tecido adiposo atenua a desregulação de adipocitocinas (202). Isso pode explicar porque indivíduos obesos têm níveis de adiponectina circulante mais baixos, apesar de o tecido adiposo ser o responsável pela sua síntese (191). A desregulação das adipocitocinas tem papel crucial na síndrome metabólica (203).

A associação entre altos níveis de adiponectina e baixo risco de DM2 foi confirmada por Li *et al.* em sua meta-análise (204). Os níveis de adiponectina são significativamente reduzidos em diabéticos tipo 2 e aumentam após tratamento com agentes insulinosensibilizantes, como as tiazolidinedionas, que estimulam a síntese de adiponectina pela ativação do receptor gama ativado pelo proliferador de peroxissomo (PPAR- γ), melhorando a sensibilidade à insulina (205). Indivíduos com concentrações mais altas de adiponectina apresentam também menor risco de doenças cardiovasculares (206, 207). A hipoadiponectinemia está associada à progressão de aterosclerose coronariana subclínica tanto em diabéticos quanto não diabéticos, independentemente de outros fatores de risco cardiovascular e é considerada preditora de progressão, em curto prazo, para doença aterosclerótica coronariana subclínica em homens e mulheres assintomáticos (207). Mutações no gene da adiponectina associadas a menores níveis do hormônio já foram detectadas e associadas à presença de DM2 (208), síndrome metabólica (209) e DHENA (210).

Figura 1 - A adiponectina e seus mecanismos de ação



APPL1: proteína adaptadora contendo um domínio de homologia de pleckstrin, um domínio de fosfatase e um motivo de fecho leucina; p38 MAPK: p38 ativada por mitógeno proteína quinase; AMPK: Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato; PPAR-alfa: Receptor alfa ativado pelo proliferador de peroxissomo; TNF-alfa: fator de necrose tumoral alfa; IL-6: Interleucina-6; IL-10: Interleucina 10; NF-κB: fator nuclear κB; SNC: sistema nervoso central

Fonte: desenvolvido pelo autor (211).

1.3.2.2. Adiponectina e fígado

Apesar de o fígado não ser um órgão relevante como fonte de adiponectina circulante, ele é o principal alvo dos seus efeitos, visto que esta adipocina é capaz de regular a esteatose, resistência à insulina, inflamação e fibrose (212). O papel da adiponectina nas doenças hepáticas foi inicialmente estudado em modelos animais quando a administração de adiponectina melhorou a hepatomegalia, esteatose e aminotransferases na DHENA (213) e a fibrose induzida por tetracloreto de Carbono (214). O efeito hepatoprotetor da adiponectina tem sido descrito em vários estudos clínicos e experimentais (tabela 3). Foram descritos efeitos antiesteatótico (213), anti-inflamatório (215) e antifibrogênico (214).

Tabela 3 - Efeitos propostos da adiponectina no fígado

| Autor | Ano | Efeito |
|--------------------------|------------|--|
| Antiesteatótico | | |
| Xu (213) | 2003 | Aumenta a oxidação de ácidos graxos ao aumentar a atividade da enzima CPT-1. |
| Xu (213) | 2003 | Inibe a produção de ácidos graxos via inibição das enzimas acetyl-Coa carboxilase e ácido graxo sintetase. |
| Awazawa (216) | 2009 | Suprime a expressão da SREBP1c, reguladora central da síntese de ácidos graxos. |
| Anti-inflamatório | | |
| Xu (213) | 2003 | Inibe a síntese hepática de TNF- α prevenindo a lesão hepática induzida por LPS. |
| Masaki (217) | 2004 | |
| Matsumoto (218) | 2006 | Induz à produção de IL-10 nas células de Kupffer em resposta aos LPS. |
| Wolf (219) | 2005 | |
| Matsumoto (218) | 2006 | |
| Mandal (220) | 2010 | |
| Mandal (220) | 2010 | Aumenta a expressão da hemo-oxigenase 1, que inibe a expressão do TNF- α pelos LPS e previne a apoptose induzida pelo etanol. |
| Nepal (221) | 2012 | |
| Ouchi (182) | 2000 | Suprime a ativação do NF- κ B induzida pelo TNF- α e bloqueia a adesão de monócitos. |
| Ouchi (215) | 2001 | Modula a transformação de macrófagos a células espumosas. |
| Sennello (222) | 2005 | Tem efeito hepatoprotetor na insuficiência hepática aguda induzida por Concaivalina. |
| Wolf (219) | 2006 | |

Antifibrogênico

| | | |
|----------------|------|--|
| Kamada (214) | 2003 | Atenua a fibrose hepática induzida por tetracloreto de carbono através da redução no efeito do TGF- β 1. |
| Ding (223) | 2005 | Inibe a proliferação e migração de |
| Adachi (224) | 2008 | células estelares hepáticas. |
| Shafiei (225) | 2011 | |
| Saxena (226) | 2015 | |
| Tardelli (227) | 2017 | Aumenta a expressão da aquagliceroporina 3 nas células estelares hepáticas mediada por PPAR- α . |

CPT-1 = Carnitina palmitoiltransferase 1; SREBP1c = Proteína 1c de ligação ao elemento regulador de esterol; TNF- α = Fator de necrose tumoral alfa; LPS = Lipopolissacarídes; IL-10 = Interleucina 10; NF-kB = Fator nuclear kappa B; TGF- β 1 = Fator de transformação de crescimento beta 1; PPAR- α = Receptor alfa ativado pelo proliferador de peroxissomo.

A adiponectina tem atividade antiesteatótica através da ativação do AMPK e PPAR- α resultando na indução da CPT1, com aumento da oxidação de ácidos graxos, e através da inibição da atividade das enzimas acetil coenzima-A carboxilase e ácido graxo sintetase, envolvidas na síntese de ácidos graxos (213). Inibe também a SREBP1c, o principal regulador das enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos (216). O efeito anti-inflamatório está associado à redução da síntese e/ou liberação de TNF- α (prevenindo a lesão hepática induzida por lipopolissacárides) (217) e indução da IL-10 (220). Atua, ainda, inibindo a proliferação e migração das células estelares através da atenuação da expressão do TGF- β 1, um potente regulador da síntese de proteínas na matriz extracelular (fibrogênese) (214, 224, 225) e através do aumento da expressão da aquagliceroporina 3 nas células estelares hepáticas mediada por PPAR- α (227, 228).

Em humanos, a hipoadiponectinemia tem sido associada com aumento nos níveis de alanino aminotransferase (ALT) e gama-glutamil transferase (GGT), independentemente da idade, sexo, IMC e resistência à insulina, sugerindo a contribuição da adiponectina na manutenção da integridade hepática através da regulação da sensibilidade à insulina e/ou resposta inflamatória (183). Estudos com indivíduos saudáveis

observaram correlação positiva entre gordura visceral e enzimas hepáticas em ambos os sexos (229) e significativa correlação negativa entre adiponectina e enzimas hepáticas em homens, sugerindo que obesidade visceral e hipoadiponectinemia são determinantes de disfunção hepática em pessoas assintomáticas (229, 230). Em mulheres foi observada a correlação negativa entre adiponectina e GGT (230, 231), além da correlação positiva entre GGT e o Modelo de Avaliação da Homeostase para Resistência à Insulina (HOMA-IR) (231).

Desta forma, o fígado representa um importante alvo no qual a adiponectina participa do controle de várias funções, como metabolismo, inflamação e fibrose. Esta adipocina parece exercer ações distintas nas várias doenças hepáticas e também parece ser diretamente influenciada pelo funcionamento do fígado. A seguir será discutida separadamente a importância da adiponectina nas principais doenças hepáticas.

1.3.2.3. Adiponectina e doenças hepáticas

Em pacientes com DHENA, níveis de adiponectina e da expressão de RNAm dos receptores AdipoR2 são menores nos indivíduos com esteato-hepatite do que naqueles com esteatose simples (232) e maiores em controles quando comparados a pacientes com esteatose ou NASH, sendo maiores nos pacientes com DHENA quando comparados à NASH (233). A hipoadiponectinemia é encontrada na esteatohepatite, independentemente do IMC, RI e de outras adipocinas, como TNF- α (153, 234, 235). Alguns estudos têm associado os níveis de adiponectina nos pacientes com DHENA e a gravidade histológica, com associação inversa entre a adiponectinemia e a intensidade da esteatose e da necroinflamação nos indivíduos com NASH (234-236). A relação entre baixos níveis de adiponectina e fibrose nos pacientes com NASH, no entanto, é controversa (234-237). Esses achados sugerem que a adiponectina pode ter importante papel na patogênese da DHENA e confirmam a estreita relação entre tecido adiposo, DHENA e RI, fortalecendo a hipótese de que a adiponectina possivelmente exerce influência no desequilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias observado na patogênese da DHENA (238).

Com base no fato de que a hipoadiponectinemia é um importante fator de risco para a progressão da DHENA, estratégias terapêuticas que

possuem como alvo a elevação dos níveis desta adipocina, como os agonistas PPAR- γ da classe das tiazolidinedionas (TZD), têm sido estudadas com resultados promissores. Um estudo que incluiu 47 pacientes com NASH demonstrou que a pioglitazona aumenta os níveis de adiponectina em 2 a 3 vezes, melhora a RI e foi associada à melhora histológica da esteatose, inflamação e fibrose (239). Estudos com rosiglitazona também demonstraram que ela aumenta os níveis circulantes de adiponectina e melhora a esteatohepatite (240, 241), ao atuar diretamente na modulação dos receptores de adiponectina AdipoR1 e AdipoR2 e indiretamente via redução nos níveis circulantes de TNF- α (240). Um estudo em camundongos demonstrou, ainda, que o PPAR- γ tem um potente efeito inibidor sobre o crescimento das células estelares e da expressão do fator de crescimento do tecido conjuntivo induzido pelo TGF- β 1, o que sugere um potencial antifibrogênico para as tiazolidinedionas (242). Desta forma, a adiponectina parece ser um alvo terapêutico importante na DHENA; no entanto, ainda são necessários estudos que investiguem diferentes estratégias terapêuticas para os diferentes estágios da doença.

Os níveis de adiponectina também encontram-se reduzidos em pacientes com doença hepática gordurosa alcoólica, demonstrando a importância da adiponectina e seus receptores na homeostase lipídica (243).

A hepatite C é outra doença na qual as adipocinas podem representar o elo entre resistência à insulina e infecção viral, enfatizando a importância da adiposidade na regulação da resposta imune ao vírus da hepatite C (244, 245), visto que a esteatose é comum em pacientes com infecção pelo VHC, sendo observada em 50% das biópsias (246), e os níveis de adiponectina também se encontram reduzidos (247-249), principalmente em pacientes com esteatose, quando comparados aos demais (247), e são inversamente relacionados com o grau de esteatose, atividade histológica e estágio da fibrose (249). Esses achados sugerem que a hipoadiponectinemia é parcialmente responsável pela progressão da esteatose e injúria hepática, provavelmente por seu efeito no metabolismo lipídico (247). Estudos de Liu *et al.* (245) e Jonsson *et al.* (250) demonstraram a redução na expressão dos receptores hepáticos de adiponectina em pacientes com hepatite C crônica, bem como Corbetta *et al.*, sugerindo que a resistência à ação da adiponectina pode ser induzida pela RI e pode contribuir para a progressão da fibrose nos indivíduos infectados pelo VHC (251).

Apesar de alguns estudos demonstrarem que a adiponectina não está associada a parâmetros histológicos na hepatite C, os baixos níveis desta adipocina têm sido relacionados à carga viral elevada e aos genótipos 2 (245) e 3 (248) do VHC. Além disso, a perda de peso em pacientes com sobrepeso e hepatite C está associada ao aumento dos níveis de adiponectina, à redução na esteatose e nas enzimas hepáticas e à melhora da fibrose, apesar da persistência do vírus (196, 252), caracterizando a importância da obesidade e da adiponectina na modulação da resposta imune na hepatite C crônica (244). Baixos níveis de adiponectina também foram identificados como preditores independentes de esteatose e de não resposta virológica à terapia antiviral em portadores crônicos do VHC (248).

Existem poucos estudos avaliando o papel da adiponectina na infecção crônica pelo VHB. Em pacientes com hepatite B, os níveis de adiponectina são menores (253) ou similares (254) aos dos pacientes com hepatite C. Os maiores níveis desta adipocina nos portadores de hepatite C podem, ao menos em parte, ser os responsáveis pela lenta progressão da fibrose na hepatite C crônica (253). Entretanto, na hepatite B, os níveis de adiponectina aumentam quatro vezes com a fibrose avançada e a adiponectina parece ter efeito direto na progressão da fibrose, visto que um declínio nos seus níveis após terapia antiviral está associado à redução da fibrose (255). No entanto, outro estudo com pacientes com hepatite B observou associação de necroinflamação hepática apenas com TNF- α e IL-6, mas não com adiponectina, que se encontra diminuída em pacientes com esteatose e RI, e concluiu que a adiponectina protege contra RI e esteatose, mas não afeta a lesão hepática relacionada ao VHB. Desta forma, as adipocinas e os fatores virais parecem contribuir para o dano hepático de forma independente na hepatite B crônica (256).

Pacientes com doenças hepatobiliares e colestase apresentam maiores níveis de adiponectina possivelmente porque o fígado está envolvido na sua excreção por meio da secreção biliar (257). Embora alguns estudos sugiram a eliminação renal da adiponectina (258, 259), Tacke *et al.* demonstraram maiores níveis de adiponectina na bile de pacientes com doença hepática colestática e em camundongos após ligação do ducto biliar, sugerindo que a redução na excreção biliar interfere no *clearance* da adiponectina (257). No entanto, as recentes evidências que sugerem a participação dos ácidos biliares no processo de liberação da adiponectina pelos adipócitos expõem uma nova via que pode justificar os níveis elevados desta adipocina nas doenças

colestáticas (260). Salman *et al.* observaram que, em pacientes com cirrose e colestase, os níveis de adiponectina são maiores quando comparados a pacientes com cirrose sem colestase, havendo, também, correlação com grau de lesão hepatocelular, marcadores de inflamação, síntese hepática e colestase (261). Em pacientes com cirrose biliar primária, o aumento dos níveis de adiponectina também foi constatado, sendo maior do que em pacientes com esteatohepatite (262). Foi sugerido que este aumento nos níveis de adiponectina pode ser o fator protetor contra aterogênese nos indivíduos com CBP, já que o risco cardiovascular nesses pacientes não está aumentado em relação à população geral, mesmo com as elevadas taxas de hipercolesterolemia observadas (262).

Apesar de poucos estudos com adiponectina em portadores de hepatite autoimune, níveis mais elevados desta adipocina foram demonstrados na HAI quando comparados aos controles saudáveis e a pacientes com NASH (263). Além disso, a adiponectina se correlacionou com as enzimas colestáticas e com estádios mais avançados de fibrose, sugerindo que ela pode ser usada como marcador de progressão da doença (263).

Apesar de baixos níveis de adiponectina estarem associados à várias doenças dentre as supracitadas, inclusive com evidências do papel da hipoadiponectinemia na fibrogênese relacionada à DHENA, paradoxalmente, pacientes cirróticos por qualquer etiologia apresentam níveis elevados desta adipocina. Diversos estudos têm observado níveis séricos de adiponectina significativamente elevados em pacientes com cirrose avançada, independentemente da etiologia (248, 251, 255, 257, 261, 264-267) e seu aumento com a progressão da doença de acordo com a classificação de Child Pugh (264, 267). Além disso, uma correlação positiva entre níveis de adiponectina e marcadores de fibrose hepática (ácidos biliares, ácido hialurônico e elastografia) já foi demonstrada (265).

Tietge *et al.* investigaram os níveis de adiponectina em 20 pacientes com cirrose avançada e encontraram associação entre adiponectinemia e parâmetros de síntese hepática (albumina e atividade de protrombina) e hemodinâmicos, como pressão portal, resistência vascular hepática e fluxo sanguíneo hepático efetivo (264). Neste estudo, variáveis relacionadas à composição corporal ou metabolismo não influenciaram os níveis de adiponectina (264). Achados semelhantes foram descritos em outros estudos nos quais os níveis de adiponectina em cirróticos se associaram à variáveis relacionadas à disfunção

hepática, mas não à RI (257, 261, 267). Tais estudos são limitados pela inclusão de um número relativamente pequeno de pacientes e ausência de controle para outras variáveis importantes.

Associação independente entre menores níveis de adiponectina e carcinoma hepatocelular em pacientes com cirrose pelo VHC também já foi demonstrada (268), em concordância com Saxena *et al.* que concluiu que a adiponectina protege contra a carcinogênese (269).

1.3.2.4. Adiponectina e sobrevida

Elevados níveis de adiponectina já foram associados à maior mortalidade em pacientes com doença cardiovascular, doença renal crônica e diabetes tipo 2 (270-272).

Existem poucos dados a respeito da relação entre adiponectina e prognóstico nas doenças hepáticas. Em um estudo envolvendo 325 pacientes com hepatite C crônica com ou sem cirrose seguidos por tempo médio de 13 anos, níveis séricos mais elevados de adiponectina foram associados com maiores taxas de mortalidade por causas gerais e mortalidade relacionada às doenças hepáticas, incluindo o hepatocarcinoma (273). Maiores níveis de adiponectina também foram relacionados à menor tempo de sobrevida em pacientes com carcinoma hepatocelular (274) e em pacientes com cirrose de etiologia alcoólica (275). Desta forma, a adiponectina circulante parece representar ferramenta prognóstica promissora em portadores de cirrose.

Algumas possíveis explicações para este aumento de mortalidade são uma resposta compensatória à inflamação sistêmica e hepática, mas também pode ocorrer como resposta à desnutrição, por resistência à adiponectina decorrente da inibição dos seus receptores, por redução na degradação/metabolização da adiponectina pela doença hepática avançada ou por efeitos promotores de câncer ou pró-inflamatórios (273, 276, 277).

1.3.3 Resistina

1.3.3.1. Ações biológicas da resistina

A resistina é um hormônio derivado do adipócito descoberto por três grupos independentes em 2000: como membro da família de proteínas secretadas rica em cisteína (encontrada na zona inflamatória 3 – FIZZ3), em associação com inflamação pulmonar alérgica (278); como fator secretor específico do tecido adiposo (ADSF) rico em cisteína por técnica de microarray (279); e como possível alvo das tiazolidinedionas nos adipócitos 3T3-L1 (280).

Em camundongos a principal fonte de resistina é o tecido adiposo branco seguido das ilhotas pancreáticas, glândula hipófise e hipotálamo (281) e o fígado é seu principal alvo metabólico, o que pode contribuir para o desenvolvimento de resistência à insulina hepática na obesidade (282, 283). Por outro lado, em humanos, os macrófagos são a principal fonte de resistina (281) e a resistina é expressa em maiores níveis na gordura intra-abdominal do que na subcutânea, sugerindo seu papel potencial na relação entre obesidade, DM2 e/ou doença cardiovascular (DCV) (284, 285). É expressa também nas células mononucleares do sangue periférico e nas células da medula óssea (286, 287).

A resistina é um peptídeo natural de 12,5 kDa que forma complexos multiméricos, caracterizados pela presença de resíduos de cisteína (282, 288). Existem outros membros da família como a molécula α semelhante à resistina (RELM α , também conhecida como FIZZ1) que se expressa no tecido adiposo (289, 290) e no componente estromal do pulmão (278, 290); a molécula β semelhante à resistina (RELM β , também conhecida como FIZZ2) que é secretada nas células epiteliais do intestino (290) e marcadamente expressa em tumores, tendo um possível papel na proliferação celular (290); e a molécula γ semelhante à resistina (RELM- γ) que se expressa no tecido hematopoético (291), apesar de ter sido encontrada também no tecido adiposo e epitélio respiratório nasal (291).

Já foram considerados indutores da expressão da resistina o hormônio de crescimento, hiperglicemia, esteróides como a dexametasona, hormônios gonadais e o neuropeptídeo Y. A insulina, somatropina, hormônios tireoidianos, endotelina-1, epinefrina e o jejum são inibidores da expressão da resistina (288).

Em estudos iniciais em camundongos, os níveis de resistina se mostraram elevados na obesidade e a administração de anticorpos

antiresistina melhorou a glicemia e a ação da insulina em animais obesos. Entretanto, em camundongos normais, a administração de resistina recombinante resultou em aumento da tolerância à glicose e da ação da insulina, sugerindo uma relação entre diabetes e obesidade (280).

A maioria dos estudos relaciona os níveis séricos de resistina à diabetes e obesidade e analisa a regulação da expressão da resistina em resposta à insulina e à glicose (292). Já foi demonstrada contribuição da resistina na regulação da homeostase da glicose, adipogênese e inflamação (292, 293) e, conseqüentemente, sua influência no desenvolvimento de RI, DM2 bem como disfunção endotelial, trombose, angiogênese, inflamação e DCV (286, 294, 295). Interessantemente, o papel da resistina no metabolismo lipídico hepático pode ser um mecanismo adicional independente para a compreensão das associações entre resistina, síndrome metabólica e DCV (296, 297).

A expressão da resistina é positivamente relacionada com RI em humanos (298-300) e a resistina sérica encontra-se elevada na obesidade (301). A resistina interfere na ação da insulina e aumenta a produção hepática de glicose, induzindo a RI hepática (282). Possui também um efeito inibitório na diferenciação adiposa, atuando como um *feedback* regulador da adipogênese (279). Além disso, inibe o acúmulo de glicose no músculo esquelético independente de alterações na sinalização da insulina (302).

Geneticamente, polimorfismos no gene da resistina humana, localizada no cromossomo 19 (280), são associados à SM, obesidade (303, 304) e DM2 (305). Níveis de resistina são negativamente relacionados com índice cintura-quadril e positivamente relacionados com IMC (306) e adiposidade (301), o que é condizente com o papel da resistina na SM (297), apesar de alguns estudos não demonstrarem relação com adiposidade (307, 308).

Vários estudos demonstram a relação entre resistina e RI em pacientes com SM e DM2 (309, 310). Seus níveis aumentam em resposta à hiperglicemia e diminuem em resposta a hiperinsulinemia em ratos (289). Níveis de resistina são elevados em diabéticos tipo 2 quando comparados a não diabéticos (308, 310-312). Outros estudos sugerem que a resistina pode ser implicada no desenvolvimento de DM2 via indução de inflamação, adiposidade e RI (313, 314). Elevados níveis de resistina também têm sido associados a complicações do DM2, como disfunção renal, aterosclerose, DCV, hipertensão arterial sistêmica e neuropatia periférica (315-319).

Alguns estudos demonstram inibição da resistina nos adipócitos pelas TZD, que são agonistas PPAR- γ (280, 320-322). Elas inibem a expressão do gene da resistina nos macrófagos humanos (287), bem como nos adipócitos de ratos (320, 321), reduzindo suas concentrações.

Já foi demonstrado também importante papel da resistina na resposta inflamatória, como uma citocina pró-inflamatória. Isso explica muitos dos efeitos metabólicos associados a elevados níveis de resistina como a indução de RI e/ou progressão da aterosclerose (295, 323, 324). Por isto, alguns estudos sugerem o papel da resistina como biomarcador e potencial mediador de DCV (325). A resistina parece ser uma peça chave entre inflamação e RI (326). Seus níveis se correlacionam com níveis de proteína C reativa (PCR), um marcador de inflamação (327). Níveis de resistina também têm correlação negativa com lipoproteína de alta densidade (HDL)-colesterol (328, 329) e correlação positiva com lipoproteína de baixa densidade (LDL)-colesterol, tendo sido associados à doença arterial coronariana (317, 324, 330, 331) e infarto agudo do miocárdio (332).

1.3.3.2 Resistina e Fígado

Poucos autores investigaram a relevância da resistina na fisiopatologia da injúria hepática (333) e, apesar dos recentes estudos envolvendo resistina, nenhum receptor específico desta adipocitocina foi identificado e pouco se sabe sobre sua sinalização intracelular (334). A expressão da resistina no fígado humano encontra-se aumentada em diversas doenças hepáticas (254, 334-337) e a associação entre resistina, inflamação e fibrose hepática já foi demonstrada na hepatite alcóolica e DHENA (334, 335).

Esta elevação se dá pelo aumento da produção intra-hepática de resistina secundária ao estímulo que ocorre durante a lesão hepática crônica e/ou ao acúmulo local (333, 334). Níveis elevados de RNAm da resistina já foram detectados na medula óssea e nos macrófagos, sendo os últimos a maior fonte de resistina intrahepática (287, 334).

A tabela 4 demonstra o papel da resistina na fisiopatologia da injúria hepática. Seu papel como uma citocina intrahepática exercendo ação pró-inflamatória nas células estelares hepáticas via Ca^{2+} /NF- κB

dependente em pacientes com hepatite alcoólica já foi demonstrado, bem como sua relação com inflamação e fibrose hepáticas, sugerindo o envolvimento desta adipocina na fisiopatologia da fibrose hepática (334).

Tabela 4 - Efeitos da resistina na fisiopatologia da doença hepática

| Autor | Ano | Efeito |
|-----------------|------------|---|
| | | Ação inflamatória |
| Marra (338) | 2002 | Estimula as células estelares hepáticas a secretar citocinas pró-inflamatórias como MCP-1 e IL-8 levando ao recrutamento intrahepático de leucócitos. |
| Kawanami (339) | 2004 | Estimula as moléculas relacionadas à inflamação nas células endoteliais. |
| | | Ação fibrogênica |
| Bertolani (334) | 2006 | Exerce ação nas células estelares hepáticas via sinalização Ca^{2+} /NF-kB dependente. |
| Dong (340) | 2013 | Aumenta a expressão do gene MCP-1, IL-6, IL-8 e TNF- α nas células estelares. |
| Dong (340) | 2013 | Induz o fator transformador de crescimento β 1 das células de Kupffer a aumentar a expressão de colágeno nas células estelares. |

MCP-1= Proteína quimiotática de monócitos 1; IL-8 = Interleucina 8; NF-kB = Fator nuclear kB; IL-6 = Interleucina 6; TNF- α = Fator de necrose tumoral alfa.

1.3.3.3 Resistina e Doenças Hepáticas

Em pacientes com DHENA uma correlação positiva entre resistina e gravidade histológica já foi observada, apesar de não ter sido notada relação entre resistina e RI ou IMC (335). Estes achados sugerem que a resistina possa ter um papel na história natural da DHENA e que a associação entre resistina e RI hepática necessita de confirmação em humanos (335). Por outro lado, Bajaj *et al.* demonstraram que a resistina sérica se correlaciona positivamente com o conteúdo de gordura hepática e RI hepática mas não com RI periférica em pacientes diabéticos (341). Neste estudo de Bajaj *et al.* a redução dos níveis de resistina sérica com o uso das TZD foi associada à redução no conteúdo de gordura hepática e melhora da sensibilidade à insulina (341). Esses resultados não foram confirmados por todos os autores e outros estudos demonstraram relação inversa (342) ou não demonstraram associação (343, 344).

Níveis de resistina mais elevados foram observados em portadores do VHC quando comparados aos controles saudáveis (345, 346). Entretanto, menores níveis de resistina foram independentemente associados com a gravidade da fibrose neste grupo (345). De forma semelhante, estudos demonstraram que portadores do VHC e VHB apresentam níveis mais elevados de resistina quando comparados a NASH, e que os seus níveis são inversamente associados à fibrose moderada/acentuada (254), não se associando a alterações metabólicas (346).

Na cirrose hepática, os níveis de resistina também encontram-se significativamente elevados e são dependentes do estágio clínico, sendo maiores nos Child C (157) e B/C (347, 348). A etiologia da cirrose também parece influenciar, já que maiores níveis de resistina foram observados na doença hepática alcoólica e biliar quando comparado às hepatites crônicas (157). Entretanto esta diferença não foi confirmada em estudo subsequente (347). Nos cirróticos, resistina se correlacionou positivamente com insulina de jejum, adiponectina e HOMA-IR e negativamente com QUICKI (Índice quantitativo de verificação de sensibilidade à insulina) (347).

Os níveis elevados de resistina na cirrose são associados com o estado pró-inflamatório da doença e modulados pelo metabolismo hepático da glicose, mas não pela RI, sugerindo que a inibição da resistina pode não representar uma estratégia terapêutica para o tratamento da RI e DM em pacientes com cirrose hepática (157). Nestes

pacientes o aumento dos níveis de resistina circulante ocorre pelo aumento da produção hepática e está relacionada ao estado pró-inflamatório da cirrose (157).

Um estudo experimental em ratos com cirrose induzida pela ligação do ducto biliar mostrou perda de massa muscular, hiperinsulinemia, aumento do TNF- α e aumento da expressão da resistina em animais cirróticos, sugerindo que a hiperinsulinemia e o aumento do TNF- α podem induzir a expressão do gene da resistina no tecido adiposo na cirrose hepática (349) e que a resistina pode ser um alvo genético da hiperinsulinemia na cirrose (348).

Dados preliminares indicam relação entre níveis de resistina e gravidade da cirrose. Níveis elevados desta adipocina também já foram associados às complicações clínicas como hipertensão portal e mortalidade em cirróticos não diabéticos (348).

A resistina pode contribuir para a RI em pacientes com cirrose hepática, mas seu papel na fisiopatologia da cirrose e como biomarcador prognóstico ainda requer futuras investigações (347).

2 JUSTIFICATIVA

A cirrose hepática é uma doença crônica que leva a significativo impacto individual e coletivo, uma vez que os custos relacionados a esta patologia são significativos. Com o aumento da mortalidade por cirrose hepática observado nos últimos anos, espera-se que estas consequências econômicas e sociais cresçam ainda mais. A cirrose é caracterizada por um amplo espectro de anormalidades hepáticas e sistêmicas, incluindo distúrbios metabólicos e hormonais. Alterações do metabolismo da glicose e diabetes *mellitus* são comuns entre os cirróticos, porém os testes habitualmente empregados para diagnóstico e monitoramento destas condições são afetados pela doença hepática. Níveis reduzidos de HbA1c são descritos na cirrose avançada, porém seu significado clínico é desconhecido. A cirrose também exerce efeito no metabolismo das adipocinas, entre elas, a adiponectina e resistina. As concentrações séricas de adiponectina e resistina estão elevadas na cirrose, possivelmente por mecanismos distintos e com significado clínico ainda desconhecido, especialmente em relação ao prognóstico. A presente tese abordará as consequências sistêmicas da cirrose, com ênfase nos níveis de HbA1c e das adipocinas circulantes, investigando fatores associados a estes parâmetros e seu significado prognóstico.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar os fatores associados e o significado prognóstico dos níveis circulantes de adipocinas e da HbA1c em pacientes cirróticos acompanhados ambulatorialmente.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar os fatores associados aos níveis de adiponectina e resistina em cirróticos;
- Investigar o significado prognóstico dos níveis de adiponectina e resistina circulantes em cirróticos;
- Estudar os fatores relacionados aos níveis de HbA1c em cirróticos;
- Investigar o significado prognóstico dos níveis de HbA1c em cirróticos.

4 MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Estudo de coorte prospectivo.

4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM

Este estudo é parte de um grande projeto que tem a finalidade de investigar marcadores prognósticos em pacientes cirróticos estáveis. Neste projeto são considerados elegíveis indivíduos maiores de 18 anos, com diagnóstico de cirrose hepática, sem carcinoma hepatocelular, em acompanhamento no ambulatório do Serviço de Gastroenterologia do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC). Todos os pacientes que aceitaram participar da pesquisa foram avaliados inicialmente no período entre junho e outubro de 2012.

Especificamente para as análises envolvendo as adipocinas, terapia com insulina ou tiazolidinedionas, além de ausência de amostra de soro estocada, foram critérios de exclusão. Adicionalmente, para os objetivos cujos desfechos envolveram os níveis de HbA1c, foram excluídos pacientes em uso de qualquer terapia hipoglicemiante oral.

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 (15).

O tamanho da amostra foi originalmente calculado em 114 indivíduos para comparação das médias de adiponectina entre dois grupos (Child-Pugh A *versus* B+C). Foram considerados os seguintes parâmetros: poder do teste 95%, nível de significância 5%, desvio padrão de 8,25 e diferença entre as médias de 5,00 µg/mL.

Trinta indivíduos foram incluídos como grupo controle saudável. Esses participantes foram selecionados entre os profissionais atuantes no HU-UFSC e acompanhantes de pacientes (sem relação com os pacientes incluídos neste estudo). Todos os indivíduos foram avaliados por meio de exame clínico e exames laboratoriais. O grupo controle foi pareado por sexo e idade, e, além disso, foram excluídos aqueles com quaisquer doenças crônicas (como doenças hepáticas (inclusive esteatose),

diabetes *mellitus*, imunossupressão (síndrome da imunodeficiência adquirida, uso de imunossupressores ou prednisona, outras doenças), neoplasia maligna, doenças inflamatórias (intestinais, reumatológicas ou autoimunes), doença cardiovascular, doença pulmonar obstrutiva crônica, insuficiência renal crônica), IMC ≥ 28 kg/m², uso de hipoglicemiantes orais ou insulina, uso de antibiótico nos últimos 7 dias, etilismo significativo (igual ou superior a 21 doses padrão por semana para homens e 14 doses padrão por semana para mulheres, sendo uma dose padrão igual a 12 g de álcool absoluto), sorologias alteradas e testes hepáticos alterados.

O tamanho da amostra para o grupo controle foi estimado em 26 indivíduos considerando os seguintes parâmetros: teste monocaudal, poder do teste 95%, nível de significância 5%, desvio padrão de 12 e diferença entre as médias de adiponectina de 11,00 µg/mL.

4.3 PROCEDIMENTOS E VARIÁVEIS EM ESTUDO

4.3.1 Avaliação inicial e seguimento dos pacientes

Neste estudo foi utilizado instrumento de coleta de dados para obtenção das informações clínicas, avaliação nutricional e exame físico (Apêndice A). As avaliações foram realizadas pela pesquisadora principal e por outras pesquisadoras médicas envolvida no projeto. Os pacientes foram inicialmente avaliados clínica e laboratorialmente entre junho e outubro de 2012. Posteriormente foram submetidos à reavaliação presencial em 2014, utilizando-se o instrumento de coleta de dados para obtenção das informações clínicas e exame físico adaptado (Apêndice B). Na reavaliação de 2014 também foram realizadas coletas de sangue para realização de exames laboratoriais. Para a coleta de dados do grupo controle foi utilizado um outro instrumento de coleta (Apêndice C). A reavaliação final para obtenção de informações sobre o desenvolvimento de complicações, mortalidade ou transplante hepático foi realizada por telefone ou durante as consultas ambulatoriais entre junho e outubro de 2015 (Apêndice D). O esquema de seguimento dos pacientes foi demonstrado na figura 2.

Figura 2 - Esquema de seguimento dos pacientes incluídos no estudo



4.3.2 Variáveis sociodemográficas e clínicas

As seguintes variáveis clínicas foram coletadas: idade, sexo, cor da pele (conforme julgamento do avaliador), diagnóstico prévio de diabetes *mellitus*, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, etiologia da cirrose, histórico de descompensações e internações prévias e atuais relacionadas à cirrose (ascite, encefalopatia, peritonite bacteriana espontânea ou sangramento por varizes de esôfago), varizes de esôfago em endoscopia digestiva alta anterior, presença de ascite, encefalopatia, icterícia e edema periférico, etilismo atual ou progresso e tabagismo atual ou progresso.

Nos pacientes controles foram coletadas as seguintes variáveis: idade, sexo, cor da pele (conforme julgamento do avaliador), índice de massa corporal, diagnóstico prévio de comorbidades como diabetes *mellitus*, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, dentre outras, medicações em uso e etilismo atual ou progresso e tabagismo atual ou progresso.

Tabagismo atual foi considerado como o uso de ao menos um cigarro nos últimos 30 dias (350). Etilismo atual significativo foi definido como um consumo médio global igual ou superior a 21 doses padrão por semana para homens e 14 doses padrão por semana para mulheres (sendo uma dose padrão igual a 12 g de álcool absoluto), nas quatro semanas anteriores à coleta de dados de cada indivíduo. O mesmo critério foi utilizado para definição de etilismo prévio significativo, considerando o padrão habitual de consumo de álcool no período anterior às últimas quatro semanas que antecederam a coleta de dados (351). A encefalopatia hepática, quando presente, foi graduada segundo os Critérios de West Haven descritos na tabela 5 (352).

Tabela 5 - Critérios de West Haven

| Grau | Alteração |
|----------|---|
| Grau I | Alterações leves de comportamento e de funções biorregulatórias, como alternância do ritmo do sono, distúrbios discretos do comportamento como riso e choro fácil, hálito hepático. |
| Grau II | Letargia ou apatia, lentidão nas respostas, desorientação no tempo e espaço, alterações na personalidade e comportamento inadequado, presença de flapping. |
| Grau III | Sonolência e torpor com resposta aos estímulos verbais, desorientação grosseira e agitação psicomotora, desaparecimento do flapping. |
| Grau IV | Coma não responsivo aos estímulos verbais e com resposta flutuante à dor. |

Fonte: Ferenci, *et al.* (352).

4.3.3 Parâmetros antropométricos

O IMC foi calculado dividindo-se o peso em quilogramas pela altura (em metros) elevada ao quadrado. O cálculo do IMC foi baseado no peso seco estimado, calculado após ajuste de peso de acordo com ascite e edema de membros inferiores, conforme as tabelas 6 e 7 em Duarte e Castellani (353).

Tabela 6 - Estimativa de peso corporal em pacientes com edema

| Edema | Localização | Excesso de Peso Hídrico |
|-------|--------------|-------------------------|
| + | Tornozelo | 1 kg |
| ++ | Joelho | 3 a 4 kg |
| +++ | Base da Coxa | 5 a 6 kg |
| ++++ | Anasarca | 10 a 12 kg |

Fonte: Duarte e Castellani (353).

Tabela 7 - Estimativa de peso corporal de acordo com a intensidade da ascite

| Grau de Ascite | Peso Ascítico |
|----------------|---------------|
| Leve | 2,2 kg |
| Moderada | 6,0 kg |
| Grave | 14,0 kg |

Fonte: Duarte e Castellani (353).

4.3.4 Variáveis laboratoriais

4.3.4.1 Exames de rotina

4.3.4.1.1 *Obtenção das amostras de soro*

Todos os indivíduos foram submetidos à coleta de sangue periférico após jejum de 10 a 12 horas para realização de exames laboratoriais na avaliação inicial. Após a coleta, o sangue foi centrifugado, depois de meia hora em temperatura ambiente, para a obtenção do soro. Alíquotas de soro foram armazenadas em freezer a -80° C para realização posterior das dosagens de adiponectina e resistina, sendo descongeladas apenas uma vez, no dia da realização dos ensaios.

4.3.4.1.2 *Determinação dos exames laboratoriais*

Os seguintes exames foram considerados neste estudo: hemograma, albumina, bilirrubina total e direta, tempo de atividade de protrombina (TAP) com relação normatizada internacional (RNI), aspartato aminotransferase (AST), ALT, GGT, fosfatase alcalina (FA), creatinina, sódio, colesterol total, HDL e LDL-colesterol, triglicerídeos, glicemia e insulina de jejum, HbA1c, ferritina e PCR. Esses exames foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário - UFSC.

Os testes de função hepática e outras análises bioquímicas foram determinados por analisadores automáticos:

- Hemograma: analisador hematológico XE-2100 (Sysmex);
- Parâmetros bioquímicos (glicemia, colesterol total e frações, triglicerídeos, AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina, bilirrubina total e direta, creatinina, albumina): *Dimension RxL Max* (Siemens) com metodologia por fotometria;
- TAP: analisador de Coagulação CA-1500 (Sysmex);
- Insulina e ferritina: *Immulate 2000* (Siemens) por quimiluminescência;
- Hemoglobina Glicada: D-10 (Bio-Rad) com metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Eletrólitos (Sódio): *Dimension RxL Max* (Siemens) que utiliza eletrodos íon seletivos; e
- PCR: BN II (Siemens) com metodologia por nefelometria.

4.3.4.2 Níveis séricos de adiponectina e resistina

4.3.4.2.1 Determinação dos níveis séricos de adiponectina

Os níveis séricos de adiponectina foram determinados pela técnica ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) com o kit *Human Adiponectin Elisa Kit*, EMD Millipore – Missouri - USA, em duplicata, nas amostras de soro estocadas a -80° C nas amostras iniciais (2012) e na reavaliação (2014). O ensaio ELISA utilizado foi do tipo sanduíche, que permite a detecção quantitativa *in vitro* dos níveis séricos de adiponectina humana através da utilização de anticorpos monoclonais antiadiponectina humana fixados na placa, seguida da ligação de anticorpos monoclonais biotinilados às moléculas capturadas. A técnica foi realizada conforme as instruções do fabricante e a leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 450 nm e 590 nm (filtro de referência). Por este método o limite inferior de detecção é de 0,2 µg/mL. Para a análise dos dados, foi utilizado o *software online* disponível em www.myassays.com. Os resultados foram expressos em µg/mL.

4.3.4.2.2 Determinação dos níveis séricos de resistina

Os níveis séricos de resistina foram determinados pela técnica ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) supracitada com o kit *Human Resistin Elisa Kit*, (BioVendor, Brno-Czech Republic), em duplicata, nas amostras de soro estocadas a -80°C da avaliação inicial (2012). A técnica foi realizada conforme as instruções do fabricante e os resultados foram expressos em ng/mL.

4.3.5 Modelos prognósticos

Para avaliação da gravidade da doença hepática foi utilizada a classificação de Child-Pugh (19) que leva em consideração as seguintes variáveis: ascite, encefalopatia hepática, albumina, bilirrubina total e RNI conforme a tabela 8. De acordo com a pontuação total recebida, o paciente pode ser alocado em três classes: Child-Pugh A (5-6 pontos), B (7-9 pontos) ou C (10-15 pontos).

Tabela 8 - Classificação de Child-Pugh

| | 1 ponto | 2 pontos | 3 pontos |
|---------------------------|---------|-----------------------|-----------------|
| Bilirrubina total (mg/dL) | <2,0 | 2,0-3,0 | > 3,0 |
| Albumina sérica (g/dL) | > 3,5 | 3,0-3,5 | < 3,0 |
| RNI | <1,7 | 1,7 – 2,3 | >2,3 |
| Ascite | Ausente | Facilmente controlada | Mal controlada |
| Encefalopatia hepática | Ausente | Mínima | Avançada (coma) |

RNI = Relação normatizada internacional.

Fonte: Pugh, *et al.* (19) .

Foi utilizado, ainda, o modelo MELD (20) como indicador de gravidade. Este modelo é calculado a partir da seguinte fórmula:

$$\text{MELD} = 3,8[\text{Ln bilirrubina total (mg/dL)}] + 11,2[\text{Ln RNI}] + 9,6[\text{Ln creatinina (mg/dL)}] + 6,4$$

Se os valores individuais foram inferiores a 1, eles foram considerados como 1. A creatinina sérica foi ajustada para 4 mg/dL quando o paciente estava em hemodiálise nas últimas 2 semanas ou se a creatinina era superior a 4 mg/dL.

4.3.6 Cálculo do modelo de avaliação da homeostase para resistência à insulina (HOMA-IR)

Os valores do HOMA-IR foram calculados por meio da seguinte fórmula: $\text{HOMA-IR} = \text{glicemia de jejum (mg/dL)} \times \text{insulina sérica de jejum } (\mu\text{U/mL}) / 405 (354)$.

4.4 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.

As variáveis contínuas foram comparadas por meio dos testes t de Student no caso de distribuição normal ou Mann-Whitney nos demais casos. As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste qui-quadrado ou exato de Fisher. Testes de correlação foram realizados com as variáveis numéricas através da correlação de Spearman ou Pearson.

Análises de regressão de Cox univariada e multivariada foram utilizadas para a associação entre níveis de adiponectina e resistina e sobrevida livre de transplante. Os melhores pontos de corte de MELD e HbA1c para prever a mortalidade foram escolhidos com base nas curvas características de operação do receptor (ROC). A curva de Kaplan Meier foi utilizada para ilustrar a sobrevida livre de transplante estratificada pelo “*cut off*” da adiponectina e da hemoglobina glicada selecionada. A comparação da sobrevida livre de transplante entre os diferentes grupos foi realizada através de *log rank test*. A análise de

sobrevida inicialmente incluiu todos os pacientes, porém uma subanálise com as diferentes etiologias da cirrose foi realizada. Teste de Wilcoxon foi utilizado para comparar os níveis de adiponectina nos dois momentos de coleta.

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).

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo está em conformidade com a resolução do Conselho Nacional de Saúde n° 196 de 10/10/1996 e foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina. Encontra-se registrado sob o Parecer n. 28.074, de 28/05/2012 (Anexo A) e Parecer n. 717.557, de 14/07/2014 (Anexo B). O termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por todos os participantes (casos e controles).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DOS PORTADORES DE CIRROSE INCLUÍDOS NO ESTUDO

Entre junho e outubro de 2012, 139 pacientes portadores de cirrose sem carcinoma hepatocelular foram avaliados para inclusão e 15 foram excluídos por terapia com insulina e outros dois por ausência de amostra de soro estocada.

A tabela 9 exhibe as características sociodemográficas e clínicas dos 122 pacientes elegíveis para participar do estudo.

A média de idade foi de $52,8 \pm 12,8$ anos e houve predominância do sexo masculino (68,0%) e da cor de pele branca (91,8%). Diagnóstico de diabetes *mellitus* de acordo com o relato do paciente foi observado em 18,9% dos pacientes e de hipertensão arterial sistêmica em 27,9%. Etilismo atual significativo e tabagismo foram relatados por 4,1% e 27,9% dos indivíduos, respectivamente. O diagnóstico de cirrose foi definido por biópsia hepática em 22 pacientes (18%) e por outros critérios nos demais pacientes. A etiologia mais comum da cirrose foi hepatite C (35,2%) seguida pelo alcoolismo (33,6%). Infecção pelo HBV foi encontrada em 4,1% dos pacientes. Houve sobreposição de álcool e VHC em 23 pacientes (18,8%) e de álcool e VHB em 2 pacientes (1,63%). Apenas seis indivíduos (4,9%) apresentavam diagnóstico de doenças colestáticas crônicas (cirrose biliar primária em cinco casos e colangite esclerosante primária em um paciente), além de seis casos (4,9%) de hepatite autoimune, um (0,8%) de hemocromatose, 4 (3,3%) de esteatohepatite não alcoólica, 10 casos (8,2%) de cirrose criptogênica e 6 casos (4,9%) de outras etiologias (doença policística, ductopenia idiopática, esclerose hepatoportal, fibrose portal idiopática e doença de Wilson). No momento da avaliação, 20,5% dos pacientes apresentavam ascite, 10,7% encefalopatia hepática, 3,3% icterícia e 83,6% tinham diagnóstico endoscópico de varizes esofágicas.

Quando avaliados quanto à classificação de Child-Pugh, 67,2% foram classificados como Classe A, 30,3% Classe B e 2,5% Classe C, com média de MELD de $9,84 \pm 2,32$ (mediana de 9,42).

Tabela 9 - Características sociodemográficas e clínicas dos pacientes incluídos no estudo

| Variáveis | Pacientes incluídos (n = 122) |
|--|--|
| Idade (anos), média ± DP (mediana) | 52,87 ± 12,82 (52,0) |
| Sexo masculino, n. (%) | 83 (68,0) |
| Pele branca, n. (%) | 112 (91,8) |
| Hipertensão arterial sistêmica, n. (%) | 34 (27,9) |
| Diabetes <i>mellitus</i> , n. (%) | 23 (18,9) |
| Dislipidemia, n. (%) | 14 (11,5) |
| Etilismo prévio, n. (%) | 54 (44,3) |
| Etilismo atual, n. (%) | 5 (4,1) |
| Tabagismo atual, n. (%) | 34 (27,9) |
| Etiologia da Cirrose ¹ , n. (%) | |
| Álcool | 41 (33,6) |
| Hepatite C | 43 (35,2) |
| Hepatite B | 5 (4,1) |
| Hepatite autoimune | 6 (4,9) |
| Cirrose Biliar Primária | 5 (4,1) |
| Colangite esclerosante | 1 (0,8) |
| Esteatohepatite não alcoólica | 4 (3,3) |
| Hemocromatose | 1 (0,8) |
| Criptogênica | 10 (8,2) |
| Outras | 6 (4,9) |
| Edema, n. (%) | 11 (9,0) |
| Ascite, n. (%) | 25 (20,5) |
| Icterícia, n. (%) | 4 (3,3) |
| Encefalopatia hepática, n. (%) | 13 (10,7) |
| Varizes de esôfago, n. (%) | 102 (83,6) |
| Classificação de Child-Pugh, n. (%) | |
| A | 82 (67,2) |
| B | 37 (30,3) |
| C | 3 (2,5) |
| MELD, média ± DP (mediana) | 9,84 ± 2,32 (9,42) |

DP = Desvio padrão; MELD = *Model for End-stage Liver Disease*.

Detalhes das variáveis relacionadas à composição corporal e dos exames laboratoriais são apresentados na tabela 10.

Tabela 10 - Variáveis relacionadas à composição corporal e exames laboratoriais dos pacientes incluídos no estudo

| Variáveis | Pacientes incluídos (n = 122) |
|--|--|
| IMC (kg/m ²), média ± DP (mediana) | 27,08 ± 4,99 (26,25) |
| Albumina (g/dL), média ± DP (mediana) | 3,45 ± 0,46 (3,40) |
| RNI, média ± DP (mediana) | 1,21 ± 0,13 (1,20) |
| Bilirrubina T (mg/dL), média ± DP (mediana) | 1,27 ± 0,91 (1,00) |
| Bilirrubina D (mg/dL), média ± DP (mediana) | 0,48 ± 0,58 (0,30) |
| Creatinina (mg/dL), média ± DP (mediana) | 0,89 ± 0,19 (0,80) |
| Sódio (mEq/L), média ± DP (mediana) | 137,17 ± 2,71 (138,00) |
| Colesterol Total (mg/dL), média ± DP (mediana) | 155,67 ± 35,17 (155,00) |
| HDL-CT (mg/dL), média ± DP (mediana) | 50,48 ± 16,39 (51,00) |
| LDL-CT (mg/dL), média ± DP (mediana) | 90,66 ± 28,82 (88,00) |
| Triglicerídeos (mg/dL), média ± DP (mediana) | 85,51 ± 49,62 (73,00) |
| Glicemia (mg/dL), média ± DP (mediana) | 108,07 ± 32,41 (100,00) |
| Insulina (UI/ml), média ± DP (mediana) | 14,34 ± 14,82 (9,23) |
| HbA1c (%), média ± DP (mediana) | 5,90 ± 1,22 (5,75) |
| HOMA-IR, média ± DP (mediana) | 4,13 ± 5,17 (2,47) |
| Proteína C reativa, média ± DP (mediana) | 6,15 ± 6,91 (3,50) |
| Ferritina, média ± DP (mediana) | 188,39 ± 207,26 (130,50) |

IMC = Índice de massa corporal; DP = Desvio padrão; RNI = Relação normatizada internacional; HDL-CT = HDL-colesterol; LDL-CT = LDL-colesterol; HbA1c = Hemoglobina glicada A1c; HOMA-IR = Modelo de avaliação da homeostase para resistência à insulina.

5.2 CARACTERÍSTICAS DO GRUPO CONTROLE

Durante o período do estudo, 36 pacientes foram avaliados e 30 foram elegíveis a participar deste estudo. As características da amostra estudada estão demonstradas na tabela 11. A média de idade foi de $52,7 \pm 12,01$ anos e houve predominância do sexo masculino (66,7%). Etilismo prévio social e tabagismo foram relatados por 33,3% e 26,7% dos indivíduos, respectivamente.

Tabela 11 - Características sociodemográficas e clínicas e exames laboratoriais dos controles incluídos no estudo

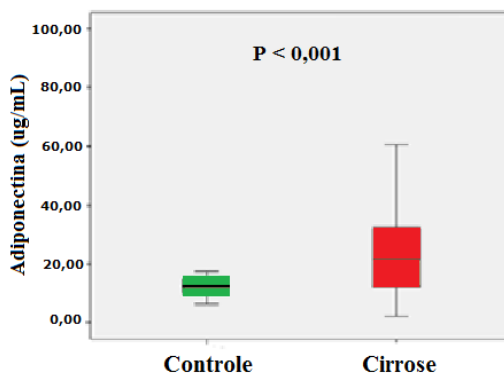
| Variáveis | Controles (n = 30) |
|--|-------------------------------|
| Idade (anos), média \pm DP (mediana) | 52,97 \pm 12,01 (52,5) |
| Sexo masculino, n. (%) | 20 (66,7) |
| Pele branca, n. (%) | 26 (86,7) |
| Etilismo prévio, n. (%) | 7 (33,3) |
| Tabagismo atual, n. (%) | 8 (26,7) |
| IMC (kg/m ²), média \pm DP (mediana) | 24,36 \pm 3,10 (23,85) |
| Albumina (g/dL), média \pm DP (mediana) | 3,79 \pm 0,33 (3,80) |
| RNI, média \pm DP (mediana) | 1,06 \pm 0,63 (1,05) |
| Bilirrubina T (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 0,46 \pm 0,16 (0,45) |
| Bilirrubina D (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 0,13 \pm 0,54 (0,10) |
| Creatinina (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 0,93 \pm 0,25 (0,90) |
| Colesterol total (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 189,43 \pm 37,63 (187,00) |
| HDL-CT (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 50,20 \pm 10,17 (49,00) |
| LDL-CT (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 127,03 \pm 27,94 (129,00) |
| Triglicerídeos (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 109,40 \pm 63,23 (87,50) |
| Glicemia (mg/dL), média \pm DP (mediana) | 97,80 \pm 13,08 (98,50) |
| Insulina (IU/ml), média \pm DP (mediana) | 8,21 \pm 7,68 (6,18) |
| HbA1c (%), média \pm DP (mediana) | 5,21 \pm 0,43 (5,20) |
| Proteína C reativa, média \pm DP (mediana) | 5,07 \pm 4,86 (3,40) |

DP = Desvio padrão; IMC = Índice de massa corporal; RNI = Relação normatizada internacional; HDL-CT = HDL-colesterol; LDL-CT = LDL-colesterol; HbA1c = Hemoglobina glicada A1c.

5.3 COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS DE ADIPOCINAS ENTRE OS GRUPOS

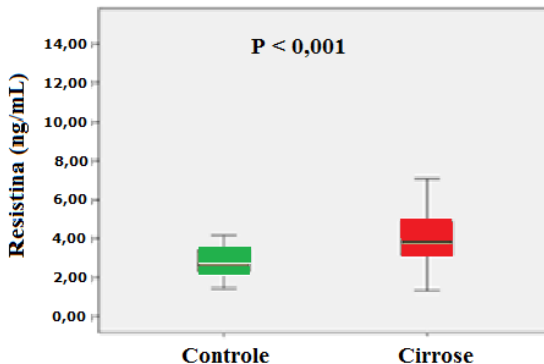
A figura 3 exibe os níveis de adiponectina de acordo com o grupo estudado. As concentrações médias de adiponectina foram de $24,26 \pm 15,34 \mu\text{g/mL}$ (mediana de $21,59 \mu\text{g/mL}$) entre os cirróticos e $12,89 \pm 5,59 \mu\text{g/mL}$ (mediana de $12,52 \mu\text{g/mL}$) no grupo controle ($P < 0,001$).

Figura 3 - Concentrações de adiponectina de acordo com o grupo de estudo



As concentrações de resistina entre os grupos estudados são apresentadas na figura 4. Os níveis de resistina foram de $4,27 \pm 2,26 \text{ ng/mL}$ (mediana de $3,83 \text{ ng/mL}$) entre os pacientes e de $2,87 \pm 0,92 \text{ ng/mL}$ (mediana de $2,66 \text{ ng/mL}$) entre os controles ($P < 0,001$).

Figura 4 - Concentrações de resistina de acordo com o grupo de estudo



5.4 FATORES ASSOCIADOS AOS NÍVEIS DE ADIPOCINAS ENTRE OS PACIENTES CIRRÓTICOS

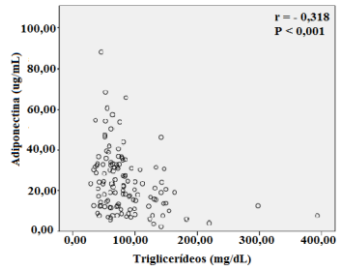
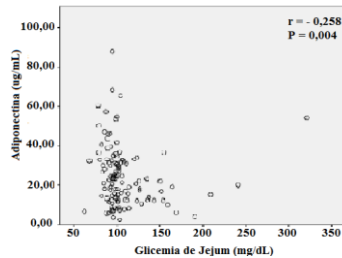
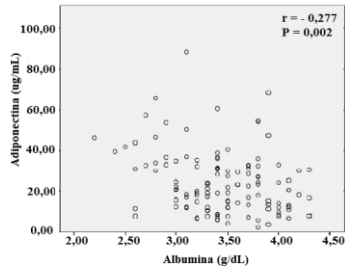
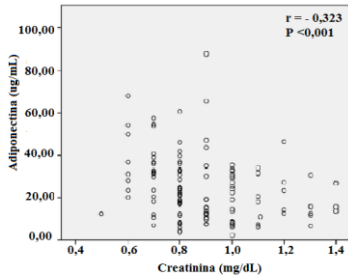
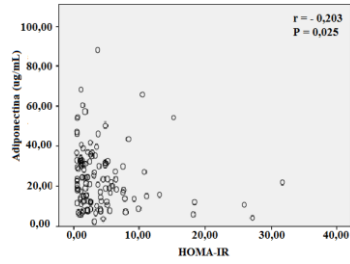
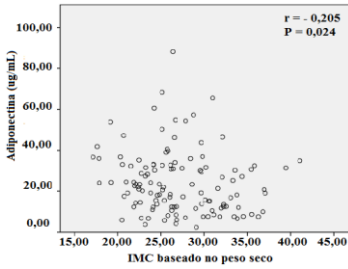
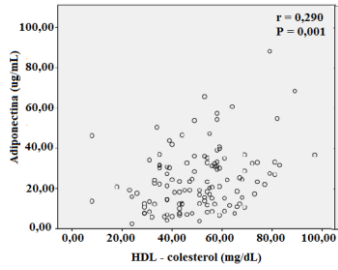
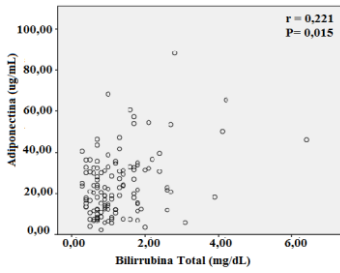
A tabela 12 mostra a análise de correlação de Spearman entre as adipocinas e as demais variáveis numéricas estudadas. Entre os cirróticos, níveis de adiponectina se correlacionaram positivamente com bilirrubina total ($r = 0,221$, $P = 0,015$), HDL-colesterol ($r = 0,290$, $P = 0,001$) e negativamente com IMC ($r = -0,205$, $P = 0,024$), creatinina ($r = -0,323$, $P < 0,001$), albumina ($r = -0,277$, $P = 0,002$), glicemia ($r = -0,258$, $P = 0,004$), triglicerídeos ($r = -0,318$, $P < 0,001$) e HOMA-IR ($r = -0,203$, $P = 0,025$), conforme a figura 5. Os níveis de resistina se correlacionaram diretamente à creatinina ($r = 0,228$, $P = 0,012$), PCR ($r = 0,247$, $P = 0,007$) e inversamente à AST ($r = -0,198$, $P = 0,029$), ALT ($r = -0,242$, $P = 0,007$), GGT ($r = -0,207$, $P = 0,022$), glicemia ($r = -0,221$, $P = 0,015$) e HDL-colesterol ($r = -0,189$, $P = 0,038$).

Tabela 12 - Análise de correlação entre as adipocinas e variáveis demográficas, antropométricas e laboratoriais

| Variável | Adiponectina r (valor de P) | Resistina r (valor de P) |
|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| Idade | -0,069 (0,449) | -0,006 (0,951) |
| IMC | -0,205 (0,024) | -0,031 (0,737) |
| Creatinina | -0,323 (<0,001) | 0,228 (0,012) |
| AST | 0,170 (0,061) | -0,198 (0,029) |
| ALT | 0,140 (0,125) | -0,242 (0,007) |
| Fosfatase Alcalina | 0,211 (0,020) | 0,001 (0,995) |
| GGT | -0,149 (0,101) | -0,207 (0,022) |
| Bilirrubina total | 0,221 (0,015) | -0,031 (0,737) |
| Albumina | -0,277 (0,002) | -0,043 (0,641) |
| RNI | 0,133 (0,145) | 0,050 (0,584) |
| Glicemia | -0,258 (0,004) | -0,221 (0,015) |
| Sódio | -0,045 (0,623) | -0,173 (0,058) |
| PCR | 0,054 (0,555) | 0,247 (0,007) |
| Ferritina | -0,046 (0,614) | -0,129 (0,156) |
| Colesterol total | 0,139 (0,128) | -0,094 (0,304) |
| HDL-Colesterol | 0,290 (0,001) | -0,189 (0,038) |
| LDL-Colesterol | 0,039 (0,667) | 0,033 (0,719) |
| Triglicerídeos | -0,318 (<0,001) | -0,060 (0,513) |
| HOMA-IR | -0,203 (0,025) | -0,161 (0,078) |
| MELD | 0,135 (0,138) | 0,078 (0,392) |

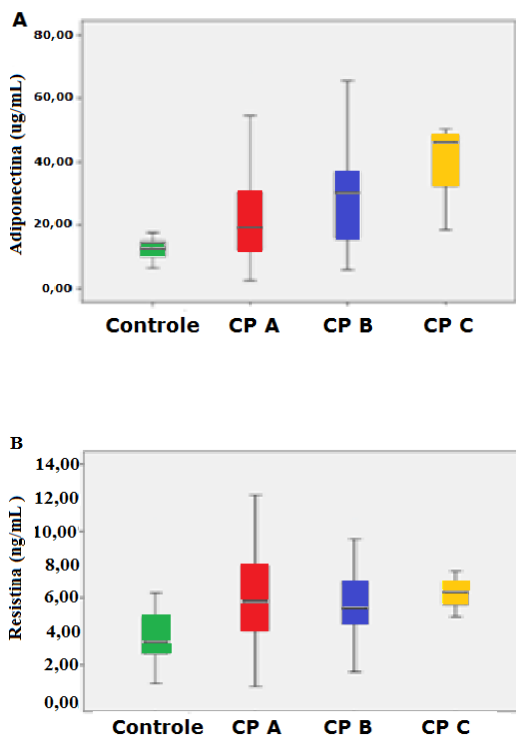
IMC = Índice de massa corporal; AST= Aspartato aminotransferase; ALT = Alanino aminotransferase; GGT = Gama-glutamil transferase; RNI = Relação normatizada internacional; PCR = Proteína C reativa; HOMA-IR = Modelo de avaliação da homeostase para resistência à insulina; MELD = *Model for End-Stage Liver Disease*.

Figura 5 - Coeficiente de correlação de Spearman entre os níveis de adiponectina e as variáveis com significância estatística



Medianas significativamente mais baixas de adiponectina foram observadas entre os homens (18,42 $\mu\text{g/mL}$ vs. 27,18 $\mu\text{g/mL}$, $P = 0,002$) e naqueles com cirrose de etiologia alcoólica (16,83 $\mu\text{g/mL}$ vs. 27,40 $\mu\text{g/mL}$, $P = 0,001$). A figura 6 mostra os níveis de adiponectina (figura 6A) e resistina (figura 6B) no grupo controle e nos pacientes categorizados de acordo com a Classificação de Child-Pugh. Devido ao número relativamente pequeno de pacientes classificados como Child-Pugh C, os mesmos foram agrupados ao grupo Child-Pugh B para comparações dos níveis de adipocinas. Pacientes classificados como Child-Pugh B/C apresentaram níveis significativamente mais elevados de adiponectina em relação aos Child-Pugh A (30,47 $\mu\text{g/mL}$ vs. 17,04 $\mu\text{g/mL}$, $P = 0,008$).

Figura 6 - Concentrações de adiponectina (A) e resistina (B) entre os grupos controle e pacientes com cirrose categorizados de acordo com a Classificação de Child-Pugh



Maiores níveis de adiponectina também foram observados em pacientes com MELD ≥ 10 quando comparados com valores menores de MELD (25,67 $\mu\text{g/mL}$ vs. 10,07 $\mu\text{g/mL}$, $P = 0,017$).

Não foram observadas diferenças nos níveis de adiponectina em relação às demais variáveis, incluindo o etilismo atual.

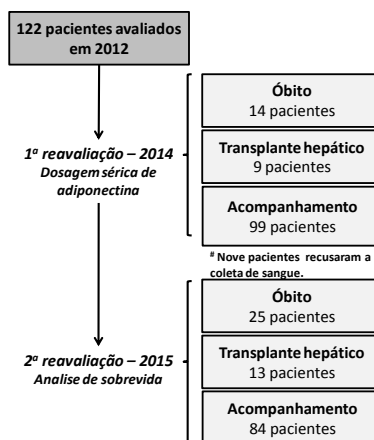
Maiores medianas de resistina foram observadas nos pacientes com antecedente de encefalopatia hepática (4,34 ng/mL vs. 3,63 ng/mL, $P = 0,003$). Houve uma tendência a maiores valores de resistina entre os indivíduos com antecedentes de descompensação (4,06 ng/mL vs. 3,38 ng/mL, $P = 0,064$). Não foram observadas diferenças em relação às demais variáveis, incluindo etiologia da cirrose, classificação de Child-Pugh e MELD.

5.5 SEGUIMENTO DOS PACIENTES CIRRÓTICOS EM ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL E SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DOS NÍVEIS DE ADIPOCINAS

5.5.1 Seguimento dos pacientes

Uma reavaliação clínica e laboratorial inicial foi realizada no ano de 2014 e depois os pacientes foram seguidos por mais um ano para avaliação de sobrevida no ano de 2015 (figura 7). Na avaliação de 2014, 14 pacientes (11,5%) evoluíram para óbito, nove pacientes (7,4%) realizaram transplante hepático e os 99 pacientes restantes mantinham acompanhamento clínico e foram reavaliados (81,1%). Quando considerados apenas aqueles que não realizaram transplante hepático, 7 pacientes progrediram de Child-Pugh A para B, 1 de Child-Pugh A para C e 1 de Child-Pugh B para C. Nove pacientes recusaram coleta de sangue (um transplantado e oito cirróticos em acompanhamento).

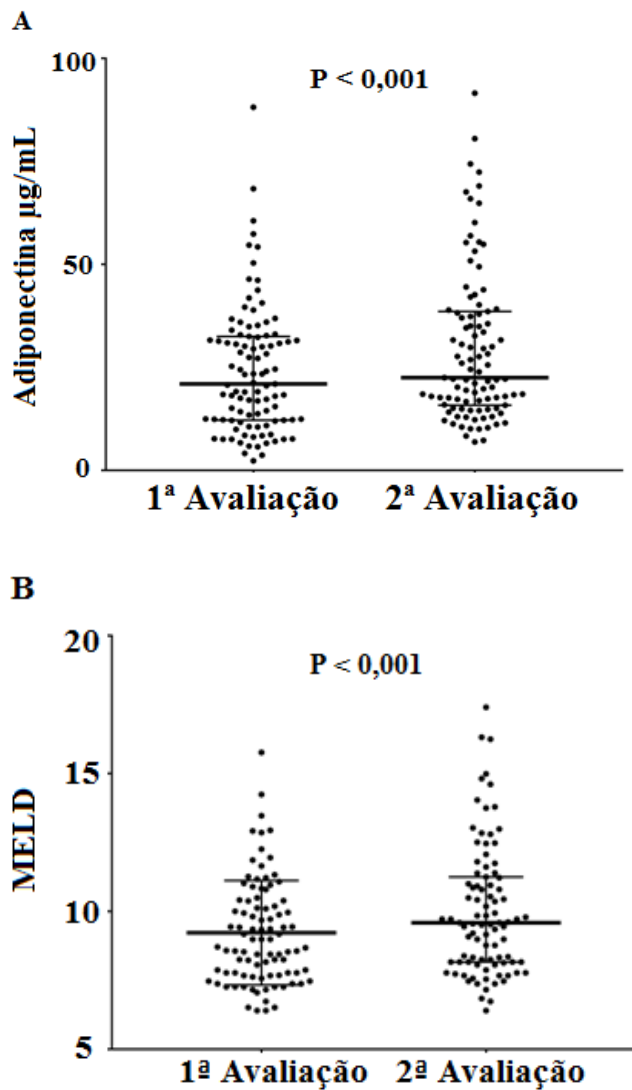
Figura 7 - Fluxograma dos pacientes incluídos e seguimento



5.5.2 Medidas seriadas de adiponectina

Após as avaliações preliminares dos dados coletados inicialmente, adiponectina foi selecionada como potencial biomarcador prognóstico e foi mensurada novamente na segunda avaliação. A figura 8 mostra os níveis de adiponectina (figura 8A) e MELD (figura 8B) na primeira e segunda avaliações.

Figura 8 - Níveis de adiponectina (A) e MELD (B) na primeira e na segunda avaliação (pacientes não transplantados).



As barras significam a mediana e intervalos interquartis.

Nos pacientes não transplantados, as medianas de adiponectina aumentaram significativamente na segunda avaliação (22,49 µg/mL vs. 19,13 µg/mL, $P < 0,001$), bem como as medianas de MELD ($9,22 \pm 1,89$ vs. $10,01 \pm 2,36$, $P < 0,001$). Quando avaliados quanto à classificação de Child-Pugh as medianas de adiponectina foram de 18,65 µg/mL em 2012 e de 21,96 µg/mL em 2014 nos Child-Pugh A ($P < 0,001$) e de 24,54 µg/mL em 2012 e de 34,93 µg/mL em 2014 nos Child-Pugh B/C ($P = 0,003$). Nos oito pacientes que evoluíram para transplante, as medianas dos níveis de adiponectina reduziram de 38,24 µg/mL em 2012 para 24,08 µg/mL em 2014, não apresentando, entretanto significância estatística ($P = 0,123$).

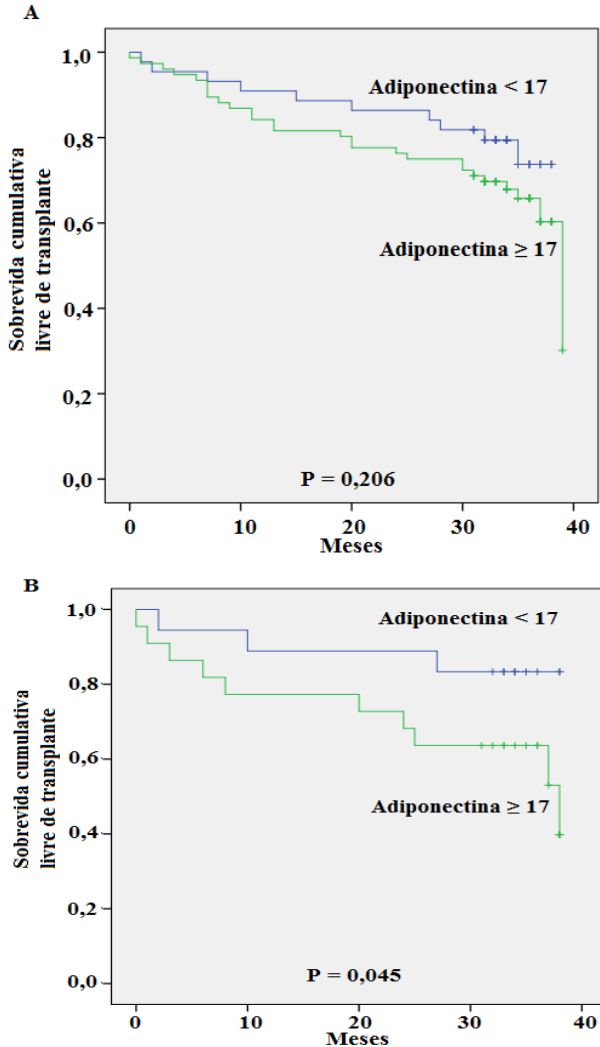
5.5.3 Significado prognóstico dos níveis de adipocinas

Os pacientes foram acompanhados por uma mediana de 34 meses. Durante o seguimento, 25 pacientes (20,5%) evoluíram para óbito e 13 (10,7%) foram submetidos a transplante hepático (figura 7). A análise univariada de Cox mostrou uma tendência à associação entre adiponectina e sobrevida global livre de transplante (*Hazard ratio* (HR) = 1,019, intervalo de confiança 95% (IC95%) 0,999 – 1,038, $P = 0,057$). Não foi observada relação entre os níveis de resistina e a sobrevida livre de transplante (HR = 0,950, IC95% 0,801 – 1,126, $P = 0,554$).

Uma análise subsequente foi realizada para avaliar a relação entre adiponectina e sobrevida livre de transplante de acordo com a etiologia da doença hepática (viral ou alcoólica). Vinte e cinco pacientes apresentavam etiologias alcoólica e viral (VHC em 23 e VHB em 2 pacientes) e foram incluídos em ambas as análises. Etiologias menos frequentes não foram incluídas nesta subanálise devido ao pequeno número de pacientes. Quando avaliados quanto à etiologia e considerados apenas os pacientes com doença hepática alcoólica, 19 pacientes evoluíram para óbito e 9 foram transplantados no período. A análise univariada de Cox mostrou que entre os pacientes com doença hepática alcoólica, os níveis de adiponectina se associaram significativamente a menor sobrevida livre de transplante (HR = 1,034, IC95% 1,006 – 1,062, $P = 0,016$). A figura 9 mostra a curva de sobrevida de Kaplan Meier de acordo com os níveis de adiponectina dicotomizados pela mediana (17 µg/mL) em todos os pacientes (figura 9A) e nos pacientes com doença hepática alcoólica (figura 9B). Não foi

observada associação entre HOMA-IR e sobrevida, independente da etiologia da cirrose.

Figura 9 - Curva de sobrevida livre de transplante de Kaplan Meier de todos os pacientes avaliados (A) e dos pacientes com doença hepática alcoólica (B) estratificada de acordo com adiponectina



Quando a coorte como um todo foi avaliada, nenhuma diferença foi observada na sobrevida. A sobrevida livre de transplante foi significativamente menor entre os pacientes com adiponectina ≥ 17 $\mu\text{g/mL}$ (26,55 meses, IC 95% 21,40 – 31,70) quando comparados àqueles com níveis < 17 $\mu\text{g/mL}$ (33,76 meses, IC95% 30,70 – 36,82) nos pacientes com cirrose de etiologia alcoólica ($P = 0,045$, teste de *log rank*). Não foi observada relação entre adiponectina e sobrevida nos casos de etiologia viral ou nos subgrupos de etiologias menos comuns de cirrose.

5.6 PARÂMETROS DE METABOLISMO DA GLICOSE ENTRE PACIENTES CIRRÓTICOS ESTÁVEIS EM ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL

5.6.1 Características da casuística

Dos 122 pacientes inicialmente incluídos, 23 indivíduos foram excluídos da análise dos parâmetros de metabolismo da glicose devido ao uso de terapia hipoglicemiante oral. As características dos 99 indivíduos incluídos estão sumarizadas na tabela 13. A média de idade foi de $51,3 \pm 12,8$ anos e houve predominância do sexo masculino (66,7%). Etilismo atual significativo e tabagismo foram relatados por 4,0% e 29,3% dos indivíduos, respectivamente. A etiologia mais comum da cirrose foi hepatite C (36,4%) seguida pelo alcoolismo (33,3%). No momento da avaliação inicial 65,7% foram classificados como Child-Pugh A, 31,3% como B e 3,0% C. A pontuação média do MELD foi de $9,91 \pm 2,36$ (mediana de 9,42).

Tabela 13 - Características dos pacientes incluídos

| Variáveis | Pacientes (n = 99) |
|---|-----------------------|
| Idade (anos), média ± DP (mediana) | 51,30 ± 12,85 (51,0) |
| Sexo masculino, n. (%) | 66 (66,7) |
| Pele branca, n. (%) | 90 (90,9) |
| Etilismo prévio, n. (%) | 44 (44,4) |
| Etilismo atual, n. (%) | 4 (4,0) |
| Tabagismo atual, n. (%) | 29 (29,3) |
| Etiologia da cirrose ¹ , n. (%) | |
| Álcool | 33 (33,3) |
| Hepatite C | 36 (36,4) |
| Hepatite B | 5 (5,0) |
| Hepatite Autoimune | 6 (6,1) |
| Cirrose Biliar Primária | 5 (5,0) |
| Colangite esclerosante | 1 (1,0) |
| Esteatohepatite não alcoólica | 0 (0,0) |
| Hemocromatose | 0 (0,0) |
| Criptogênica | 7 (7,1) |
| Outras | 6 (6,1) |
| Hipertensão arterial sistêmica, n. (%) | 21 (21,2) |
| Complicação prévia, n. (%) | |
| Ascite | 48 (48,5) |
| Encefalopatia hepática | 23 (23,2) |
| Peritonite bacteriana espontânea | 9 (9,1) |
| Sangramento varizes de esôfago | 59 (59,6) |
| Descompensação prévia | 74 (74,7) |
| Internação prévia | 69 (69,7) |
| Complicação no momento da avaliação, n. (%) | |
| Ascite | 23 (23,2) |
| Encefalopatia hepática | 11 (11,1) |
| Varizes de esôfago | 84 (84,8) |
| Classificação Child-Pugh, média ± DP (mediana) | 6,34 ± 1,37 (6,00) |

Classificação Child-Pugh, n (%)

| | |
|---|------------------------|
| A | 65 (65,7) |
| B | 31 (31,3) |
| C | 3 (3,0) |
| MELD, média ± DP (mediana) | 9,91 ± 2,36 (9,42) |
| MELD score ≥ 10, n. (%) | 42 (42,4) |
| IMC (kg/m ²), média ± DP (mediana) | 26,21 ± 4,72 (25,4) |
| Parametros laboratoriais | |
| Albumina (g/dL), média ± DP (mediana) | 3,45 ± 0,46 (3,50) |
| RNI, média ± DP (mediana) | 1,21 ± 0,13 (1,20) |
| Hemoglobina (g/dL), média ± DP (mediana) | 13,20 ± 2,10 (13,25) |
| Bilirrubina Total (mg/dL), média ± DP (mediana) | 1,29 ± 0,94 (1,00) |
| Creatinina (mg/dL), média ± DP (mediana) | 0,89 ± 0,19 (0,80) |
| Sódio (mEq/L), média ± DP (mediana) | 137,13 ± 2,64 (137,50) |
| Glicemia de jejum (mg/dL), média ± DP (mediana) | 100,34 ± 15,87 (97,50) |
| Insulina (IU/ml), média ± DP (mediana) | 13,34 ± 14,60 (7,90) |
| HbA1c (%), média ± DP (mediana) | 5,54 ± 0,70 (5,50) |
| HOMA-IR, média ± DP (mediana) | 3,50 ± 4,55 (2,05) |
| PCR, média ± DP (mediana) | 6,39 ± 7,49 (3,50) |

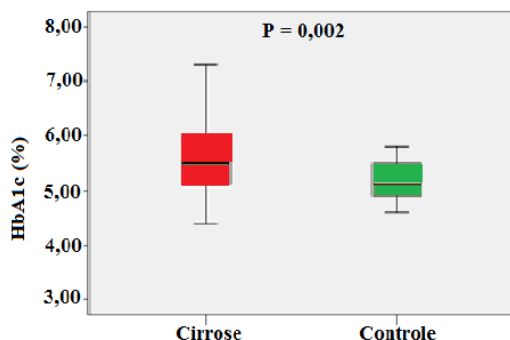
DP = Desvio padrão; MELD = *Model for End-Stage Liver Disease*; IMC = Índice de massa corporal baseado no peso seco estimado; RNI = Relação normalizada internacional; HbA1c = Hemoglobina glicada A1c; HOMA-IR = Modelo de avaliação da homeostase para resistência à insulina; PCR = Proteína C reativa.

¹ Mais de um fator etiológico pode estar presente em casos específicos.

5.6.2 Relação entre HbA1c e variáveis em estudo

Níveis significativamente mais elevados de HbA1c foram observados entre os portadores de cirrose quando comparados aos controles saudáveis ($5,54 \pm 0,70$ vs. $5,20 \pm 0,43$, $P = 0,002$), conforme demonstrado na figura 10.

Figura 10 – Níveis de HbA1c de acordo com o grupo do estudo



Entre os portadores de cirrose, médias significativamente mais altas de HbA1c foram observadas entre os homens ($5,68 \pm 0,65$ vs. $5,27 \pm 0,72$, $P = 0,006$), naqueles com etilismo atual ($5,72 \pm 0,66$ vs. $5,33 \pm 0,70$, $P = 0,005$) ou prévio ($5,74 \pm 0,70$ vs. $5,39 \pm 0,66$, $P = 0,013$) e com hepatopatia de etiologia alcoólica ($5,71 \pm 0,66$ vs. $5,33 \pm 0,70$, $P = 0,005$). Por outro lado, os níveis de HbA1c foram mais baixos entre os indivíduos classificados como Child-Pugh B/C em relação aos Child-Pugh A ($5,21 \pm 0,75$ vs. $5,72 \pm 0,60$, $P < 0,001$) e naqueles com ascite no momento da avaliação ($5,25 \pm 0,65$ vs. $5,63 \pm 0,69$, $P = 0,019$). Não foram observadas diferenças em relação às demais variáveis estudadas.

A correlação entre os níveis de HbA1c e as demais variáveis numéricas estudadas é mostrada na tabela 14 e na figura 11. Os níveis de HbA1c se correlacionaram positivamente com idade ($r = 0,317$, $P = 0,001$), creatinina ($r = 0,350$, $P < 0,001$), albumina ($r = 0,211$, $P =$

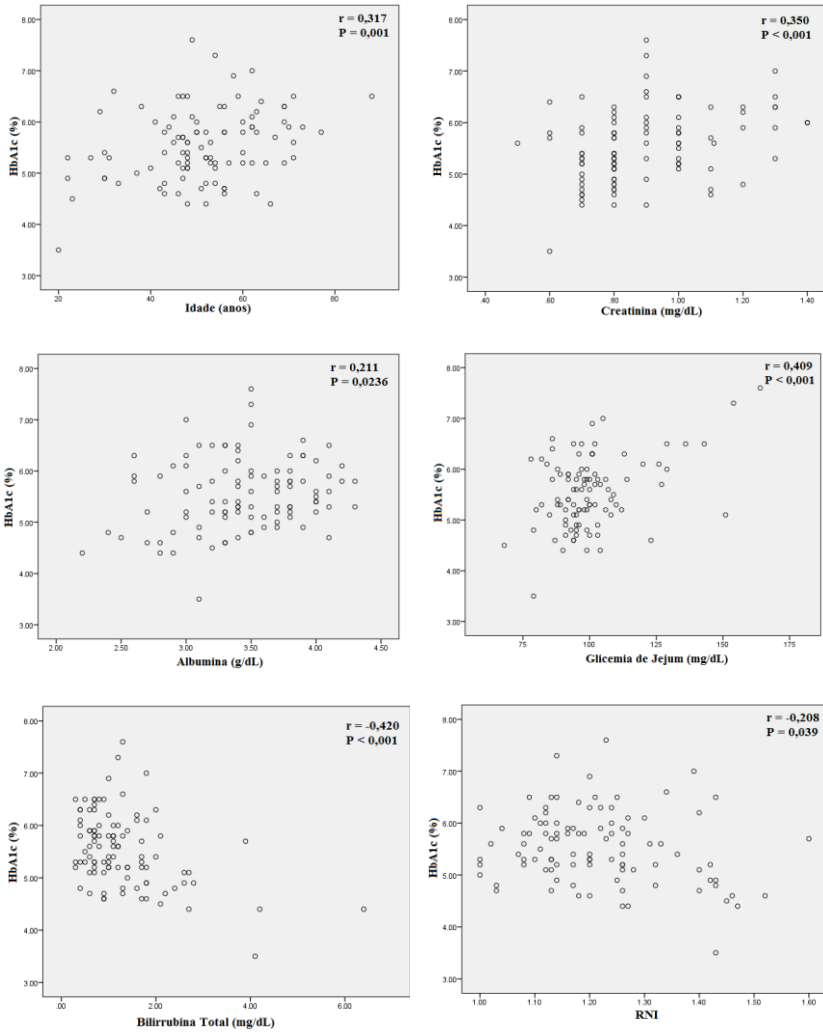
0,036) e glicemia de jejum ($r = 0,409$, $P < 0,001$). Correlação negativa foi observada entre os níveis de HbA1c e bilirrubina total ($r = -0,420$, $P < 0,001$) e RNI ($r = -0,208$, $P = 0,039$).

Tabela 14 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os níveis de HbA1c e as variáveis numéricas

| HbA1c | r | P |
|-------------------|--------|---------|
| Idade | 0,317 | 0,001 |
| IMC | 0,141 | 0,165 |
| Bilirrubina Total | -0,420 | <0,001 |
| Albumina | 0,211 | 0,036 |
| RNI | -0,208 | 0,039 |
| Hemoglobina | -0,128 | 0,208 |
| Sódio | 0,098 | 0,338 |
| Creatinina | 0,350 | < 0,001 |
| Glicemia de Jejum | 0,409 | <0,001 |
| Insulina | 0,012 | 0,907 |
| PCR | -0,178 | 0,081 |
| MELD | -0,281 | 0,005 |
| Child | -0,368 | <0,001 |

IMC = Índice de massa corporal baseado no peso seco estimado; RNI = Relação normatizada internacional; PCR = Proteína C reativa; MELD = *Model for End-Stage Liver Disease*.

Figura 11 - Coeficiente de correlação de Pearson entre os níveis de HbA1c e as variáveis com significância estatística



5.6.3 Significado prognóstico da HbA1c em cirróticos

Os 99 pacientes foram acompanhados por uma mediana de 34 meses. Na avaliação final, 32 pacientes (32,3%) haviam evoluído para óbito e 12 pacientes (12,1%) foram submetidos a transplante hepático. As análises de regressão univariada e multivariada de Cox dos fatores associados à sobrevida livre de transplante são mostradas na tabela 15. As seguintes variáveis de interesse foram incluídas na análise: sexo, idade, Child-Pugh B/C, MELD e HbA1c. Os melhores pontos de corte de MELD e HbA1c para prever mortalidade foram escolhidos por curvas ROC e seus valores foram categorizados de acordo com esses pontos de corte. A regressão univariada de Cox mostrou que Child-Pugh B/C, HbA1c < 5,25% e MELD \geq 10 foram associadas à menor sobrevida livre de transplante. Na regressão múltipla de Cox, HbA1c < 5,25% (HR = 3,873, IC95% 1,649 – 9,097, P = 0,002) e MELD \geq 10 (HR = 2,950, IC95% 1,246 – 6,986, P = 0,002) foram associadas de forma independente à menor sobrevida livre de transplante.

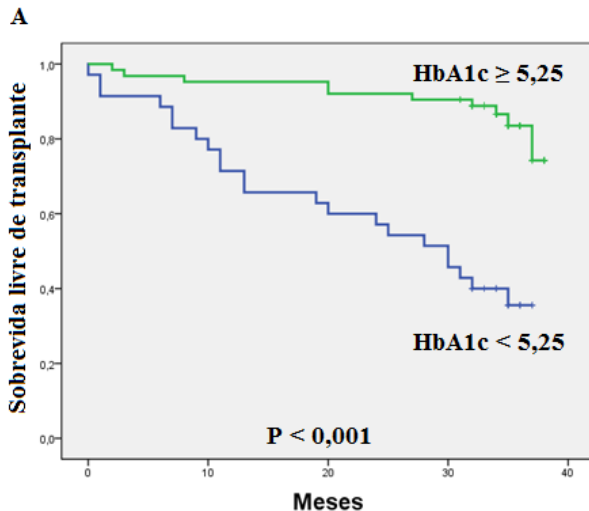
Tabela 15 - Hazard ratio não ajustado e ajustado dos fatores associados com sobrevida livre de transplante

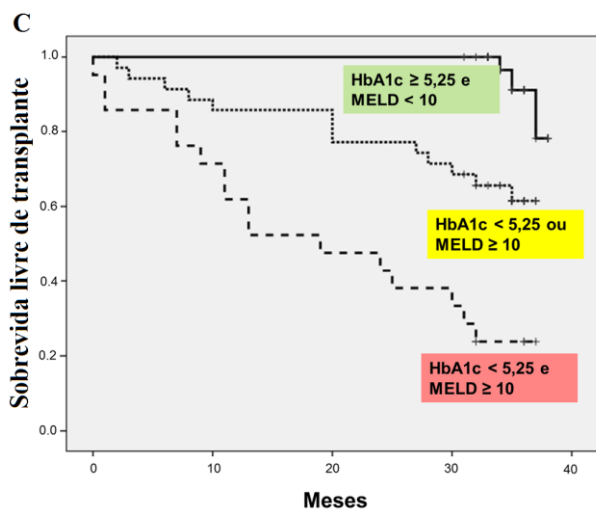
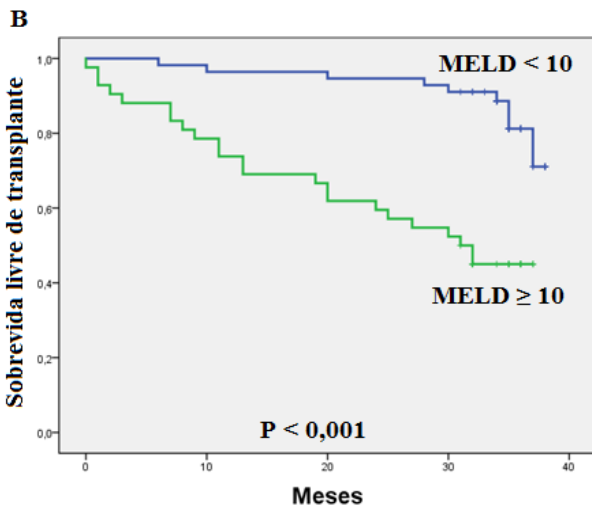
| Variável | Regressão Univariada | | | Regressão Multivariada | | |
|----------------|----------------------|--------------|--------|------------------------|-------------|-------|
| | HR não ajustado | IC 95% | P | HR ajustado | IC 95% | P |
| Sexo masculino | 1,280 | 0,534-2,383 | 0,753 | - | - | - |
| Idade | 0,985 | 0,958-1,012 | 0,259 | - | - | - |
| Child-Pugh B/C | 6,148 | 2,898-3,046 | <0,001 | - | - | - |
| MELD \geq 10 | 4,754 | 2,192-10,306 | <0,001 | 2,950 | 1,246-6,986 | 0,014 |
| HbA1c < 5,25 | 5,724 | 2,697-12,147 | <0,001 | 3,873 | 1,649-9,097 | 0,002 |

HR = Hazard ratio; IC 95% = Intervalo de confiança 95%; MELD = Model for End-Stage Liver Disease; HbA1c = Hemoglobina glicada A1c.

Pacientes com HbA1c <5,25% apresentaram probabilidade de sobrevida livre de transplante de Kaplan-Meier significativamente menor quando comparados àqueles com níveis de HbA1c \geq 5,25% (37,1% vs. 84,1%, $P < 0,001$) (figura 12A). De forma semelhante, aqueles com MELD \geq 10 apresentaram menor sobrevida em relação aos pacientes com menores valores de MELD (45,2% vs. 83,9%, $P < 0,001$) (figura 12B). Combinando os dois parâmetros, foi possível estabelecer três categorias de risco de acordo com a presença de um ou dois destes fatores (figura 12C). A probabilidade de sobrevida livre de transplante foi de 92,9% nos pacientes sem fatores de mau prognóstico, 62,9% naqueles com um dos fatores e de apenas 23,8% nos indivíduos com os dois fatores de mau prognóstico (HbA1c < 5,25% e MELD \geq 10).

Figura 12 - Curvas de sobrevida de Kaplan Meier de acordo com os pontos de corte escolhidos para HbA1c (A), MELD (B) e ambos os fatores (C)





6 DISCUSSÃO

Pacientes portadores de cirrose hepática apresentam um grande espectro de distúrbios metabólicos e a interação entre os diferentes aspectos dessas alterações ainda não se encontra completamente estabelecida. Múltiplos fatores como a resistência insulínica e alterações na composição corporal, além da doença hepática, podem afetar os níveis de adiponectina e resistina em portadores de cirrose.

No presente estudo, portadores de cirrose apresentaram níveis significativamente mais elevados de adiponectina e resistina do que os controles saudáveis. Apesar de não haver parâmetros de referência normais para os níveis de adiponectina e resistina, os valores de adiponectina observados no presente estudo foram mais elevados que em avaliações prévias que incluíram a população geral (229, 355, 356). Nesses estudos, os níveis médios de adiponectina variaram entre 7,28 µg/mL e 12,83 µg/mL, o que contrasta com os valores médios observados no presente estudo ($24,26 \pm 15,34$ µg/mL). Outros estudos envolvendo portadores de cirrose hepática obtiveram resultados semelhantes, com níveis de adiponectina mais elevados em cirróticos em relação a controles saudáveis (261, 357) e à portadores de doenças hepáticas sem cirrose (265, 358). Um estudo que incluiu 70 portadores de cirrose e 20 controles demonstrou níveis mais elevados de adiponectina nos cirróticos ($15,1 \pm 12,14$ µg/mL vs. $4,7 \pm 4,48$ µg/mL) (261). Outro estudo envolvendo 232 pacientes com doenças hepáticas crônicas de diferentes etiologias, incluindo 45 cirróticos, demonstrou níveis de adiponectina circulantes significativamente maiores em pacientes com cirrose quando comparados a pacientes sem cirrose ($18,6 \pm 3,5$ µg/mL vs. $8,4 \pm 6,1$ µg/mL) (265).

Já os níveis médios de resistina observadas na amostra foram de $4,27 \pm 2,26$ ng/ml (mediana de 3,83 ng/ml) e estão de acordo com outros estudos em cirróticos que variaram entre $6,5 \pm 0,4$ ng/ml e $7,6 \pm 6,7$ ng/ml, sendo mais elevados do que em controles cujos valores variaram entre $3,5 \pm 0,2$ ng/ml e $3,38 \pm 1,68$ ng/ml (157, 347).

Os níveis mais elevados dessas adipocinas nos portadores de doença hepática avançada também estão de acordo com pesquisas prévias (157, 249, 264, 347, 348, 358). A relação entre a gravidade da doença hepática e os níveis séricos de adiponectina já foi demonstrada por outros estudos. Em indivíduos não cirróticos com doenças hepáticas, foram observados baixos níveis de adiponectinemia, associados à presença de esteatose e atividade inflamatória mais intensa na hepatite C

(247, 249) e progressão para NASH e fibrose na DHENA (235, 236). Paradoxalmente, na cirrose, foram encontrados níveis mais elevados de adiponectina (264, 357). Assim como no presente estudo, pesquisas de outros autores demonstraram maiores níveis de adiponectina em pacientes classificados como Child-Pugh B e C, em relação aos Child-Pugh A (264, 357). Alguns mecanismos foram propostos para explicar a elevação nos níveis de adiponectina na cirrose, como o desequilíbrio entre a produção de adiponectina pelos adipócitos e o metabolismo hepático (357), mecanismos anti-inflamatórios (267) e a redução na excreção biliar (257).

O papel do aumento dos ácidos biliares com a progressão da fibrose na elevação dos níveis de adiponectina também tem sido estudado, principalmente em pacientes com NASH. Nesta doença, a elevação dos níveis de adiponectina em pacientes com quadro avançado está associada de forma significativa à redução do conteúdo de gordura hepática, independentemente de fatores metabólicos ou da disfunção hepática. Estes efeitos são provavelmente responsáveis pelo fenômeno conhecido como “*burnt-out* NASH”, caracterizado pelo desaparecimento da esteatose com a progressão para cirrose (260). Esta “comunicação” entre hepatócito e adipócito mediada pelos ácidos biliares, que estão elevados nas doenças hepáticas avançadas (260, 359) foi corroborada por um experimento realizado no mesmo estudo, no qual, ao serem tratados com agonistas dos receptores dos ácidos biliares (Fexamina e ácido taurolitólico), adipócitos diferenciados 3T3-L1 apresentaram um aumento da secreção de adiponectina superior a 10 vezes (260).

Na análise de correlação de Spearman, níveis de adiponectina correlacionaram-se positivamente com HDL-colesterol e negativamente com triglicerídeos, glicemia, HOMA-IR e IMC. A adiponectina é considerada um modulador do metabolismo da glicose e lipídeos, com propriedades antiaterogênicas, antidiabéticas e anti-inflamatórias e tem importante papel na regulação da sensibilidade à insulina e da resposta inflamatória, atuando como um importante mediador na patogênese das doenças metabólicas (183, 184). Estudos prévios em não cirróticos encontraram resultados semelhantes aos descritos aqui (360, 361).

Em pacientes não cirróticos, a secreção de adiponectina é inversamente relacionada ao IMC (191), e a associação inversa entre adiponectina e resistência à insulina é bem conhecida. Os níveis plasmáticos correlacionam-se negativamente com a adiposidade, RI e síndrome metabólica e positivamente com sensibilidade à insulina (360).

No presente estudo, adiponectina correlacionou-se inversamente com IMC e HOMA-IR. Esses achados contradizem a maioria dos estudos que indicam que o aumento dos níveis de adiponectina na cirrose ocorre independentemente da composição corporal e de parâmetros metabólicos, incluindo HOMA-IR (257, 261, 264, 357), embora alguns estudos demonstrem essa associação (268). Em pacientes com doença hepática crônica, uma redução da sensibilidade à insulina em paralelo com a progressão da doença já foi descrita (362), e provavelmente é resultado de hiperinsulinemia crônica decorrente da diminuição da extração hepática, secreção de insulina aumentada, aumento da sensibilidade das células beta à glicose e presença de shunts portossistêmicos (362, 363). A associação entre altos níveis de adiponectina e baixos níveis de glicemia e HOMA-IR podem indicar um papel de resistência à insulina como determinante da adiponectinemia em cirróticos, pelo menos naqueles com doença menos avançada.

A relação inversa entre adiponectina e triglicerídeos já foi demonstrada em outros estudos (251, 265, 266), bem como a correlação positiva com HDL-colesterol (251, 253). A adiponectina pode reduzir o acúmulo de triglicerídeos e concentrações de ácidos graxos no músculo esquelético através da oxidação de ácidos graxos pela ativação da oxidase acetilcoenzima A, carnitina palmitoiltransferase-1 e AMPK. A adiponectina também pode estimular indiretamente a lipoproteína lipase (364), a enzima que cataboliza a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), aumentando a expressão no PPAR- α no fígado e adipócitos (181). Também desempenha um papel no catabolismo da apolipoproteína B VLDL, que é independente da resistência à insulina (181, 364, 365), sugerindo que níveis reduzidos de adiponectina podem desempenhar um papel na hiperlipidemia (336).

No entanto, a maioria dos estudos em cirróticos não relacionou o aumento dos níveis de adiponectina com parâmetros metabólicos e antropométricos (257, 261, 264, 275, 357). Possíveis explicações para essas discrepâncias incluem o pequeno número de pacientes incluídos na maioria dos estudos e a inclusão, no geral, de pacientes com doença menos avançada no presente estudo.

De fato, a gravidade da doença hepática parece influenciar a adiponectina circulante nos cirróticos, uma vez que além das variáveis mencionadas anteriormente, níveis de adiponectina se correlacionaram negativamente com albumina e positivamente com a bilirrubina total, além de estarem mais elevados nos pacientes Child-Pugh B/C em relação aos Child-Pugh A e naqueles com MELD > 10. Séries anteriores

relataram resultados semelhantes com maiores níveis de adiponectina em pacientes classificados como Child-Pugh B e C, em relação aos Child-Pugh A (264, 357). No entanto, um estudo que avaliou 70 portadores de cirrose não encontrou relação entre adiponectinemia e classificação de Child-Pugh (261). O escore MELD tem sido amplamente validado e utilizado para determinar a gravidade e o prognóstico dos pacientes com doenças hepáticas em diversas situações clínicas, incluindo decisões sobre intervenções terapêuticas (22). Estudos anteriores também demonstraram a correlação positiva entre medianas de adiponectina e MELD (275).

Além disso, no presente estudo, menores níveis de adiponectina foram observados em pacientes portadores de doença hepática alcoólica. A exposição crônica ao etanol está associada à inibição direta da expressão do gene da adiponectina e sua secreção nos adipócitos (213, 243, 366), o que altera o metabolismo lipídico mediado por reguladores como SIRT1, AMPK, PPAR- γ , PPAR- α e SREBP-1, levando ao excessivo acúmulo de gordura no fígado (367). Essa desregulação da adiponectina e de seus receptores mediada pelo etanol provavelmente representa um mecanismo crucial para o desenvolvimento da doença hepática gordurosa alcoólica (367).

A resistina por sua vez, também apresentou níveis mais elevados nos portadores de doença hepática avançada, assim como já foi descrito em outros estudos (157, 347, 348). A resistina está envolvida na indução da resposta inflamatória e é provável que os níveis mais elevados na cirrose reflitam meramente o estado inflamatório crônico observado nesses pacientes, seja pela doença de base, seja pelas alterações imunes próprias da doença hepática avançada (151, 368, 369).

Neste estudo, os níveis de resistina se correlacionaram positivamente com a creatinina e PCR, e negativamente com glicemia, HDL-colesterol, AST, ALT e GGT. Além do importante papel da resistina como mediador inflamatório (151, 368), essa adipocina também tem seus níveis elevados em doenças que cursam com inflamação hepática crônica como a hepatite C e a NASH (346, 370, 371). O papel da resistina na resposta inflamatória como uma citocina pró-inflamatória também já foi demonstrado, o que explica muitos dos efeitos metabólicos associados aos altos níveis de resistina induzindo RI e/ou progressão da aterosclerose (323, 324, 328). Portanto, alguns estudos sugerem que a resistina é um potencial biomarcador e mediador de doenças cardiovasculares (325) e parece ser o elo entre a inflamação e RI (327). Esses estudos justificam a correlação observada entre

resistina e a PCR, bem como com os marcadores de dano hepático em andamento. Apesar da correlação negativa com aminotransferases e GGT detectada neste estudo, nenhuma correlação com aminotransferases foi observada em outros estudos (275, 347).

A correlação inversa entre resistina e taxa de filtração glomerular (TFG) independente de HOMA-IR já foi demonstrada em vários estudos em pacientes com doença renal crônica (315, 372), sugerindo que a resistina desempenha um papel na modulação da função renal (373). Isso se deve não só pela redução do clearance renal (374) mas por estímulo direto na expressão de citocinas pró-inflamatórias como TNF-alfa e IL-6 (375) e aumento na expressão das moléculas de adesão celular vascular (VCAM) e genes da molécula 1 de adesão intracelular nas células endoteliais vasculares e da proteína 1 de quimioatração dos monócitos plasmáticos (376). Níveis elevados de resistina já foram considerados preditores significativos de mortalidade em não diabéticos com doença renal crônica (377).

A resistina parece desempenhar papel importante na regulação da homeostase da glicose e adipogênese (211, 293), consequentemente influenciando no desenvolvimento de resistência insulínica, diabetes *mellitus* tipo 2 bem como disfunção endotelial, trombose e angiogênese (286, 294, 295). A relação inversa entre resistina e HDL-colesterol foi demonstrada em estudos anteriores (296, 328, 329). Interessantemente, o papel da resistina no metabolismo lipídico hepático pode ser um mecanismo independente adicional para compreender as relatadas associações entre resistina, síndrome metabólica e doença cardiovascular (296, 297). A resistina tem um impacto deletério direto na regulação de lipoproteínas e lipídios hepáticos. Ela aumenta significativamente a apolipoproteína B VLDL dos hepatócitos e a secreção lipídica devido à ativação da proteína de transferência de triglicerídeo microsomal e a indução de resistência à insulina hepatocitária (296). O aumento dos lipídios celulares hepáticos mediados pela resistina reflete na esteatose observada em pessoas com resistina elevada. Assim, a resistina humana é um novo alvo terapêutico para mitigar os processos fisiopatológicos hepáticos comuns associados à obesidade, dislipidemia e aterosclerose (296).

Apesar dos níveis elevados de resistina nos pacientes com cirrose incluídos neste estudo, não foram observadas diferenças em relação à etiologia e à classificação de Child-Pugh e MELD. Esses resultados contrastam com outros estudos nos quais os níveis de resistina estavam significativamente elevados na cirrose (157) e foram

relacionados com o grau de severidade da fibrose, incluindo os escores MELD e Child-Pugh (348), sendo maiores nos Child-Pugh C (157) ou B/C (275, 347, 348). Maiores níveis de resistina também foram relatados na cirrose de etiologia alcoólica e biliar quando comparado às hepatites crônicas (157), embora o estudo de Kakizaki *et al.* não tenha demonstrado diferenças entre as etiologias (347). Entretanto, um estudo em pacientes com cirrose de etiologia alcoólica também não demonstrou relação da dosagem de resistina com a severidade da doença hepática (275). É provável que essas diferenças entre os resultados aqui apresentados e os dados da literatura se devam a menor proporção de pacientes com doença hepática mais grave incluídos no presente estudo e também a variações na etiologia da cirrose.

Níveis elevados de resistina já foram associados a complicações clínicas como hipertensão portal e aumento da mortalidade, com potencial uso como biomarcador do curso clínico da cirrose (348). Neste estudo, foram observados maiores medianas de resistina em pacientes com antecedentes de encefalopatia hepática, além de tendência a maiores níveis nos indivíduos com relato de descompensações anteriores. Esses achados estão de acordo com estudo anterior que demonstrou impacto significativo de descompensações anteriores da cirrose sobre os níveis de resistina (348).

Durante o seguimento, foi observada uma significativa elevação nos níveis de adiponectina nos pacientes cirróticos não submetidos a transplante, numericamente mais expressiva nos pacientes Child-Pugh B/C. Não foram encontrados estudos prévios com medidas seriadas de adiponectina em cirróticos de diversas etiologias. É provável que a elevação dos níveis desta adipocina reflita a piora progressiva da função hepática, uma vez que os níveis basais se associaram a variáveis relacionadas à gravidade da doença. De forma interessante, houve redução nos níveis de adiponectina após o transplante em seis de oito pacientes submetidos ao procedimento durante o período de estudo. Esses dados estão de acordo com um estudo que avaliou níveis de adiponectina pré e pós-transplante hepático em 77 indivíduos, mostrando redução rápida desta adipocina logo após o transplante (378). Quando avaliados em conjunto, esses resultados reforçam o impacto da cirrose sobre os níveis circulantes de adiponectina.

Não foi observada relação entre os níveis séricos de adiponectina e a sobrevida livre de transplante quando o grupo foi avaliado como um todo. No entanto, quando avaliados apenas pacientes com doença hepática alcoólica, níveis mais elevados de adiponectina se associaram à

menor sobrevida livre de transplante. Maiores níveis de adiponectina também foram relacionados à menor sobrevida em outros dois estudos, em pacientes com carcinoma hepatocelular e em pacientes com cirrose de etiologia alcoólica (273-275). Esses achados sugerem uma associação entre adiponectina e prognóstico na cirrose, ainda que alguns fatores, especialmente a doença de base, pareçam influenciar nessa relação.

Os níveis de resistina não foram associados à sobrevida em cirróticos, mesmo quando foram consideradas subanálises de acordo com a etiologia da cirrose. Esses resultados contrastam com os observados por Yagmur *et al.*, onde níveis de resistina significativamente mais elevados foram observados nos pacientes que evoluíram para óbito (348). No entanto, esta associação não foi observada em um estudo mais recente que incluiu exclusivamente portadores de cirrose alcoólica (275). É importante observar que o estudo de Yagmur *et al.* incluiu uma proporção maior de indivíduos com doença hepática de etiologia autoimune ou biliar e com tempo de acompanhamento bem superior ao presente estudo (348).

O presente estudo teve também como objetivo o estudo dos fatores associados à HbA1c em cirróticos e seu significado prognóstico. Para esta avaliação, além dos critérios aplicados para avaliação das adipocinas descritas acima, foram excluídos os pacientes em uso de medicações antidiabéticas. Os valores de HbA1c do grupo de pacientes incluídos foram significativamente maiores do que os observados no grupo controle. Entretanto, diversos estudos tem demonstrado menores níveis de HbA1c em indivíduos não diabéticos portadores de cirrose quando comparados a controles (145, 146) e pacientes com hepatite crônica (145), sugerindo que a HbA1c é subestimada nos cirróticos (146). Esta discrepância se deve provavelmente ao fato de que neste estudo os pacientes foram incluídos consecutivamente, sendo utilizado como critério de exclusão apenas os pacientes em uso de hipoglicemiantes orais ou insulina, e DM não foi investigado adequadamente para que os pacientes fossem excluídos. Deste modo, alguns pacientes diabéticos foram inseridos no estudo, já que em estágios iniciais a glicemia de jejum pode ser normal em 23% dos pacientes cirróticos com diabetes (51). Ainda que os níveis de HbA1c estejam habitualmente subestimados nos cirróticos (43, 145), em um grupo de pacientes com doença hepática relativamente compensada como o estudado aqui, espera-se alguma elevação nos valores de HbA1c nos diabéticos, justificando os resultados mais elevados em relação ao grupo controle. O teste de tolerância oral à glicose, atualmente

recomendado para o diagnóstico de DM nas situações onde os resultados de HbA1c não são confiáveis (67, 112, 113, 144), não foi considerado requisito para inclusão na avaliação inicial. Ainda que esta seja uma limitação na interpretação dos resultados, do ponto de vista prático, o exame de TOTG não está habitualmente disponível numa avaliação inicial para a maioria dos pacientes. Isso justifica a investigação da HbA1c com base apenas na informação clínica sobre o uso de medicações antidiabéticas.

Em pacientes não diabéticos saudáveis a variação da HbA1c é mínima (379, 380) e é influenciada apenas por fatores de risco para diabetes como história familiar e elevado peso ao nascer (380, 381) e há pobre correlação entre HbA1c e glicemia de jejum (382) pelo fato de que a HbA1c mensura a média das glicemias, tendo melhor correlação com glicemia pós-prandial (383, 384), ao contrário dos pacientes diabéticos na qual as flutuações de HbA1c são consideradas patológicas, pelas mudanças na glicemia média (379).

Apesar de a HbA1c ser padrão ouro para diagnóstico e controle glicêmico a longo prazo nos pacientes com DM (113), ela não reflete flutuações da glicose como alterações glicêmicas de curto prazo, nem hiperglicemia pós-prandial e de jejum separadamente (385) e não é um bom preditor de episódios hipoglicêmicos (386). Portanto, é importante levar em consideração os efeitos da variabilidade glicêmica (VG), caracterizada pelas oscilações nos níveis de glicose sanguínea que ocorrem durante o dia, incluindo períodos de hipoglicemia e aumentos pós-prandiais, bem como as flutuações que ocorrem em diferentes momentos em dias distintos (387). A VG é um fenômeno fisiológico que assume importante dimensão na presença de DM porque não contribui somente para o aumento dos valores de glicemia, mas favorece o desenvolvimento de complicações crônicas do DM (387), já que as oscilações da glicose exibem um efeito desencadeante mais específico sobre o estresse oxidativo do que a hiperglicemia crônica sustentada (388) e podem ser mais deletérias do que a hiperglicemia constante na função endotelial e estresse oxidativo (389), sendo este mecanismo a chave principal para o desenvolvimento das complicações microvasculares do DM (390).

O DCCT também leva em consideração as variações biológicas individuais já observadas em diabéticos e não diabéticos tais como fatores que influenciam a entrada de glicose na membrana ou a ligação da glicose à hemoglobina, interferindo no acúmulo intracelular de

HbA1c ou diferenças individuais enzimáticas que facilitam a glicação da hemoglobina, sob controle genético (391).

Em pacientes com DHENA, a secreção de insulina, HOMA-IR e variabilidade glicêmica aumentam com a progressão da fibrose, sendo a variabilidade glicêmica considerada um preditor de progressão da fibrose (392). Não foram encontrados na literatura estudos específicos sobre a variabilidade glicêmica na cirrose, mas é provável que as alterações metabólicas, incluindo a hiperinsulinemia que ocorre na cirrose, leve à maior variabilidade glicêmica diária nestes pacientes. Esse fator poderia impactar os níveis de HbA1c e justificar, ao menos em parte, as limitações deste parâmetro nos cirróticos.

Os níveis mais elevados de HbA1c nos etilistas, atuais ou prévios, e nas hepatopatias de etiologia alcoólica encontrados neste estudo já foram demonstrados em outros estudos que observaram níveis de hemoglobina A1 maiores nos pacientes alcoolistas do que nos saudáveis (133, 393) devido a uma reação não enzimática reversível do acetaldeído, um metabólito do etanol, com a hemoglobina A1 humana, proporcional à quantidade de acetaldeído, que ocorre em bebedores moderados de álcool, aumentando os níveis de hemoglobina A (394-396).

Níveis reduzidos de HbA1c foram associados de forma independente à menor sobrevida livre de transplante em pacientes cirróticos. Apesar de alguns estudos demonstrarem a associação de HbA1c elevada com aumento da morbidade e mortalidade (397, 398) em não diabéticos, recentemente têm se dado importância ao significado prognóstico de baixos níveis de HbA1c (399). Num estudo populacional nos Estados Unidos com 12.533 participantes não diabéticos, níveis de HbA1c < 4% foram associados com elevação de transaminases. Outros estudos demonstraram que os níveis baixos de HbA1c estão associados com aumento na mortalidade por todas as causas em adultos sem diabetes (399, 400) e com diabetes (401).

Ainda não está claro o processo biológico que interliga a associação entre baixos níveis de HbA1c e mortalidade por todas as causas (399). Certas condições que reduzem a meia-vida dos eritrócitos (como anemia por deficiência de ferro) são conhecidas por alterar a HbA1c, entretanto, outros fatores são pouco compreendidos (399). Valores muito baixos de HbA1c em pessoas sem diabetes podem não refletir o controle metabólico mas outros fatores biológicos como marcadores de células vermelhas, inflamação ou função hepática (399). Mecanismos hipotetizados sugerem que os baixos valores de HbA1c

associados à função hepática anormal e aumento de mortalidade estão relacionados a consumo de álcool, processo de renovação de eritrócitos alterado (anemia, sobrecarga de ferro) (402, 403), hepatites virais e glicemia anormalmente baixa (404). Entretanto, nenhuma associação entre níveis de glicemia em jejum e doença hepática foi demonstrada, sugerindo que a associação com baixos níveis de HbA1c pode ser independente das vias glicêmicas (404).

Em portadores de cirrose, DM foi associado com um aumento significativo da incidência de descompensações como peritonite bacteriana espontânea e encefalopatia hepática (405, 406), de mortalidade (57, 407) e de carcinoma hepatocelular (407, 408). Desta forma, DM é rotineiramente investigado nos portadores de doenças hepáticas e muitos protocolos mantém a aferição da HbA1c como teste de escolha, mesmo em situações de doença hepática avançada e avaliações pré-transplante hepático. Os resultados do presente estudo mostram que, ao contrário do conhecimento difundido, resultados de HbA1c normais ou baixos não necessariamente indicam uma melhor situação clínica e podem estar associados a maior mortalidade.

No presente estudo, quando os níveis de HbA1c foram associados ao escore MELD foi possível identificar três categorias de risco de acordo com a presença de um ou dois fatores de mau prognóstico. Não foram encontrados na literatura estudos relacionando HbA1c e mortalidade na cirrose. No entanto, a classificação de Child-Pugh e o escore MELD são amplamente utilizados como modelos prognósticos (21, 22, 409, 410). Ainda assim, o escore MELD possui limitações principalmente pela interferência de fatores não relacionados à gravidade da doença hepática sobre os parâmetros incluídos na sua análise (411). Desta forma, a utilização de marcadores prognósticos adicionais que possam melhorar o desempenho do escore MELD possui importante impacto clínico.

Algumas limitações do estudo merecem ser discutidas. Em primeiro lugar, o pequeno número de pacientes classificados como Child-Pugh C pode limitar a capacidade de extrapolação dos resultados. Entretanto, os pacientes incluídos provavelmente refletem bem as características dos cirróticos em acompanhamento ambulatorial, que são, na sua maioria, Child-Pugh A e B. Outros fatores limitantes foram o tempo relativamente curto de seguimento, a dosagem apenas da adiponectina total, o que não nos permitiu identificar os padrões e fatores associados às demais isoformas desta adipocina (trimérica, hexamérica e multimérica) na cirrose. Em relação aos objetivos

envolvendo HbA1c, a não exclusão sistemática de portadores de diabetes com a realização de TOTG pode ser considerado um limitante para compreensão do real impacto da gravidade da doença sobre os níveis de HbA1c, de modo que pacientes diabéticos sem diagnóstico com HbA1c normal podem ter sido incluídos como não diabéticos na avaliação inicial. Entretanto, do ponto de vista clínico, esses resultados avaliados de forma menos restritiva permitem uma melhor extrapolação para a prática diária.

7 CONCLUSÕES

Em pacientes portadores de cirrose estável em acompanhamento ambulatorial, os níveis de adiponectina, mas não os de resistina, se associaram à intensidade da disfunção hepática. As concentrações de adiponectina na avaliação inicial foram associadas à pior prognóstico em pacientes com doença hepática alcoólica, sugerindo potencial como biomarcador prognóstico.

Em pacientes cirróticos sem história de uso de medicação antidiabética, níveis reduzidos de HbA1c foram relacionados à doença hepática mais avançada e se associaram de forma independente à menor sobrevida livre de transplante e a combinação deste parâmetro com o MELD parece melhorar sua capacidade prognóstica.

Esses achados sugerem que os resultados de HbA1c devem ser interpretados com cautela em portadores de cirrose e níveis normais ou baixos podem ser induzidos por fatores relacionados à gravidade da cirrose, não indicando necessariamente bom controle glicêmico ou prognóstico favorável.

Essa complexa relação entre adipocinas, diabetes e doenças do fígado ainda representa um importante desafio para aqueles que se propõe a estudar as doenças do fígado, visto que parece haver uma relação causal entre elas e não somente uma associação.

REFERÊNCIAS

1. Mokdad AA, Lopez AD, Shahrzaz S, Lozano R, Mokdad AH, Stanaway J, et al. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med.* 2014;12:145.
2. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2014;383(9930):1749-61.
3. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Journal of hepatology.* 2013;58(3):593-608.
4. Fleming KM, Aithal GP, Solaymani-Dodaran M, Card TR, West J. Incidence and prevalence of cirrhosis in the United Kingdom, 1992-2001: a general population-based study. *Journal of hepatology.* 2008;49(5):732-8.
5. Scaglione S, Kliethermes S, Cao G, Shoham D, Durazo R, Luke A, et al. The Epidemiology of Cirrhosis in the United States: A Population-based Study. *Journal of clinical gastroenterology.* 2015;49(8):690-6.
6. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *Journal of hepatology.* 2006;44(1):217-31.
7. Heron M. Deaths: leading causes for 2009. *Natl Vital Stat Rep.* 2012;61(7):1-94.
8. Mortality GBD, Causes of Death C. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2016;388(10053):1459-544.
9. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009;49(4):1335-74.
10. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology.* 2009;50(3):661-2.
11. Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology.* 2006;44(3):521-6.
12. Lefton HB, Rosa A, Cohen M. Diagnosis and epidemiology of cirrhosis. *The Medical clinics of North America.* 2009;93(4):787-99, vii.
13. Schwartz JM, Reinus JF. Prevalence and natural history of alcoholic liver disease. *Clinics in liver disease.* 2012;16(4):659-66.

14. Pinzani M, Rosselli M, Zuckermann M. Liver cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2011;25(2):281-90.
15. ER. P. Cirrose Hepática. In: *Conduitas em Gastroenterologia.* Federação Brasileira de Gastroenterologia. 2004;Revinter; RJ: 2004: 542-546.
16. Durand F, Valla D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Seminars in liver disease.* 2008;28(1):110-22.
17. Carvalho EM IM, Lima PA, Machado CS, Biagini AP, Massarollo PCB. . Força muscular e mortalidade na lista de espera de transplante de fígado. *Rev Bras Fisioter.* 2008;12(3):235-40.
18. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2008;371(9615):838-51.
19. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *The British journal of surgery.* 1973;60(8):646-9.
20. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology.* 2001;33(2):464-70.
21. Bambha K, Kim WR, Kremers WK, Therneau TM, Kamath PS, Wiesner R, et al. Predicting survival among patients listed for liver transplantation: an assessment of serial MELD measurements. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2004;4(11):1798-804.
22. Al Sibae MR, Cappell MS. Accuracy of MELD scores in predicting mortality in decompensated cirrhosis from variceal bleeding, hepatorenal syndrome, alcoholic hepatitis, or acute liver failure as well as mortality after non-transplant surgery or TIPS. *Digestive diseases and sciences.* 2011;56(4):977-87.
23. Cholongitas E, Marelli L, Kerry A, Senzolo M, Goodier DW, Nair D, et al. Different methods of creatinine measurement significantly affect MELD scores. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 2007;13(4):523-9.
24. Juakiem W, Torres DM, Harrison SA. Nutrition in cirrhosis and chronic liver disease. *Clin Liver Dis.* 2014;18(1):179-90.
25. Figueiredo FA, De Mello Perez R, Kondo M. Effect of liver cirrhosis on body composition: evidence of significant depletion even in mild disease. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 2005;20(2):209-16.

26. DiSpirito JR, Mathis D. Immunological contributions to adipose tissue homeostasis. *Semin Immunol.* 2015;27(5):315-21.
27. Kumar KV, Pawah AK, Manrai M. Occult endocrine dysfunction in patients with cirrhosis of liver. *J Family Med Prim Care.* 2016;5(3):576-80.
28. Maheshwari A, Thuluvath PJ. Endocrine diseases and the liver. *Clinics in liver disease.* 2011;15(1):55-67.
29. Handelsman DJ, Strasser S, McDonald JA, Conway AJ, McCaughan GW. Hypothalamic-pituitary-testicular function in end-stage non-alcoholic liver disease before and after liver transplantation. *Clinical endocrinology.* 1995;43(3):331-7.
30. Saarinen S, Olerup O, Broome U. Increased frequency of autoimmune diseases in patients with primary sclerosing cholangitis. *The American journal of gastroenterology.* 2000;95(11):3195-9.
31. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Ferrari SM, Ghinoi A, Rotondi M, et al. Thyroid disorders in chronic hepatitis C virus infection. *Thyroid.* 2006;16(6):563-72.
32. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *The New England journal of medicine.* 1996;334(14):897-903.
33. Silveira MG, Mendes FD, Diehl NN, Enders FT, Lindor KD. Thyroid dysfunction in primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis and non-alcoholic fatty liver disease. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver.* 2009;29(7):1094-100.
34. Umpierrez GE. Euthyroid sick syndrome. *South Med J.* 2002;95(5):506-13.
35. Burra P, Franklyn JA, Ramsden DB, Elias E, Sheppard MC. Severity of alcoholic liver disease and markers of thyroid and steroid status. *Postgrad Med J.* 1992;68(804):804-10.
36. Karagiannis A, Harsoulis F. Gonadal dysfunction in systemic diseases. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies.* 2005;152(4):501-13.
37. 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(3):680-8.
38. George J, Ganesh HK, Acharya S, Bandgar TR, Shivane V, Karvat A, et al. Bone mineral density and disorders of mineral metabolism in chronic liver disease. *World journal of gastroenterology : WJG.* 2009;15(28):3516-22.

39. Leslie WD, Bernstein CN, Leboff MS, American Gastroenterological Association Clinical Practice C. AGA technical review on osteoporosis in hepatic disorders. *Gastroenterology*. 2003;125(3):941-66.
40. Karoli Y, Karoli R, Fatima J, Manhar M. Study of Hepatic Osteodystrophy in Patients with Chronic Liver Disease. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(8):OC31-4.
41. O'Beirne J, Holmes M, Agarwal B, Bouloux P, Shaw S, Patch D, et al. Adrenal insufficiency in liver disease - what is the evidence? *Journal of hepatology*. 2007;47(3):418-23.
42. Collaboration NCDRF. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet*. 2016;387(10027):1513-30.
43. Lahousen T, Hegenbarth K, Ille R, Lipp RW, Krause R, Little RR, et al. Determination of glycated hemoglobin in patients with advanced liver disease. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2004;10(15):2284-6.
44. Megyesi C, Samols E, Marks V. Glucose tolerance and diabetes in chronic liver disease. *Lancet*. 1967;2(7525):1051-6.
45. Orsi E, Grancini V, Menini S, Aghemo A, Pugliese G. Hepatogenous diabetes: Is it time to separate it from type 2 diabetes? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2016.
46. Bohan EM. Diabetes mellitus and cirrhosis of the liver; a case report. *Del Med J*. 1947;19(11):212-5.
47. Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, Tan MH. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes care*. 2007;30(3):734-43.
48. Shetty A, Wilson S, Kuo P, Laurin JL, Howell CD, Johnson L, et al. Liver transplantation improves cirrhosis-associated impaired oral glucose tolerance. *Transplantation*. 2000;69(11):2451-4.
49. Holstein A, Hinze S, Thiessen E, Plaschke A, Egberts EH. Clinical implications of hepatogenous diabetes in liver cirrhosis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2002;17(6):677-81.
50. Garcia-Compean D, Jaquez-Quintana JO, Gonzalez-Gonzalez JA, Maldonado-Garza H. Liver cirrhosis and diabetes: risk factors, pathophysiology, clinical implications and management. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2009;15(3):280-8.
51. Nishida T, Tsuji S, Tsujii M, Arimitsu S, Haruna Y, Imano E, et al. Oral glucose tolerance test predicts prognosis of patients with liver cirrhosis. *The American journal of gastroenterology*. 2006;101(1):70-5.

52. Bianchi G, Marchesini G, Zoli M, Bugianesi E, Fabbri A, Pisi E. Prognostic significance of diabetes in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 1994;20(1 Pt 1):119-25.
53. Hickman IJ, Macdonald GA. Impact of diabetes on the severity of liver disease. *Am J Med*. 2007;120(10):829-34.
54. Wlazlo N, Beijers HJ, Schoon EJ, Sauerwein HP, Stehouwer CD, Bravenboer B. High prevalence of diabetes mellitus in patients with liver cirrhosis. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2010;27(11):1308-11.
55. Moreau R, Deleuge P, Pessione F, Hillaire S, Durand F, Lebrech D, et al. Clinical characteristics and outcome of patients with cirrhosis and refractory ascites. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2004;24(5):457-64.
56. Elkrief L, Chouinard P, Bendersky N, Hajage D, Larroque B, Babany G, et al. Diabetes mellitus is an independent prognostic factor for major liver-related outcomes in patients with cirrhosis and chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2014;60(3):823-31.
57. Quintana JO, Garcia-Compean D, Gonzalez JA, Perez JZ, Gonzalez FJ, Espinosa LE, et al. The impact of diabetes mellitus in mortality of patients with compensated liver cirrhosis-a prospective study. *Annals of hepatology*. 2011;10(1):56-62.
58. Berman K, Tandra S, Forssell K, Vuppalanchi R, Burton JR, Jr., Nguyen J, et al. Incidence and predictors of 30-day readmission among patients hospitalized for advanced liver disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2011;9(3):254-9.
59. de Marco R, Locatelli F, Zoppini G, Verlato G, Bonora E, Muggeo M. Cause-specific mortality in type 2 diabetes. The Verona Diabetes Study. *Diabetes care*. 1999;22(5):756-61.
60. Donadon V, Balbi M, Valent F, Avogaro A. Glycated hemoglobin and antidiabetic strategies as risk factors for hepatocellular carcinoma. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2010;16(24):3025-32.
61. Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, Byth K, Kench JG, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression [corrected]. *Gastroenterology*. 2003;125(6):1695-704.
62. White DL, Ratziu V, El-Serag HB. Hepatitis C infection and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology*. 2008;49(5):831-44.

63. Fartoux L, Poujol-Robert A, Guechot J, Wendum D, Poupon R, Serfaty L. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut*. 2005;54(7):1003-8.
64. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003;37(4):917-23.
65. Nkotchou G, Bastard JP, Ziou M, Aout M, Cosson E, Ganne-Carrie N, et al. Insulin resistance, serum leptin, and adiponectin levels and outcomes of viral hepatitis C cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2010;53(5):827-33.
66. Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Sakata M, Sumie S, Sata M. Insulin resistance and chronic liver disease. *World J Hepatol*. 2011;3(5):99-107.
67. Elkrief L, Rautou PE, Sarin S, Valla D, Paradis V, Moreau R. Diabetes mellitus in patients with cirrhosis: clinical implications and management. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2016;36(7):936-48.
68. de Meyts P, Roth J, Neville DM, Jr., Gavin JR, 3rd, Lesniak MA. Insulin interactions with its receptors: experimental evidence for negative cooperativity. *Biochemical and biophysical research communications*. 1973;55(1):154-61.
69. Gavin JR, 3rd, Roth J, Neville DM, Jr., de Meyts P, Buell DN. Insulin-dependent regulation of insulin receptor concentrations: a direct demonstration in cell culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1974;71(1):84-8.
70. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*. 2005;26(2):19-39.
71. Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Finch J, Chang Z, Kochunov VG, et al. Prevalence of prediabetes and diabetes and metabolic profile of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetes care*. 2012;35(4):873-8.
72. Fan JG, Li F, Cai XB, Peng YD, Ao QH, Gao Y. Effects of nonalcoholic fatty liver disease on the development of metabolic disorders. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2007;22(7):1086-91.
73. Armstrong MJ, Hazlehurst JM, Hull D, Guo K, Borrows S, Yu J, et al. Abdominal subcutaneous adipose tissue insulin resistance and lipolysis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2014;16(7):651-60.
74. Trauner M, Arrese M, Wagner M. Fatty liver and lipotoxicity. *Biochimica et biophysica acta*. 2010;1801(3):299-310.

75. Koliaki C, Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular and cellular endocrinology*. 2013;379(1-2):35-42.
76. Hodson DJ, Mitchell RK, Bellomo EA, Sun G, Vinet L, Meda P, et al. Lipotoxicity disrupts incretin-regulated human beta cell connectivity. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(10):4182-94.
77. Firneisz G, Varga T, Lengyel G, Feher J, Ghyczy D, Wichmann B, et al. Serum dipeptidyl peptidase-4 activity in insulin resistant patients with non-alcoholic fatty liver disease: a novel liver disease biomarker. *PloS one*. 2010;5(8):e12226.
78. Schafer SA, Tschritter O, Machicao F, Thamer C, Stefan N, Gallwitz B, et al. Impaired glucagon-like peptide-1-induced insulin secretion in carriers of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphisms. *Diabetologia*. 2007;50(12):2443-50.
79. Schafer SA, Mussig K, Staiger H, Machicao F, Stefan N, Gallwitz B, et al. A common genetic variant in WFS1 determines impaired glucagon-like peptide-1-induced insulin secretion. *Diabetologia*. 2009;52(6):1075-82.
80. Mussig K, Staiger H, Machicao F, Kirchhoff K, Guthoff M, Schafer SA, et al. Association of type 2 diabetes candidate polymorphisms in KCNQ1 with incretin and insulin secretion. *Diabetes*. 2009;58(7):1715-20.
81. Banks DE, Bogler Y, Bhuket T, Liu B, Wong RJ. Significant disparities in risks of diabetes mellitus and metabolic syndrome among chronic hepatitis C virus patients in the U.S. *Diabetes Metab Syndr*. 2016.
82. Huang JF, Yu ML, Dai CY, Hsieh MY, Hwang SJ, Hsiao PJ, et al. Reappraisal of the characteristics of glucose abnormalities in patients with chronic hepatitis C infection. *The American journal of gastroenterology*. 2008;103(8):1933-40.
83. Masini M, Campani D, Boggi U, Menicagli M, Funel N, Pollera M, et al. Hepatitis C virus infection and human pancreatic beta-cell dysfunction. *Diabetes care*. 2005;28(4):940-1.
84. Banerjee S, Saito K, Ait-Goughoulte M, Meyer K, Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus core protein upregulates serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and impairs the downstream akt/protein kinase B signaling pathway for insulin resistance. *Journal of virology*. 2008;82(6):2606-12.

85. Christen V, Treves S, Duong FH, Heim MH. Activation of endoplasmic reticulum stress response by hepatitis viruses up-regulates protein phosphatase 2A. *Hepatology*. 2007;46(2):558-65.
86. Gastaldi G, Goossens N, Clement S, Negro F. Current level of evidence on causal association between hepatitis C virus and type 2 diabetes: A review. *J Adv Res*. 2017;8(2):149-59.
87. Knobler H, Schattner A. TNF- α , chronic hepatitis C and diabetes: a novel triad. *QJM*. 2005;98(1):1-6.
88. Mitsuyoshi H, Itoh Y, Sumida Y, Minami M, Yasui K, Nakashima T, et al. Evidence of oxidative stress as a cofactor in the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2008;38(4):348-53.
89. Barton JC, Barton JC, Adams PC, Acton RT. Risk Factors for Insulin Resistance, Metabolic Syndrome, and Diabetes in 248 HFE C282Y Homozygotes Identified by Population Screening in the HEIRS Study. *Metab Syndr Relat Disord*. 2016;14(2):94-101.
90. O'Sullivan EP, McDermott JH, Murphy MS, Sen S, Walsh CH. Declining prevalence of diabetes mellitus in hereditary haemochromatosis--the result of earlier diagnosis. *Diabetes research and clinical practice*. 2008;81(3):316-20.
91. McClain DA, Abraham D, Rogers J, Brady R, Gault P, Ajioka R, et al. High prevalence of abnormal glucose homeostasis secondary to decreased insulin secretion in individuals with hereditary haemochromatosis. *Diabetologia*. 2006;49(7):1661-9.
92. Cooksey RC, Jouihan HA, Ajioka RS, Hazel MW, Jones DL, Kushner JP, et al. Oxidative stress, beta-cell apoptosis, and decreased insulin secretory capacity in mouse models of hemochromatosis. *Endocrinology*. 2004;145(11):5305-12.
93. Pelusi C, Gasparini DI, Bianchi N, Pasquali R. Endocrine dysfunction in hereditary hemochromatosis. *J Endocrinol Invest*. 2016;39(8):837-47.
94. Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology*. 1999;117(5):1155-63.
95. Barton JC, Barton JC, Acton RT. Diabetes in first-degree family members: a predictor of type 2 diabetes in 159 nonscreening Alabama hemochromatosis probands with HFE C282Y homozygosity. *Diabetes care*. 2014;37(1):259-66.
96. Tellez-Avila FI, Sanchez-Avila F, Garcia-Saenz-de-Sicilia M, Chavez-Tapia NC, Franco-Guzman AM, Lopez-Arce G, et al.

Prevalence of metabolic syndrome, obesity and diabetes type 2 in cryptogenic cirrhosis. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2008;14(30):4771-5.

97. Honda M, Asonuma K, Hayashida S, Suda H, Ohya Y, Lee KJ, et al. Incidence and risk factors for new-onset diabetes in living-donor liver transplant recipients. *Clinical transplantation*. 2013;27(3):426-35.

98. Lv C, Zhang Y, Chen X, Huang X, Xue M, Sun Q, et al. New-onset diabetes after liver transplantation and its impact on complications and patient survival. *J Diabetes*. 2015;7(6):881-90.

99. Ling Q, Xie H, Lu D, Wei X, Gao F, Zhou L, et al. Association between donor and recipient TCF7L2 gene polymorphisms and the risk of new-onset diabetes mellitus after liver transplantation in a Han Chinese population. *Journal of hepatology*. 2013;58(2):271-7.

100. Ling Q, Xu X, Wang B, Li L, Zheng S. The Origin of New-Onset Diabetes After Liver Transplantation: Liver, Islets, or Gut? *Transplantation*. 2016;100(4):808-13.

101. Gelley F, Zadori G, Firneisz G, Wagner L, Fehervari I, Gerlei Z, et al. Relationship between hepatitis C virus recurrence and de novo diabetes after liver transplantation: the Hungarian experience. *Transplantation proceedings*. 2011;43(4):1281-2.

102. Perseghin G, Mazzaferro V, Sereni LP, Regalia E, Benedini S, Bazzigaluppi E, et al. Contribution of reduced insulin sensitivity and secretion to the pathogenesis of hepatogenous diabetes: effect of liver transplantation. *Hepatology*. 2000;31(3):694-703.

103. Rostambeigi N, Lanza IR, Dzeja PP, Deeds MC, Irving BA, Reddi HV, et al. Unique cellular and mitochondrial defects mediate FK506-induced islet beta-cell dysfunction. *Transplantation*. 2011;91(6):615-23.

104. Chakkeri HA, Mandarino LJ. Calcineurin inhibition and new-onset diabetes mellitus after transplantation. *Transplantation*. 2013;95(5):647-52.

105. Hernandez-Fisac I, Pizarro-Delgado J, Calle C, Marques M, Sanchez A, Barrientos A, et al. Tacrolimus-induced diabetes in rats courses with suppressed insulin gene expression in pancreatic islets. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2007;7(11):2455-62.

106. Wu ZW, Ling ZX, Lu HF, Zuo J, Sheng JF, Zheng SS, et al. Changes of gut bacteria and immune parameters in liver transplant recipients. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2012;11(1):40-50.

107. Kumar R, Nandhini LP, Kamalanathan S, Sahoo J, Vivekanadan M. Evidence for current diagnostic criteria of diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2016;7(17):396-405.
108. WHO. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c_2011.pdf?ua=1. 2011.
109. Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1985;727:1-113.
110. Linters-Westra E, Schindhelm RK, Bilo HJ, Slingerland RJ. Haemoglobin A1c: Historical overview and current concepts. *Diabetes research and clinical practice*. 2013;99(2):75-84.
111. Standards of Medical Care in Diabetes-2016: Summary of Revisions. *Diabetes care*. 2016;39 Suppl 1:S4-5.
112. International Expert C. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. 2009;32(7):1327-34.
113. American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes care*. 2010;33 Suppl 1:S11-61.
114. WHO. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus 2011 [Available from: http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c_2011.pdf?ua=1].
115. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R, et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*. 2009;32(1):193-203.
116. Gillett MJ. International Expert Committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes: *Diabetes Care* 2009; 32(7): 1327-1334. *Clin Biochem Rev*. 2009;30(4):197-200.
117. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2011;34(6):e61-99.
118. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clinical chemistry*. 2011;57(6):e1-e47.
119. Puavilai G, Chanprasertyotin S, Sriphrapradaeng A. Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and

- Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. World Health Organization. Diabetes research and clinical practice. 1999;44(1):21-6.
120. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clinical chemistry*. 2002;48(3):436-72.
121. Ko GT, Chan JC, Woo J, Lau E, Yeung VT, Chow CC, et al. The reproducibility and usefulness of the oral glucose tolerance test in screening for diabetes and other cardiovascular risk factors. *Annals of clinical biochemistry*. 1998;35 (Pt 1):62-7.
122. Ashby HL, Gama RM, Sur H, Inglis J, Ford C, Gama R. Hypergonadotrophic hypogonadism due to testicular adrenal rest tumours presenting with hypogonadotrophic hypergonadism. *Annals of clinical biochemistry*. 2012;49(Pt 5):497-9.
123. Bunn HF, Haney DN, Kamin S, Gabbay KH, Gallop PM. The biosynthesis of human hemoglobin A1c. Slow glycosylation of hemoglobin in vivo. *J Clin Invest*. 1976;57(6):1652-9.
124. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet*. 1998;352(9131):837-53.
125. American Diabetes A. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2002;25(1):213-29.
126. Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta Haematol*. 2004;112(3):126-8.
127. Arnold JG, McGowan HJ. Delay in diagnosis of diabetes mellitus due to inaccurate use of hemoglobin A1C levels. *J Am Board Fam Med*. 2007;20(1):93-6.
128. Radin MS. Pitfalls in hemoglobin A1c measurement: when results may be misleading. *J Gen Intern Med*. 2014;29(2):388-94.
129. Wang X, Peesapati SK, Renedo MF, Moktan S. Hemoglobin A1c levels in non-diabetic patients with end-stage renal disease (ESRD) receiving hemodialysis. *Journal of endocrinological investigation*. 2004;27(8):733-5.
130. Falko JM, O'Dorisio TM, Cataland S. Spurious elevations in glycosylated hemoglobin (HbA1) secondary to hypertriglyceridemia. *Arch Intern Med*. 1982;142(7):1370-1.
131. Rastelli G, Gerra G, Mineo F, Ceresini G, Baroni MC, Caccavari R, et al. [Homeostasis of blood glucose and abuse of

exogenous opiates: evaluation of fructosamine and glycosylated hemoglobin]. *Minerva Med.* 1987;78(17):1291-6.

132. Homa K, Majkowska L. Difficulties in interpreting HbA(1c) results. *Pol Arch Med Wewn.* 2010;120(4):148-54.

133. Hoberman HD, Chiodo SM. Elevation of the hemoglobin A1 fraction in alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res.* 1982;6(2):260-6.

134. Hazelett SE, Liebelt RA, Brown WJ, Androulakakis V, Jarjoura D, Truitt EB, Jr. Evaluation of acetaldehyde-modified hemoglobin and other markers of chronic heavy alcohol use: effects of gender and hemoglobin concentration. *Alcohol Clin Exp Res.* 1998;22(8):1813-9.

135. Freedman BI, Shenoy RN, Planer JA, Clay KD, Shihabi ZK, Burkart JM, et al. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A1c concentrations in diabetic subjects on peritoneal and hemodialysis. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis.* 2010;30(1):72-9.

136. Joy MS, Cefalu WT, Hogan SL, Nachman PH. Long-term glycemic control measurements in diabetic patients receiving hemodialysis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation.* 2002;39(2):297-307.

137. Bernstein RE. Glycosylated hemoglobins: hematologic considerations determine which assay for glycohemoglobin is advisable. *Clinical chemistry.* 1980;26(1):174-5.

138. Starkman HS, Wacks M, Soeldner JS, Kim A. Effect of acute blood loss on glycosylated hemoglobin determinations in normal subjects. *Diabetes care.* 1983;6(3):291-4.

139. Lind T, Cheyne GA. Effect of normal pregnancy upon the glycosylated haemoglobins. *Br J Obstet Gynaecol.* 1979;86(3):210-3.

140. Hanson U, Hagenfeldt L, Hagenfeldt K. Glycosylated hemoglobins in normal pregnancy: sequential changes and relation to birth weight. *Obstetrics and gynecology.* 1983;62(6):741-4.

141. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre PJ. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. New prospect for prevention of diabetic complications? *Diabetes care.* 1991;14(1):68-72.

142. Gross BN, Cross LB, Foard JC, Wood YA. Falsely low hemoglobin A1c levels in a patient receiving ribavirin and peginterferon alfa-2b for hepatitis C. *Pharmacotherapy.* 2009;29(1):121-3.

143. Greenberg PD, Rosman AS, Eldeiry LS, Naqvi Z, Brau N. Decline in haemoglobin A1c values in diabetic patients receiving interferon-alpha and ribavirin for chronic hepatitis C. *Journal of viral hepatitis.* 2006;13(9):613-7.

144. Cacciatore L, Cozzolino G, Giardina MG, De Marco F, Sacca L, Esposito P, et al. Abnormalities of glucose metabolism induced by liver cirrhosis and glycosylated hemoglobin levels in chronic liver disease. *Diabetes Res.* 1988;7(4):185-8.
145. Nomura Y, Nanjo K, Miyano M, Kikuoka H, Kuriyama S, Maeda M, et al. Hemoglobin A1 in cirrhosis of the liver. *Diabetes Res.* 1989;11(4):177-80.
146. Trenti T, Cristani A, Cioni G, Pentore R, Mussini C, Ventura E. Fructosamine and glycated hemoglobin as indices of glycemic control in patients with liver cirrhosis. *Ric Clin Lab.* 1990;20(4):261-7.
147. Nadelson J, Satapathy SK, Nair S. Glycated Hemoglobin Levels in Patients with Decompensated Cirrhosis. *Int J Endocrinol.* 2016;2016:8390210.
148. Gonzalez-Casas R, Jones EA, Moreno-Otero R. Spectrum of anemia associated with chronic liver disease. *World journal of gastroenterology : WJG.* 2009;15(37):4653-8.
149. Morse EE. Mechanisms of hemolysis in liver disease. *Ann Clin Lab Sci.* 1990;20(3):169-74.
150. Subhiyah BW, al-Hindawi AY. Red cell survival and splenic accumulation of radiochromium in liver cirrhosis with splenomegaly. *Br J Haematol.* 1967;13(5):773-8.
151. Smitka K, Maresova D. Adipose Tissue as an Endocrine Organ: An Update on Pro-inflammatory and Anti-inflammatory Microenvironment. *Prague Med Rep.* 2015;116(2):87-111.
152. Fasshauer M, Bluher M. Adipokines in health and disease. *Trends in pharmacological sciences.* 2015;36(7):461-70.
153. Yalniz M, Bahcecioglu IH, Ataseven H, Ustundag B, Ilhan F, Poyrazoglu OK, et al. Serum adipokine and ghrelin levels in nonalcoholic steatohepatitis. *Mediators of inflammation.* 2006;2006(6):34295.
154. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology.* 1990;12(5):1106-10.
155. Naveau S, Giraud V, Borotto E, Aubert A, Capron F, Chaput JC. Excess weight risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology.* 1997;25(1):108-11.
156. Hourigan LF, Macdonald GA, Purdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston A, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology.* 1999;29(4):1215-9.

157. Bahr MJ, Ockenga J, Boker KH, Manns MP, Tietge UJ. Elevated resistin levels in cirrhosis are associated with the proinflammatory state and altered hepatic glucose metabolism but not with insulin resistance. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2006;291(2):E199-206.
158. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of biological chemistry*. 1995;270(45):26746-9.
159. Saito K, Tobe T, Minoshima S, Asakawa S, Sumiya J, Yoda M, et al. Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene*. 1999;229(1-2):67-73.
160. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochemical and biophysical research communications*. 1996;221(2):286-9.
161. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(18):10697-703.
162. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *Journal of biochemistry*. 1996;120(4):803-12.
163. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(4):2005-10.
164. Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB, et al. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(50):50810-7.
165. Neumeier M, Weigert J, Schaffler A, Wehrwein G, Muller-Ladner U, Scholmerich J, et al. Different effects of adiponectin isoforms in human monocytic cells. *Journal of leukocyte biology*. 2006;79(4):803-8.
166. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes care*. 2003;26(8):2442-50.

167. Tsao TS, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Lodish HF. Oligomerization state-dependent activation of NF-kappa B signaling pathway by adipocyte complement-related protein of 30 kDa (Acrp30). *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(33):29359-62.
168. Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, et al. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(13):12152-62.
169. Kusminski CM, McTernan PG, Schraw T, Kos K, O'Hare JP, Ahima R, et al. Adiponectin complexes in human cerebrospinal fluid: distinct complex distribution from serum. *Diabetologia*. 2007;50(3):634-42.
170. Halberg N, Schraw TD, Wang ZV, Kim JY, Yi J, Hamilton MP, et al. Systemic fate of the adipocyte-derived factor adiponectin. *Diabetes*. 2009;58(9):1961-70.
171. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003;423(6941):762-9.
172. Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao TS, Lodish HF. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(28):10308-13.
173. Swarbrick MM, Havel PJ. Physiological, pharmacological, and nutritional regulation of circulating adiponectin concentrations in humans. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008;6(2):87-102.
174. Fukuda S, Kita S, Obata Y, Fujishima Y, Nagao H, Masuda S, et al. The unique prodomain of T-cadherin plays a key role in adiponectin binding with the essential extracellular cadherin repeats 1 and 2. *The Journal of biological chemistry*. 2017;292(19):7840-9.
175. Mao X, Kikani CK, Riojas RA, Langlais P, Wang L, Ramos FJ, et al. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nature cell biology*. 2006;8(5):516-23.
176. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature medicine*. 2002;8(11):1288-95.
177. Cheng KK, Lam KS, Wang Y, Huang Y, Carling D, Wu D, et al. Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells. *Diabetes*. 2007;56(5):1387-94.

178. Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, et al. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell metabolism*. 2007;6(1):55-68.
179. Shibata R, Ouchi N, Ito M, Kihara S, Shiojima I, Pimentel DR, et al. Adiponectin-mediated modulation of hypertrophic signals in the heart. *Nature medicine*. 2004;10(12):1384-9.
180. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(7):1784-92.
181. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature medicine*. 2001;7(8):941-6.
182. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000;102(11):1296-301.
183. Lopez-Bermejo A, Botas P, Funahashi T, Delgado E, Kihara S, Ricart W, et al. Adiponectin, hepatocellular dysfunction and insulin sensitivity. *Clinical endocrinology*. 2004;60(2):256-63.
184. Tsao TS, Lodish HF, Fruebis J. ACRP30, a new hormone controlling fat and glucose metabolism. *European journal of pharmacology*. 2002;440(2-3):213-21.
185. Gavrilu A, Peng CK, Chan JL, Mietus JE, Goldberger AL, Mantzoros CS. Diurnal and ultradian dynamics of serum adiponectin in healthy men: comparison with leptin, circulating soluble leptin receptor, and cortisol patterns. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(6):2838-43.
186. Nilsson L, Binart N, Bohlooly YM, Bramnert M, Egecioglu E, Kindblom J, et al. Prolactin and growth hormone regulate adiponectin secretion and receptor expression in adipose tissue. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005;331(4):1120-6.
187. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H, et al. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*. 2002;51(9):2734-41.
188. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007;130(3):456-69.

189. Delporte ML, Funahashi T, Takahashi M, Matsuzawa Y, Brichard SM. Pre- and post-translational negative effect of beta-adrenoceptor agonists on adiponectin secretion: in vitro and in vivo studies. *The Biochemical journal*. 2002;367(Pt 3):677-85.
190. Fallo F, Scarda A, Sonino N, Paoletta A, Boscaro M, Pagano C, et al. Effect of glucocorticoids on adiponectin: a study in healthy subjects and in Cushing's syndrome. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2004;150(3):339-44.
191. Martinez EC FM, Anjos LA. Influencia do estado nutricional e do VO₂max nos níveis de adiponectina em homens acima de 35 anos. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2011;96(6):471-6.
192. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and biophysical research communications*. 1999;257(1):79-83.
193. Pannacciulli N, Vettor R, Milan G, Granzotto M, Catucci A, Federspil G, et al. Anorexia nervosa is characterized by increased adiponectin plasma levels and reduced nonoxidative glucose metabolism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(4):1748-52.
194. Mather KJ, Funahashi T, Matsuzawa Y, Edelstein S, Bray GA, Kahn SE, et al. Adiponectin, change in adiponectin, and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes*. 2008;57(4):980-6.
195. Ryo M, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M, et al. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2004;68(11):975-81.
196. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, et al. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(8):3815-9.
197. Moschen AR, Molnar C, Wolf AM, Weiss H, Graziadei I, Kaser S, et al. Effects of weight loss induced by bariatric surgery on hepatic adipocytokine expression. *Journal of hepatology*. 2009;51(4):765-77.
198. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(1):175-84.
199. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in

- adipose tissue. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(12):1796-808.
200. Tilg H, Hotamisligil GS. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology*. 2006;131(3):934-45.
201. Kamada Y, Takehara T, Hayashi N. Adipocytokines and liver disease. *Journal of gastroenterology*. 2008;43(11):811-22.
202. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(12):1752-61.
203. Matsuzawa Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS letters*. 2006;580(12):2917-21.
204. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2009;302(2):179-88.
205. Yang WS, Jeng CY, Wu TJ, Tanaka S, Funahashi T, Matsuzawa Y, et al. Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*. 2002;25(2):376-80.
206. Costa MC, Brito LL, Barbosa PJ, Lessa I. [Adiponectin and low cardiometabolic risk in obese women]. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2011;55(2):146-54.
207. Maahs DM, Ogden LG, Kinney GL, Wadwa P, Snell-Bergeon JK, Dabelea D, et al. Low plasma adiponectin levels predict progression of coronary artery calcification. *Circulation*. 2005;111(6):747-53.
208. Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y, Kumada M, Takahashi M, Matsuda M, et al. Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome. *Diabetes*. 2002;51(7):2325-8.
209. Prakash J, Mittal B, Awasthi S, Srivastava N. Association of adiponectin gene polymorphism with adiponectin levels and risk for insulin resistance syndrome. *Int J Prev Med*. 2015;6:31.
210. Gupta AC, Misra R, Sakhuja P, Singh Y, Basir SF, Sarin SK. Association of adiponectin gene functional polymorphisms (-11377C/G and +45T/G) with nonalcoholic fatty liver disease. *Gene*. 2012;496(1):63-7.
211. Silva TE, Colombo G, Schiavon LL. Adiponectin: A multitasking player in the field of liver diseases. *Diabetes & metabolism*. 2014;40(2):95-107.

212. Moschen AR, Wieser V, Tilg H. Adiponectin: key player in the adipose tissue-liver crosstalk. *Current medicinal chemistry*. 2012;19(32):5467-73.
213. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(1):91-100.
214. Kamada Y, Tamura S, Kiso S, Matsumoto H, Saji Y, Yoshida Y, et al. Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterology*. 2003;125(6):1796-807.
215. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*. 2001;103(8):1057-63.
216. Awazawa M, Ueki K, Inabe K, Yamauchi T, Kaneko K, Okazaki Y, et al. Adiponectin suppresses hepatic SREBP1c expression in an AdipoR1/LKB1/AMPK dependent pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2009;382(1):51-6.
217. Masaki T, Chiba S, Tatsukawa H, Yasuda T, Noguchi H, Seike M, et al. Adiponectin protects LPS-induced liver injury through modulation of TNF-alpha in KK-Ay obese mice. *Hepatology*. 2004;40(1):177-84.
218. Matsumoto H, Tamura S, Kamada Y, Kiso S, Fukushima J, Wada A, et al. Adiponectin deficiency exacerbates lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced liver injury in mice. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2006;12(21):3352-8.
219. Wolf AM, Wolf D, Avila MA, Moschen AR, Berasain C, Enrich B, et al. Up-regulation of the anti-inflammatory adipokine adiponectin in acute liver failure in mice. *Journal of hepatology*. 2006;44(3):537-43.
220. Mandal P, Park PH, McMullen MR, Pratt BT, Nagy LE. The anti-inflammatory effects of adiponectin are mediated via a heme oxygenase-1-dependent pathway in rat Kupffer cells. *Hepatology*. 2010;51(4):1420-9.
221. Nepal S, Kim MJ, Subedi A, Lee ES, Yong CS, Kim JA, et al. Globular adiponectin inhibits ethanol-induced apoptosis in HepG2 cells through heme oxygenase-1 induction. *Biochemical pharmacology*. 2012;84(7):974-83.

222. Sennello JA, Fayad R, Morris AM, Eckel RH, Asilmaz E, Montez J, et al. Regulation of T cell-mediated hepatic inflammation by adiponectin and leptin. *Endocrinology*. 2005;146(5):2157-64.
223. Ding X, Saxena NK, Lin S, Xu A, Srinivasan S, Anania FA. The roles of leptin and adiponectin: a novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *The American journal of pathology*. 2005;166(6):1655-69.
224. Adachi M, Brenner DA. High molecular weight adiponectin inhibits proliferation of hepatic stellate cells via activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Hepatology*. 2008;47(2):677-85.
225. Shafiei MS, Shetty S, Scherer PE, Rockey DC. Adiponectin regulation of stellate cell activation via PPARgamma-dependent and -independent mechanisms. *The American journal of pathology*. 2011;178(6):2690-9.
226. Saxena NK, Anania FA. Adipocytokines and hepatic fibrosis. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2015;26(3):153-61.
227. Tardelli M, Claudel T, Bruschi FV, Moreno-Viedma V, Trauner M. Adiponectin regulates AQP3 via PPARalpha in human hepatic stellate cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2017;490(1):51-4.
228. Tardelli M, Moreno-Viedma V, Zeyda M, Itariu BK, Langer FB, Prager G, et al. Adiponectin regulates aquaglyceroporin expression in hepatic stellate cells altering their functional state. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2017;32(1):253-60.
229. Kamada Y, Nakamura T, Funahashi T, Ryo M, Nishizawa H, Okauchi Y, et al. Visceral obesity and hypoadiponectinemia are significant determinants of hepatic dysfunction: An epidemiologic study of 3827 Japanese subjects. *Journal of clinical gastroenterology*. 2009;43(10):995-1000.
230. Kazumi T, Kawaguchi A, Hirano T, Yoshino G. Serum alanine aminotransferase is associated with serum adiponectin, C-reactive protein and apolipoprotein B in young healthy men. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*. 2006;38(2):119-24.
231. Kim JA, Kim SM, Yoon D. The relationship between gamma-glutamyltransferase and adiponectin in nonalcoholic women. *Metabolism: clinical and experimental*. 2007;56(4):578-82.
232. Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons-Romero F, et al. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*. 2005;54(1):117-21.

233. Polyzos SA, Toulis KA, Goulis DG, Zavos C, Kountouras J. Serum total adiponectin in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism: clinical and experimental*. 2011;60(3):313-26.
234. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology*. 2004;40(1):46-54.
235. Musso G, Gambino R, Biroli G, Carello M, Faga E, Pacini G, et al. Hypoadiponectinemia predicts the severity of hepatic fibrosis and pancreatic Beta-cell dysfunction in nondiabetic nonobese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *The American journal of gastroenterology*. 2005;100(11):2438-46.
236. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L, et al. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical endocrinology*. 2006;64(6):679-83.
237. Savvidou S, Hytioglou P, Orfanou-Koumerkeridou H, Panderis A, Frantzoulis P, Goulis J. Low serum adiponectin levels are predictive of advanced hepatic fibrosis in patients with NAFLD. *Journal of clinical gastroenterology*. 2009;43(8):765-72.
238. Pagano C, Soardo G, Esposito W, Fallo F, Basan L, Donnini D, et al. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2005;152(1):113-8.
239. Gastaldelli A, Harrison S, Belfort-Aguilar R, Hardies J, Balas B, Schenker S, et al. Pioglitazone in the treatment of NASH: the role of adiponectin. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010;32(6):769-75.
240. Liu S, Wu HJ, Zhang ZQ, Chen Q, Liu B, Wu JP, et al. The ameliorating effect of rosiglitazone on experimental nonalcoholic steatohepatitis is associated with regulating adiponectin receptor expression in rats. *European journal of pharmacology*. 2011;650(1):384-9.
241. Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Sponseller CA, Hampton K, Bacon BR. Interim results of a pilot study demonstrating the early effects of the PPAR-gamma ligand rosiglitazone on insulin sensitivity, aminotransferases, hepatic steatosis and body weight in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of hepatology*. 2003;38(4):434-40.

242. Sun K, Wang Q, Huang XH. PPAR gamma inhibits growth of rat hepatic stellate cells and TGF beta-induced connective tissue growth factor expression. *Acta pharmacologica Sinica*. 2006;27(6):715-23.
243. Rogers CQ, Ajmo JM, You M. Adiponectin and alcoholic fatty liver disease. *IUBMB life*. 2008;60(12):790-7.
244. Palmer C, Hampartzoumian T, Lloyd A, Zekry A. A novel role for adiponectin in regulating the immune responses in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2008;48(2):374-84.
245. Liu CJ, Chen PJ, Jeng YM, Huang WL, Yang WS, Lai MY, et al. Serum adiponectin correlates with viral characteristics but not histologic features in patients with chronic hepatitis C. *Journal of hepatology*. 2005;43(2):235-42.
246. Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology*. 2004;126(2):586-97.
247. Petit JM, Minello A, Jooste V, Bour JB, Galland F, Duvillard L, et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to steatosis in hepatitis C virus-infected patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(4):2240-3.
248. Zografos TA, Liaskos C, Rigopoulou EI, Togousidis E, Makaritsis K, Germenis A, et al. Adiponectin: a new independent predictor of liver steatosis and response to IFN-alpha treatment in chronic hepatitis C. *The American journal of gastroenterology*. 2008;103(3):605-14.
249. Latif HA, Assal HS, Mahmoud M, Rasheed WI. Role of serum adiponectin level in the development of liver cirrhosis in patients with hepatitis C virus. *Clinical and experimental medicine*. 2011;11(2):123-9.
250. Jonsson JR, Moschen AR, Hickman IJ, Richardson MM, Kaser S, Clouston AD, et al. Adiponectin and its receptors in patients with chronic hepatitis C. *Journal of hepatology*. 2005;43(6):929-36.
251. Corbetta S, Redaelli A, Pozzi M, Bovo G, Ratti L, Redaelli E, et al. Fibrosis is associated with adiponectin resistance in chronic hepatitis C virus infection. *European journal of clinical investigation*. 2011;41(8):898-905.
252. Hickman IJ, Clouston AD, Macdonald GA, Purdie DM, Prins JB, Ash S, et al. Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut*. 2002;51(1):89-94.
253. Siagris D, Vafiadis G, Michalaki M, Lekkou A, Starakis I, Makri M, et al. Serum adiponectin in chronic hepatitis C and B. *Journal of viral hepatitis*. 2007;14(8):577-83.

254. Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Georgiou A, Kafiri G, Tiniakos DG, et al. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels with fibrosis severity. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2008;43(9):1128-36.
255. Hui CK, Zhang HY, Lee NP, Chan W, Yueng YH, Leung KW, et al. Serum adiponectin is increased in advancing liver fibrosis and declines with reduction in fibrosis in chronic hepatitis B. *Journal of hepatology*. 2007;47(2):191-202.
256. Wong VW, Wong GL, Yu J, Choi PC, Chan AW, Chan HY, et al. Interaction of adipokines and hepatitis B virus on histological liver injury in the Chinese. *The American journal of gastroenterology*. 2010;105(1):132-8.
257. Tacke F, Wustefeld T, Horn R, Luedde T, Srinivas Rao A, Manns MP, et al. High adiponectin in chronic liver disease and cholestasis suggests biliary route of adiponectin excretion in vivo. *Journal of hepatology*. 2005;42(5):666-73.
258. Chudek J, Adamczak M, Karkoszka H, Budzinski G, Ignacy W, Funahashi T, et al. Plasma adiponectin concentration before and after successful kidney transplantation. *Transplantation proceedings*. 2003;35(6):2186-9.
259. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Cutrupi S, Parlongo S, et al. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2002;13(1):134-41.
260. van der Poorten D, Samer CF, Ramezani-Moghadam M, Coulter S, Kacevska M, Schrijnders D, et al. Hepatic fat loss in advanced nonalcoholic steatohepatitis: are alterations in serum adiponectin the cause? *Hepatology*. 2013;57(6):2180-8.
261. Salman TA, Allam N, Azab GI, Shaarawy AA, Hassouna MM, El-Haddad OM. Study of adiponectin in chronic liver disease and cholestasis. *Hepatology international*. 2010;4(4):767-74.
262. Floreani A, Variola A, Niro G, Premoli A, Baldo V, Gambino R, et al. Plasma adiponectin levels in primary biliary cirrhosis: a novel perspective for link between hypercholesterolemia and protection against atherosclerosis. *The American journal of gastroenterology*. 2008;103(8):1959-65.
263. Durazzo M, Niro G, Premoli A, Morello E, Rizzotto ER, Gambino R, et al. Type 1 autoimmune hepatitis and adipokines: new markers for activity and disease progression? *Journal of gastroenterology*. 2009;44(5):476-82.

264. Tietge UJ, Boker KH, Manns MP, Bahr MJ. Elevated circulating adiponectin levels in liver cirrhosis are associated with reduced liver function and altered hepatic hemodynamics. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2004;287(1):E82-9.
265. Balmer ML, Joneli J, Schoepfer A, Stickel F, Thormann W, Dufour JF. Significance of serum adiponectin levels in patients with chronic liver disease. *Clin Sci (Lond)*. 2010;119(10):431-6.
266. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de Iasio R, et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(6):3498-504.
267. Kaser S, Moschen A, Kaser A, Ludwiczek O, Ebenbichler CF, Vogel W, et al. Circulating adiponectin reflects severity of liver disease but not insulin sensitivity in liver cirrhosis. *Journal of internal medicine*. 2005;258(3):274-80.
268. Hamdy K, Al Swaff R, Hussein HA, Gamal M. Assessment of serum adiponectin in Egyptian patients with HCV-related cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Endocrinol Invest*. 2015;38(11):1225-31.
269. Saxena NK, Fu PP, Nagalingam A, Wang J, Handy J, Cohen C, et al. Adiponectin modulates C-jun N-terminal kinase and mammalian target of rapamycin and inhibits hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1762-73, 73 e1-5.
270. Kistorp C, Faber J, Galatius S, Gustafsson F, Frystyk J, Flyvbjerg A, et al. Plasma adiponectin, body mass index, and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2005;112(12):1756-62.
271. Menon V, Li L, Wang X, Greene T, Balakrishnan V, Madero M, et al. Adiponectin and mortality in patients with chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2006;17(9):2599-606.
272. Singer JR, Palmas W, Teresi J, Weinstock R, Shea S, Luchsinger JA. Adiponectin and all-cause mortality in elderly people with type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2012;35(9):1858-63.
273. Nakagawa H, Fujiwara N, Tateishi R, Arano T, Nakagomi R, Kondo M, et al. Impact of serum levels of interleukin-6 and adiponectin on all-cause, liver-related, and liver-unrelated mortality in chronic hepatitis C patients. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2015;30(2):379-88.

274. Siegel AB, Goyal A, Salomao M, Wang S, Lee V, Hsu C, et al. Serum adiponectin is associated with worsened overall survival in a prospective cohort of hepatocellular carcinoma patients. *Oncology*. 2015;88(1):57-68.
275. Kalafateli M, Triantos C, Tsochatzis E, Michalaki M, Koutroumpakis E, Thomopoulos K, et al. Adipokines levels are associated with the severity of liver disease in patients with alcoholic cirrhosis. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2015;21(10):3020-9.
276. Huang B, Cheng X, Wang D, Peng M, Xue Z, Da Y, et al. Adiponectin promotes pancreatic cancer progression by inhibiting apoptosis via the activation of AMPK/Sirt1/PGC-1alpha signaling. *Oncotarget*. 2014;5(13):4732-45.
277. Peake PW, Shen Y, Walther A, Charlesworth JA. Adiponectin binds C1q and activates the classical pathway of complement. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;367(3):560-5.
278. Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, Baker TW, Gurney A, Henzel W, et al. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *The EMBO journal*. 2000;19(15):4046-55.
279. Kim KH, Lee K, Moon YS, Sul HS. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(14):11252-6.
280. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307-12.
281. Barnes KM, Miner JL. Role of resistin in insulin sensitivity in rodents and humans. *Current protein & peptide science*. 2009;10(1):96-107.
282. Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *The Journal of clinical investigation*. 2003;111(2):225-30.
283. Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, et al. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(2):232-9.
284. McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, et al. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(5):2407.

285. McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet*. 2002;359(9300):46-7.
286. Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *British journal of pharmacology*. 2012;165(3):622-32.
287. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003;300(2):472-6.
288. Adeghate E. An update on the biology and physiology of resistin. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2004;61(19-20):2485-96.
289. Rajala MW, Lin Y, Ranalletta M, Yang XM, Qian H, Gingerich R, et al. Cell type-specific expression and coregulation of murine resistin and resistin-like molecule-alpha in adipose tissue. *Mol Endocrinol*. 2002;16(8):1920-30.
290. Stepan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, et al. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(2):502-6.
291. Gerstmayer B, Kusters D, Gebel S, Muller T, Van Miert E, Hofmann K, et al. Identification of RELMgamma, a novel resistin-like molecule with a distinct expression pattern. *Genomics*. 2003;81(6):588-95.
292. Stepan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *Journal of internal medicine*. 2004;255(4):439-47.
293. Falcao-Pires I, Castro-Chaves P, Miranda-Silva D, Lourenco AP, Leite-Moreira AF. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of adipokines. *Drug discovery today*. 2012;17(15-16):880-9.
294. Gnacinska M, Malgorzewicz S, Stojek M, Lysiak-Szydłowska W, Sworczak K. Role of adipokines in complications related to obesity: a review. *Advances in medical sciences*. 2009;54(2):150-7.
295. Filkova M, Haluzik M, Gay S, Senolt L. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. *Clin Immunol*. 2009;133(2):157-70.
296. Costandi J, Melone M, Zhao A, Rashid S. Human resistin stimulates hepatic overproduction of atherogenic ApoB-containing lipoprotein particles by enhancing ApoB stability and impairing intracellular insulin signaling. *Circulation research*. 2011;108(6):727-42.

297. Aquilante CL, Kosmiski LA, Knutsen SD, Zineh I. Relationship between plasma resistin concentrations, inflammatory chemokines, and components of the metabolic syndrome in adults. *Metabolism: clinical and experimental*. 2008;57(4):494-501.
298. Smith SR, Bai F, Charbonneau C, Janderova L, Argyropoulos G. A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes*. 2003;52(7):1611-8.
299. Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, Nyomba BL, Murphy LJ. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2003;149(4):331-5.
300. Liu F, Yang T, Wang B, Zhang M, Gu N, Qiu J, et al. Resistin induces insulin resistance, but does not affect glucose output in rat-derived hepatocytes. *Acta pharmacologica Sinica*. 2008;29(1):98-104.
301. Azuma K, Katsukawa F, Oguchi S, Murata M, Yamazaki H, Shimada A, et al. Correlation between serum resistin level and adiposity in obese individuals. *Obesity research*. 2003;11(8):997-1001.
302. Moon B, Kwan JJ, Duddy N, Sweeney G, Begum N. Resistin inhibits glucose uptake in L6 cells independently of changes in insulin signaling and GLUT4 translocation. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2003;285(1):E106-15.
303. Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ben Rejeb N, Nabli N, et al. Association between four resistin polymorphisms, obesity, and metabolic syndrome parameters in Tunisian volunteers. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2012;16(12):1356-62.
304. Asano H, Izawa H, Nagata K, Nakatochi M, Kobayashi M, Hirashiki A, et al. Plasma resistin concentration determined by common variants in the resistin gene and associated with metabolic traits in an aged Japanese population. *Diabetologia*. 2010;53(2):234-46.
305. Ma X, Warram JH, Trischitta V, Doria A. Genetic variants at the resistin locus and risk of type 2 diabetes in Caucasians. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(9):4407-10.
306. Yannakoulia M, Yiannakouris N, Bluher S, Matalas AL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(4):1730-6.
307. Qasim AN, Metkus TS, Tadesse M, Lehrke M, Restine S, Wolfe ML, et al. Resistin gene variation is associated with systemic inflammation but not plasma adipokine levels, metabolic syndrome or

- coronary atherosclerosis in nondiabetic Caucasians. *Clinical endocrinology*. 2009;70(5):698-705.
308. Youn BS, Yu KY, Park HJ, Lee NS, Min SS, Youn MY, et al. Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(1):150-6.
309. Malo E, Ukkola O, Jokela M, Moilanen L, Kahonen M, Nieminen MS, et al. Resistin is an indicator of the metabolic syndrome according to five different definitions in the Finnish Health 2000 survey. *Metab Syndr Relat Disord*. 2011;9(3):203-10.
310. Lu HL, Wang HW, Wen Y, Zhang MX, Lin HH. Roles of adipocyte derived hormone adiponectin and resistin in insulin resistance of type 2 diabetes. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2006;12(11):1747-51.
311. Tokuyama Y, Osawa H, Ishizuka T, Onuma H, Matsui K, Egashira T, et al. Serum resistin level is associated with insulin sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: clinical and experimental*. 2007;56(5):693-8.
312. Fujinami A, Obayashi H, Ohta K, Ichimura T, Nishimura M, Matsui H, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2004;339(1-2):57-63.
313. Gharibeh MY, Al Tawallbeh GM, Abboud MM, Radaideh A, Alhader AA, Khabour OF. Correlation of plasma resistin with obesity and insulin resistance in type 2 diabetic patients. *Diabetes & metabolism*. 2010;36(6 Pt 1):443-9.
314. Chen BH, Song Y, Ding EL, Roberts CK, Manson JE, Rifai N, et al. Circulating levels of resistin and risk of type 2 diabetes in men and women: results from two prospective cohorts. *Diabetes care*. 2009;32(2):329-34.
315. Axelsson J, Bergsten A, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Lonnqvist F, et al. Elevated resistin levels in chronic kidney disease are associated with decreased glomerular filtration rate and inflammation, but not with insulin resistance. *Kidney international*. 2006;69(3):596-604.
316. Burnett MS, Lee CW, Kinnaird TD, Stabile E, Durrani S, Dullum MK, et al. The potential role of resistin in atherogenesis. *Atherosclerosis*. 2005;182(2):241-8.

317. Al-Daghri N, Chetty R, McTernan PG, Al-Rubean K, Al-Attas O, Jones AF, et al. Serum resistin is associated with C-reactive protein & LDL cholesterol in type 2 diabetes and coronary artery disease in a Saudi population. *Cardiovascular diabetology*. 2005;4(1):10.
318. Karbowska A, Boratynska M, Klinger M. [Resistin: a pathogenic factor or a biomarker of metabolic disorders and inflammation?]. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej*. 2009;63:485-91.
319. Wang LM, Wang CX, Zhang DM, Xie YY. [The relationship between the serum ET and resistin concentration and the peripheral neuropathy in type 2 diabetes]. *Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi = Chinese journal of cellular and molecular immunology*. 2011;27(5):564-5, 7.
320. Shojima N, Sakoda H, Ogihara T, Fujishiro M, Katagiri H, Anai M, et al. Humoral regulation of resistin expression in 3T3-L1 and mouse adipose cells. *Diabetes*. 2002;51(6):1737-44.
321. Haugen F, Jorgensen A, Drevon CA, Trayhurn P. Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS letters*. 2001;507(1):105-8.
322. Hartman HB, Hu X, Tyler KX, Dalal CK, Lazar MA. Mechanisms regulating adipocyte expression of resistin. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(22):19754-61.
323. Abate N, Sallam HS, Rizzo M, Nikolic D, Obradovic M, Bjelogrljic P, et al. Resistin: an inflammatory cytokine. Role in cardiovascular diseases, diabetes and the metabolic syndrome. *Current pharmaceutical design*. 2014;20(31):4961-9.
324. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation*. 2005;111(7):932-9.
325. Lee SE, Kim HS. Human resistin in cardiovascular disease. *Journal of smooth muscle research = Nihon Heikatsukin Gakkai kikanishi*. 2012;48(1):27-35.
326. Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003;309(2):286-90.
327. Bo S, Gambino R, Pagani A, Guidi S, Gentile L, Cassader M, et al. Relationships between human serum resistin, inflammatory markers and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29(11):1315-20.
328. Piestrzeniewicz K, Luczak K, Komorowski J, Maciejewski M, Jankiewicz Wika J, Goch JH. Resistin increases with obesity and

- atherosclerotic risk factors in patients with myocardial infarction. *Metabolism: clinical and experimental*. 2008;57(4):488-93.
329. Singh AK, Tiwari S, Gupta A, Natu SM, Mittal B, Pant AB. Association of resistin with metabolic syndrome in Indian subjects. *Metab Syndr Relat Disord*. 2012;10(4):286-91.
330. Pischon T, Bamberger CM, Kratzsch J, Zyriax BC, Algenstaedt P, Boeing H, et al. Association of plasma resistin levels with coronary heart disease in women. *Obesity research*. 2005;13(10):1764-71.
331. Cohen G, Horl WH. Resistin as a cardiovascular and atherosclerotic risk factor and uremic toxin. *Seminars in dialysis*. 2009;22(4):373-7.
332. Weikert C, Westphal S, Berger K, Dierkes J, Mohlig M, Spranger J, et al. Plasma resistin levels and risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(7):2647-53.
333. Bertolani C, Marra F. Role of adipocytokines in hepatic fibrosis. *Current pharmaceutical design*. 2010;16(17):1929-40.
334. Bertolani C, Sancho-Bru P, Failli P, Bataller R, Aleffi S, DeFranco R, et al. Resistin as an intrahepatic cytokine: overexpression during chronic injury and induction of proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *The American journal of pathology*. 2006;169(6):2042-53.
335. Pagano C, Soardo G, Pilon C, Milocco C, Basan L, Milan G, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(3):1081-6.
336. Jiang LL, Li L, Hong XF, Li YM, Zhang BL. Patients with nonalcoholic fatty liver disease display increased serum resistin levels and decreased adiponectin levels. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2009;21(6):662-6.
337. Senates E, Colak Y, Yesil A, Coskunpinar E, Sahin O, Kahraman OT, et al. Circulating resistin is elevated in patients with non-alcoholic fatty liver disease and is associated with steatosis, portal inflammation, insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis scores. *Minerva Med*. 2012;103(5):369-76.
338. Marra F. Chemokines in liver inflammation and fibrosis. *Front Biosci*. 2002;7:d1899-914.
339. Kawanami D, Maemura K, Takeda N, Harada T, Nojiri T, Imai Y, et al. Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell

- interactions. *Biochemical and biophysical research communications*. 2004;314(2):415-9.
340. Dong ZX, Su L, Brymora J, Bird C, Xie Q, George J, et al. Resistin mediates the hepatic stellate cell phenotype. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2013;19(28):4475-85.
341. Bajaj M, Suraamornkul S, Hardies LJ, Pratipanawatr T, DeFronzo RA. Plasma resistin concentration, hepatic fat content, and hepatic and peripheral insulin resistance in pioglitazone-treated type II diabetic patients. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2004;28(6):783-9.
342. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Ntali G, Esposito A, Burska A, et al. Serum resistin and hepatic fat content in nondiabetic individuals. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(12):5122-5.
343. Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2008;27(5):412-21.
344. Cho YK, Lee WY, Oh SY, Park JH, Kim HJ, Park DI, et al. Factors affecting the serum levels of adipokines in Korean male patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepato-gastroenterology*. 2007;54(77):1512-6.
345. Tiftikci A, Atug O, Yilmaz Y, Eren F, Ozdemir FT, Yapali S, et al. Serum levels of adipokines in patients with chronic HCV infection: relationship with steatosis and fibrosis. *Arch Med Res*. 2009;40(4):294-8.
346. Morace C, Spadaro A, Cucunato M, Tortorella V, Consolo P, Luigiano C, et al. High serum resistin in chronic viral hepatitis is not a marker of metabolic disorder. *Hepato-gastroenterology*. 2010;57(102-103):1215-9.
347. Kakizaki S, Sohara N, Yamazaki Y, Horiguchi N, Kanda D, Kabeya K, et al. Elevated plasma resistin concentrations in patients with liver cirrhosis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2008;23(1):73-7.
348. Yagmur E, Trautwein C, Gressner AM, Tacke F. Resistin serum levels are associated with insulin resistance, disease severity, clinical complications, and prognosis in patients with chronic liver diseases. *The American journal of gastroenterology*. 2006;101(6):1244-52.
349. Lin SY, Sheu WH, Chen WY, Lee FY, Huang CJ. Stimulated resistin expression in white adipose of rats with bile duct ligation-induced liver cirrhosis: relationship to cirrhotic hyperinsulinemia and

increased tumor necrosis factor-alpha. *Molecular and cellular endocrinology*. 2005;232(1-2):1-8.

350. Vital signs: current cigarette smoking among adults aged ≥ 18 years with mental illness - United States, 2009-2011. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2013;62(5):81-7.

351. Addolorato G, Leggio L, Ferrulli A, Cardone S, Vonghia L, Mirijello A, et al. Effectiveness and safety of baclofen for maintenance of alcohol abstinence in alcohol-dependent patients with liver cirrhosis: randomised, double-blind controlled study. *Lancet*. 2007;370(9603):1915-22.

352. 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(3):716-21.

353. Duarte AC CF. *Semiologia Nutricional*. . Brasil: ABd, editor2002.

354. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.

355. Patel DA, Srinivasan SR, Xu JH, Chen W, Berenson GS. Adiponectin and its correlates of cardiovascular risk in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Metabolism: clinical and experimental*. 2006;55(11):1551-7.

356. Urbina EM, Khoury P, Martin LJ, D'Alessio D, Dolan LM. Gender differences in the relationships among obesity, adiponectin and brachial artery distensibility in adolescents and young adults. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(10):1118-25.

357. Sohara N, Takagi H, Kakizaki S, Sato K, Mori M. Elevated plasma adiponectin concentrations in patients with liver cirrhosis correlate with plasma insulin levels. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2005;25(1):28-32.

358. Hui CK, Zhang HY, Lee NP, Chan W, Yueng YH, Leung KW, et al. Serum adiponectin is increased in advancing liver fibrosis and declines with reduction in fibrosis in chronic hepatitis B. *Journal of hepatology*. 2007;47(2):191-202.

359. Li T, Chiang JY. Bile Acid signaling in liver metabolism and diseases. *Journal of lipids*. 2012;2012:754067.

360. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Molecular medicine*. 2008;14(11-12):741-51.
361. Christou GA, Kiortsis DN. Adiponectin and lipoprotein metabolism. *Obes Rev*. 2013;14(12):939-49.
362. Greco AV, Mingrone G, Mari A, Capristo E, Manco M, Gasbarrini G. Mechanisms of hyperinsulinaemia in Child's disease grade B liver cirrhosis investigated in free living conditions. *Gut*. 2002;51(6):870-5.
363. Petrides AS, DeFronzo RA. Glucose and insulin metabolism in cirrhosis. *Journal of hepatology*. 1989;8(1):107-14.
364. Combs TP, Pajvani UB, Berg AH, Lin Y, Jelicks LA, Laplante M, et al. A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity. *Endocrinology*. 2004;145(1):367-83.
365. Ng TW, Watts GF, Farvid MS, Chan DC, Barrett PH. Adipocytokines and VLDL metabolism: independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics? *Diabetes*. 2005;54(3):795-802.
366. You M, Considine RV, Leone TC, Kelly DP, Crabb DW. Role of adiponectin in the protective action of dietary saturated fat against alcoholic fatty liver in mice. *Hepatology*. 2005;42(3):568-77.
367. You M, Rogers CQ. Adiponectin: a key adipokine in alcoholic fatty liver. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2009;234(8):850-9.
368. Hutcheson J. Adipokines influence the inflammatory balance in autoimmunity. *Cytokine*. 2015;75(2):272-9.
369. Albillos A, Lario M, Alvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *Journal of hepatology*. 2014;61(6):1385-96.
370. Shen C, Zhao CY, Wang W, Wang YD, Sun H, Cao W, et al. The relationship between hepatic resistin overexpression and inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *BMC gastroenterology*. 2014;14:39.
371. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism: clinical and experimental*. 2016;65(8):1062-79.
372. Kawamura R, Doi Y, Osawa H, Ninomiya T, Hata J, Yonemoto K, et al. Circulating resistin is increased with decreasing renal function in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2010;25(10):3236-40.

373. Menzaghi C, Salvemini L, Fini G, Thompson R, Mangiacotti D, Di Paola R, et al. Serum resistin and kidney function: a family-based study in non-diabetic, untreated individuals. *PloS one*. 2012;7(6):e38414.
374. Ellington AA, Malik AR, Klee GG, Turner ST, Rule AD, Mosley TH, Jr., et al. Association of plasma resistin with glomerular filtration rate and albuminuria in hypertensive adults. *Hypertension*. 2007;50(4):708-14.
375. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *Journal of immunology*. 2005;174(9):5789-95.
376. Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel RD, et al. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation*. 2003;108(6):736-40.
377. Marouga A, Dalamaga M, Kastania AN, Kroupis C, Lagiou M, Saounatsou K, et al. Circulating resistin is a significant predictor of mortality independently from cardiovascular comorbidities in elderly, non-diabetic subjects with chronic kidney disease. *Biomarkers*. 2016;21(1):73-9.
378. Watt KD, Fan C, Therneau T, Heimbach JK, Seaberg EC, Charlton MR. Serum adipokine and inflammatory markers before and after liver transplantation in recipients with major cardiovascular events. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2014;20(7):791-7.
379. Rohlfing C, Wiedmeyer HM, Little R, Grotz VL, Tennill A, England J, et al. Biological variation of glycohemoglobin. *Clinical chemistry*. 2002;48(7):1116-8.
380. Buffarini R, Restrepo-Mendez MC, Silveira VM, Miranda JJ, Goncalves HD, Oliveira IO, et al. Distribution of Glycated Haemoglobin According to Early-Life and Contemporary Characteristics in Adolescents and Adults without Diabetes: The 1982 and 1993 Pelotas Birth Cohorts. *PloS one*. 2016;11(9):e0162614.
381. Simon D, Senan C, Garnier P, Saint-Paul M, Papoz L. Epidemiological features of glycated haemoglobin A1c-distribution in a healthy population. *The Telecom Study. Diabetologia*. 1989;32(12):864-9.
382. Yudkin JS, Forrest RD, Jackson CA, Ryle AJ, Davie S, Gould BJ. Unexplained variability of glycated haemoglobin in non-diabetic subjects not related to glycaemia. *Diabetologia*. 1990;33(4):208-15.

383. Avignon A, Radauceanu A, Monnier L. Nonfasting plasma glucose is a better marker of diabetic control than fasting plasma glucose in type 2 diabetes. *Diabetes care*. 1997;20(12):1822-6.
384. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes care*. 2002;25(2):275-8.
385. American Diabetes A. Postprandial blood glucose. American Diabetes Association. *Diabetes care*. 2001;24(4):775-8.
386. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Diabetes*. 1997;46(2):271-86.
387. Suh S, Kim JH. Glycemic Variability: How Do We Measure It and Why Is It Important? *Diabetes Metab J*. 2015;39(4):273-82.
388. Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol JP, et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2006;295(14):1681-7.
389. Ceriello A, Esposito K, Piconi L, Ihnat MA, Thorpe JE, Testa R, et al. Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2008;57(5):1349-54.
390. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813-20.
391. McCarter RJ, Hempe JM, Chalew SA. Mean blood glucose and biological variation have greater influence on HbA1c levels than glucose instability: an analysis of data from the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes care*. 2006;29(2):352-5.
392. Hashiba M, Ono M, Hyogo H, Ikeda Y, Masuda K, Yoshioka R, et al. Glycemic variability is an independent predictive factor for development of hepatic fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS one*. 2013;8(11):e76161.
393. Stevens VJ, Fantl WJ, Newman CB, Sims RV, Cerami A, Peterson CM. Acetaldehyde adducts with hemoglobin. *The Journal of clinical investigation*. 1981;67(2):361-9.
394. Peterson CM, Nguyen LB. Clinical implications of acetaldehyde adducts with hemoglobin. *Prog Clin Biol Res*. 1985;183:19-30.

395. Latvala J, Parkkila S, Melkko J, Niemela O. Acetaldehyde adducts in blood and bone marrow of patients with ethanol-induced erythrocyte abnormalities. *Molecular medicine*. 2001;7(6):401-5.
396. De Benedetto GE, Fanigliulo M. A new CE-ESI-MS method for the detection of stable hemoglobin acetaldehyde adducts, potential biomarkers of alcohol abuse. *Electrophoresis*. 2009;30(10):1798-807.
397. Saydah S, Tao M, Imperatore G, Gregg E. GHb level and subsequent mortality among adults in the U.S. *Diabetes care*. 2009;32(8):1440-6.
398. Selvin E, Steffes MW, Zhu H, Matsushita K, Wagenknecht L, Pankow J, et al. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. *N Engl J Med*. 2010;362(9):800-11.
399. Carson AP, Fox CS, McGuire DK, Levitan EB, Laclaustra M, Mann DM, et al. Low hemoglobin A1c and risk of all-cause mortality among US adults without diabetes. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2010;3(6):661-7.
400. Selvin E, Ning Y, Steffes MW, Bash LD, Klein R, Wong TY, et al. Glycated hemoglobin and the risk of kidney disease and retinopathy in adults with and without diabetes. *Diabetes*. 2011;60(1):298-305.
401. Currie CJ, Peters JR, Tynan A, Evans M, Heine RJ, Bracco OL, et al. Survival as a function of HbA(1c) in people with type 2 diabetes: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2010;375(9713):481-9.
402. Ford ES, Cowie CC, Li C, Handelsman Y, Bloomgarden ZT. Iron-deficiency anemia, non-iron-deficiency anemia and HbA1c among adults in the US. *J Diabetes*. 2011;3(1):67-73.
403. Cohen RM, Franco RS, Khera PK, Smith EP, Lindsell CJ, Cirraolo PJ, et al. Red cell life span heterogeneity in hematologically normal people is sufficient to alter HbA1c. *Blood*. 2008;112(10):4284-91.
404. Christman AL, Lazo M, Clark JM, Selvin E. Low glycated hemoglobin and liver disease in the U.S. population. *Diabetes care*. 2011;34(12):2548-50.
405. Wlazlo N, van Greevenbroek MM, Curvers J, Schoon EJ, Friederich P, Twisk JW, et al. Diabetes mellitus at the time of diagnosis of cirrhosis is associated with higher incidence of spontaneous bacterial peritonitis, but not with increased mortality. *Clin Sci (Lond)*. 2013;125(7):341-8.
406. Butt Z, Jadoon NA, Salaria ON, Mushtaq K, Riaz IB, Shahzad A, et al. Diabetes mellitus and decompensated cirrhosis: risk of hepatic encephalopathy in different age groups. *J Diabetes*. 2013;5(4):449-55.

407. Trombetta M, Spiazzi G, Zoppini G, Muggeo M. Review article: type 2 diabetes and chronic liver disease in the Verona diabetes study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2005;22 Suppl 2:24-7.
408. Veldt BJ, Chen W, Heathcote EJ, Wedemeyer H, Reichen J, Hofmann WP, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis C cirrhosis and diabetes mellitus. *Hepatology*. 2008;47(6):1856-62.
409. Kim YS, Um SH, Ryu HS, Lee JB, Lee JW, Park DK, et al. The prognosis of liver cirrhosis in recent years in Korea. *J Korean Med Sci*. 2003;18(6):833-41.
410. Said A, Williams J, Holden J, Remington P, Gangnon R, Musat A, et al. Model for end stage liver disease score predicts mortality across a broad spectrum of liver disease. *Journal of hepatology*. 2004;40(6):897-903.
411. Singal AK, Kamath PS. Model for End-stage Liver Disease. *Journal of clinical and experimental hepatology*. 2013;3(1):50-60.

ANEXO A – Projeto de Pesquisa submetido ao Comitê de Ética

**ESTUDO DA ENDOTOXEMIA NA CIRROSE HEPÁTICA E SUA
RELAÇÃO COM A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL SISTÊMICA,
INFLAMAÇÃO E PROGNÓSTICO**

Pesquisador: Leonardo de Lucca Schiavon

RESUMO

Introdução: O prejuízo da resposta imunológica sistêmica e as alterações da permeabilidade intestinal estão associados a altas taxas de translocação bacteriana e endotoxemia na cirrose hepática. A endotoxemia tem sido associada à maior mortalidade em portadores de cirrose, no entanto, seus efeitos sobre a circulação sistêmica e em parâmetros de inflamação e funcionamento do endotélio ainda são desconhecidos.

Objetivos: Estimar a prevalência de endotoxemia e a sua relação com marcadores de disfunção endotelial sistêmica, inflamação e mortalidade.

Metodologia: Será realizado um estudo de coorte prospectivo que incluirá consecutivamente indivíduos portadores de cirrose hepática em acompanhamento ambulatorial. O tamanho da amostra é estimado em 108 pacientes. Serão excluídos os pacientes com diagnóstico duvidoso de cirrose hepática, pacientes com história de uso de algum antibiótico há menos de 7 dias, pacientes com sinal de infecção bacteriana pela

anamnese, exame físico ou exames laboratoriais, pacientes com diagnóstico de Carcinoma Hepatocelular ou aqueles que se recusarem a participar. Serão estudadas variáveis clínicas, demográficas e aspectos nutricionais. A endotoxemia será pesquisada pelo Teste do Lisado amebóide de *Limulus* sp (LAL). Serão dosados óxido nítrico, e-selectina, dimetilarginina assimétrica (ADMA) e 6-keto-PGF1 alfa como marcadores de disfunção endotelial. Além disso, serão investigados os níveis de citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α e VEGF), marcadores inflamatórios (proteína C reativa e neopterinina). fator de Von Willebrand, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α e VEGF) serão feitos em amostra de soro estocada a -80° C. Análises bivariadas e multivariadas serão realizadas para identificar os fatores associados de forma independente aos desfechos primários (óbito em seis meses) e secundários (internações hospitalares e/ou desenvolvimento de complicações da cirrose). Espera-se identificar marcadores prognósticos em portadores de cirrose e também uma melhor compreensão da interação entre os aspectos metabólicos e variáveis relacionadas à inflamação e disfunção endotelial nestes pacientes.

INTRODUÇÃO:

1. Considerações Gerais:

Todos os pacientes portadores de cirrose hepática apresentam um risco significativo de complicações graves relacionados à doença como o sangramento digestivo por varizes, sepse ou síndrome hepatorenal. Existe também um risco considerável de complicações relacionadas às freqüentes comorbidades observadas nestes casos. Em geral, o curso clínico da cirrose é caracterizado por um longo período de cirrose compensada, seguido pela ocorrência de complicações específicas (descompensações). Foi demonstrado que após dez anos do diagnóstico da cirrose, a probabilidade de evolução para formas descompensadas é de 60%, sendo a ascite a complicação mais comum (50%) (1). Uma vez ocorrido o primeiro episódio de descompensação, as complicações tendem a se acumular e a expectativa de vida é reduzida de forma significativa (2).

A evolução clínica da cirrose é extremamente variável devido à vários fatores, incluindo a função de síntese hepática (“reserva hepática”), etiologia da cirrose, possibilidade de interromper ou lentificar o dano hepático em andamento e a ocorrência do carcinoma hepatocelular (HCC). Portanto, estabelecer o prognóstico de um paciente é uma tarefa desafiadora. Além da simples estimativa da expectativa de vida, informações mais complexas devem ser avaliadas, tais como a capacidade de um paciente com cirrose resistir a uma determinada intervenção terapêutica, ou se uma dada opção terapêutica oferece uma possibilidade sobrevida aceitável. Nos últimos anos, com a generalização dos procedimentos de transplante hepático, novas

questões surgiram, como o momento ideal para o transplante e, do ponto de vista coletivo, a otimização para a política de alocação em fila.

2. Modelos prognósticos na cirrose hepática:

Ainda que o prognóstico da cirrose varie de acordo com vários fatores, a necessidade de modelos prognósticos para manejar os pacientes diante de diferentes opções terapêuticas é clara. Os dois principais modelos utilizados na avaliação do prognóstico da cirrose hepática são os escores de Child-Pugh e o MELD (Model for End-Stage Liver Disease).

Escore de Child-Pugh:

O escore de Child (inicialmente chamado de Child-Turcotte score) foi proposto mais de 40 anos atrás (3) e foi originalmente desenvolvido para predizer o prognóstico após procedimentos cirúrgicos no tratamento da hipertensão portal em pacientes com cirrose. Este escore incluía duas variáveis contínuas (bilirrubina e albumina) e três variáveis categóricas (ascite, encefalopatia e estado nutricional) que foram selecionadas empiricamente. Uma versão modificada, denominada escore de Child-Pugh foi proposta (4) há mais de 30 anos. A única modificação desta versão em relação à original foi a substituição do estado nutricional pelo tempo de protrombina em segundos. No entanto, como o tempo de protrombina pode ser expresso também em porcentagem, isto limitou a utilização do escore em muitas regiões. Atualmente a versão mais usada do escore de Child-Pugh utiliza a relação normatizada internacional (RNI) como referência (Anexo VII).

Vários estudos demonstraram que o escore de Child-Pugh é um preditor independente de mortalidade no contexto da descompensação em ascite (5), sangramento agudo por varizes de esôfago (6), cirrose alcoólica (7), cirrose relacionada ao vírus da hepatite C (HCV) (8), cirrose biliar primária (9), colangite esclerosante primária (10) e síndrome de Budd-Chiari (11). Além disso, este escore tem a vantagem utilizar variáveis amplamente disponíveis e baratas, e poder ser calculados de forma simples à beira do leito.

Apesar de amplamente validado, o escore de Child-Pugh apresenta importantes limitações. Todas as variáveis incluídas foram selecionadas de forma empírica e, portanto nem todas são preditores independentes de mortalidade. Os pontos de corte também foram selecionados de forma empírica e não existe evidência que a progressão de uma classe para outra do escore se traduz em uma mudança proporcional do risco de mortalidade. O escore de Child-Pugh também não leva em consideração variáveis específicas, em particular a creatinina sérica, que demonstrou um importante impacto no prognóstico da cirrose (12). Além disso, a definição da gravidade da ascite ou encefalopatia hepática, variáveis clínicas incluídas no modelo, podem variar significativamente entre diferentes observadores. Finalmente, o escore de Child-Pugh não leva em consideração a etiologia da cirrose e a possibilidade da parada ou lentificação do dano hepático em andamento. Esta limitação é especialmente relevante em pacientes com cirrose alcoólica ou relacionada à infecção pelo vírus da hepatite B (HBV).

Escore MELD:

O escore MELD foi desenvolvido inicialmente para avaliar o prognóstico de pacientes cirróticos submetidos à procedimento de shunt portossistêmico transjugular intra-hepático (TIPS) (12). A análise multivariada encontrou quatro variáveis associadas de forma independente com a sobrevivência: bilirrubina, creatinina, RNI e etiologia da cirrose (alcoólica/colestática vs. outras causas). Baseado na análise de regressão um coeficiente foi atribuído a cada variável de acordo com o peso desta variável no risco de mortalidade. No estudo original o modelo resultante foi discretamente mais acurado que o escore de Child-Pugh.

Com a expansão do transplante hepático, grande atenção foi deslocada do tratamento da hipertensão portal para a mortalidade na lista de espera e critérios de alocação de órgãos. De fato, o tempo de espera provou ser um marcador pouco acurado de mortalidade em lista de espera (13). Um escore MELD levemente modificado foi testado em populações de cirróticos na avaliação da mortalidade precoce (3 meses) e demonstrou boa acurácia como preditor de mortalidade, independentemente da causa ou gravidade da doença hepática (14). Excluir a variável “etiologia da cirrose” teve pouco impacto na acurácia do modelo e, como resultado, uma versão simplificada incluindo apenas três testes simples e amplamente disponíveis (bilirrubina, creatinina e RNI) foi proposta para uso na prática (15).

O escore MELD é adotado desde 2002 para alocação de órgãos para os pacientes listados para transplante hepático nos Estados Unidos da América (16) e desde de 2006 no Brasil. Com esta forma de alocação,

pacientes com maiores escore MELD (portanto maior mortalidade em 3 meses) recebem prioridade no fila de transplante.

Apesar de representar um grande avanço, o escore MELD possui importantes limitações. Por se tratar de um cálculo mais complexo são necessárias ferramentas específicas para seu uso rotineiro (disponíveis gratuitamente). Além disso, as três variáveis incluídas no MELD (bilirrubina, creatinina e RNI) supostamente objetivas, estão sujeitas a grandes variações entre diferentes laboratórios que adotem diferentes metodologias. A acurácia da creatinina sérica na avaliação da função renal em cirróticos tem sido questionada e, recentemente foi demonstrado que mulheres apresentam menores escores MELD quando comparadas aos homens devido à sua menor massa muscular e, portanto, menores níveis de creatinina (17). Esta discrepância está associada à pior prognóstico de mulheres listadas para transplante.

3. Aspectos metabólicos relacionados à cirrose hepática:

Desnutrição protéico-calórica:

A desnutrição é um achado comum em portadores de cirrose hepática, com prevalência de até 100% dos pacientes em estudos com pacientes cirróticos de etiologia alcoólica e não alcoólica (18-19). Um estado nutricional inadequado exerce influência negativa no prognóstico dos pacientes cirróticos, sendo um fator independentemente relacionado à mortalidade nestes indivíduos (20). Como mencionado acima, a desnutrição foi inicialmente utilizada como indicador de prognóstico na Classificação de Child Turcotte para estimar a mortalidade em pacientes submetidos à cirurgia de derivação portossistêmica. Estudos

subseqüentes confirmaram o valor prognóstico do estado nutricional nos portadores de cirrose em várias situações clínicas distintas.

Resistência insulínica:

Alguns estudos demonstram a associação entre a resistência insulínica e estádios mais avançados de fibrose ou cirrose, especialmente em portadores de hepatite C (21-22). Outras evidências recentes demonstram a associação entre a resistência insulínica e a ocorrência de carcinoma hepatocelular ou mortalidade relacionada à cirrose pelo vírus da hepatite C (23). Existem poucas evidências sobre a relação entre resistência insulínica e intensidade da disfunção hepática em portadores de cirrose mais avançada, especialmente aqueles na fase descompensada da doença.

Níveis séricos das adipocinas:

As adipocinas são produtos secretados pelo tecido adiposo desempenham um papel importante na homeostase energética, sensibilidade à insulina, resposta imunológica e doença vascular (24). Dentre as adipocinas, a adiponectina é uma das mais estudadas, possuindo propriedades anti-inflamatórias e insulino-sensibilizantes, e atuando na modulação da regulação de glicose e no catabolismo de gorduras (25). É secretada exclusivamente nos adipócitos, em quantidade inversamente proporcional ao Índice de Massa Corporal (IMC) e se correlaciona negativamente com esteatose hepática, esteato-hepatite não alcoólica (NASH) e resistência a insulina (25). Estudos recentes tem demonstrado efeito hepatoprotetor da adiponectina, visto que em pacientes com esteatohepatite os níveis baixos de adiponectina

se relacionam com alto grau de inflamação hepática com elevação de aminotransferases, atividade histológica e fibrose (26). Apesar disso, maiores níveis de adiponectina tem sido demonstrados em pacientes portadores de cirrose hepática. É possível que esta associação esteja relacionada, ao menos em parte, à desnutrição observada nos portadores de doença hepática avançada como descrito anteriormente em outras situações clínicas (27). No entanto, esta teoria ainda não foi confirmada.

Distúrbios do metabolismo ósseo:

Pacientes com doenças hepáticas parenquimatosas apresentam prejuízo no metabolismo da vitamina D, mais evidente naqueles com maior comprometimento da função hepática. Isso se deve principalmente à deficiência na conversão hepática em sua forma hidroxilada, já que a fotoconversão na pele é normal (28). Um estudo com 100 pacientes demonstrou níveis de 25OHD menores que 20ng/mL em 86% dos cirróticos contra 49% dos não cirróticos, o que sugere que o grau de deficiência de vitamina D possa se correlacionar com a gravidade da doença hepática (29).

Doenças do metabolismo ósseo como osteomalácea e osteopenia são comuns em pacientes com doenças hepáticas crônicas. Mecanismos potenciais são a ingestão insuficiente de cálcio e níveis baixos de vitamina D. Outros mecanismos não relacionados à vitamina D também podem ser implicados, como o hipogonadismo, a deficiência de vitamina K, algumas medicações e a consumo excessivo de bebidas alcoólicas (30-32). Um estudo com pacientes pós-transplante hepático demonstrou um maior risco de osteoporose e fraturas em pacientes com

níveis insuficientes de vitamina D e um maior ganho de massa óssea pós-transplante naqueles pacientes com níveis adequados de vitamina D.

Alterações no eixo GH-IGF (hormônio de crescimento - fatores de crescimento do tipo insulina):

O hormônio do crescimento (GH) possui várias ações no organismo, incluindo efeitos sobre os ossos, cartilagem, tecido adiposo, músculo, coração, sistema imunológico e outros. 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) (33). 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) (33). A IGFBP-3 é a proteína de ligação mais importante do sistema IGF e tem produção predominantemente hepática, sintetizada nas células de Kupffer (34-35). 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 (36-37). Esses marcadores também parecem se relacionar à intensidade da disfunção hepática, já que níveis reduzidos foram descritos em estádios mais avançados da cirrose (36-37). Desta forma, estes testes parecem representar ferramentas promissoras na avaliação de portadores de cirrose hepática.

Disfunção endotelial e vasodilatação:

A disfunção endotelial é um evento chave para o início dos transtornos vasculares e sua presença está associada a mau prognóstico.

Na cirrose, a disfunção endotelial que ocorre no leito vascular hepático é considerada um dos principais determinantes do aumento do tônus vascular no fígado cirrótico e, portanto, do desenvolvimento da hipertensão portal. La Mura, em estudo realizado com 42 portadores de cirrose e hipertensão portal, demonstrou o aumento de marcadores de disfunção endotelial como: FvW, P-selectina e isoprostanos nesses pacientes (38). Este achado já havia sido relatado previamente (39), porém esse foi o primeiro estudo a explorar a relação entre os níveis desses marcadores com as alterações hemodinâmicas que ocorrem na cirrose, demonstrando valor em prever o prognóstico. Os achados mais importantes do estudo foram em relação aos níveis de FvW, demonstrando que nas situações onde há níveis elevados desse fator a probabilidade de desenvolver complicações relacionadas à hipertensão portal ou a evolução para o transplante hepático são maiores. Concluiu-se que os níveis elevados de FvW estão relacionados a pior prognóstico, independente do gradiente de pressão venosa portal ou do grau de insuficiência hepática (38).

O aumento da resistência intra-hepática é determinado por alterações estruturais associadas à cirrose, como fibrose, capilarização dos sinusóides e presença de nódulos regenerativos, e por alterações dinâmicas potencialmente reversíveis atribuídas à vasoconstrição sinusoidal secundária, principalmente à diminuição na produção intra-hepática de óxido nítrico. O aumento do fluxo sanguíneo portal é decorrente da vasodilatação esplâncnica atribuída ao desequilíbrio local entre mediadores vasoconstritores e vasodilatadores, responsável também pela disfunção circulatória progressiva característica do cirrótico. A disfunção circulatória é caracterizada pelas alterações

hemodinâmicas secundárias à vasodilatação esplâncnica e sistêmica observada em pacientes com cirrose hepática e hipertensão portal. O principal mediador da vasodilatação esplâncnica e sistêmica é o óxido nítrico, potente vasodilatador, cuja síntese é elevada em células endoteliais desses territórios vasculares (40). Como os níveis de óxido nítrico estão elevados como consequência da maior tensão na parede dos vasos portais e a intensidade da hipertensão portal está relacionada à gravidade da doença hepática, é provável que os níveis de óxido nítrico também se associem à evolução para complicações da cirrose e óbito.

Citocinas relacionadas ao processo inflamatório:

Pacientes portadores de cirrose apresentam um aumento relativo de bacilos gram-negativos aeróbicos jejunais, alterações na barreira intestinal, translocação bacteriana e, conseqüentemente, mais risco de bacteremia (41). Como conseqüência, um aumento da prevalência de endotoxemia em pacientes cirróticos é observado (42) e a relação entre a presença de marcadores de endotoxemia, alterações hemodinâmicas e prognóstico tem sido demonstrada (43). De uma forma geral, citocinas pró-inflamatórias são liberadas na circulação sistêmica após o reconhecimento de produtos bacterianos pelo receptor de monócito CD14 e são essenciais para uma adequada resposta contra infecções. No entanto, a liberação inadequada de citocinas está associada a altas taxas de mortalidade e os níveis séricos de vários destes mediadores já foram relacionados ao prognóstico de diferentes entidades clínicas (44-46).

Alguns estudos relacionaram os níveis séricos de diversas citocinas à presença de cirrose e também com a gravidade e prognóstico. Níveis séricos mais elevados de TNF- α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10,

interferon- γ (IFN- γ) e TGF- β especialmente nas formas descompensadas da doença, foram relatados em estudos prévios (47-57). Alguns destes marcadores, como o TNF- α , IL-6, IL-10 e IFN- γ , foram relacionados à mortalidade em cirróticos (52, 54-55). Ainda que estes marcadores apresentem uma estreita relação com a presença de infecção, níveis elevados parecem ocorrer em pacientes cirróticos também sem evidências de infecção (58-60). É provável que isto se deva a um estado inflamatório crônico relacionado à cirrose. Os efeitos das citocinas pró-inflamatórias nos vasos e na própria função hepática poderiam influenciar a história natural da cirrose, com maiores níveis destes mediadores em indivíduos com pior prognóstico.

JUSTIFICATIVA:

Pacientes portadores de cirrose hepática apresentam um grande espectro de distúrbios metabólicos, e a interação entre os diferentes aspectos destas alterações ainda não se encontra completamente estabelecida. Apesar da associação demonstrada na literatura entre resistência insulínica e cirrose, estudos mostram níveis de adiponectinas mais elevados nos cirróticos do que nos controles. Apesar de ainda não existirem estudos neste sentido, estes achados podem ao menos ser explicados pela associação com a desnutrição protéico-calórica comumente observada nestes indivíduos. De forma semelhante, as alterações no metabolismo ósseo, especialmente com relação a os níveis de vitamina D, podem ser explicadas pela própria doença hepática ou por interações com fatores nutricionais, resistência insulínica e inflamação crônica. Esta última, apesar de já ter sido demonstrada em

indivíduos cirróticos, ainda carece de um melhor detalhamento, já que a sua relação com a endotoxemia e, principalmente, com as alterações meta

OBJETIVOS:

Objetivo Geral

Estudar marcadores de inflamação e disfunção endotelial em cirróticos acompanhados ambulatorialmente, relacionando-os às alterações metabólicas e nutricionais.

Objetivos Específicos

- Estimar a incidência de complicações da cirrose, taxa de internações hospitalares e mortalidade por causa hepática em seis meses;
- Estimar a prevalência e significado da desnutrição protéico-calórica em cirróticos;
- Estimar a prevalência da resistência insulínica em cirróticos, relacionando a sua presença a variáveis relacionadas ao estado nutricional, inflamação crônica e disfunção endotelial;
- Estudar os níveis séricos de adiponectina em cirróticos, investigando seu papel no prognóstico e o impacto das características nutricionais sobre a concentração sérica destes marcador;
- Avaliar a relação entre os níveis séricos de adiponectina e a dosagem de ácidos biliares totais;

- Investigar a prevalência e significado das alterações nos níveis de vitamina D, PTH e cálcio em portadores de cirrose hepática;
- Estudar o significado dos níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 em pacientes portadores de cirrose hepática acompanhados ambulatorialmente;
- Estudar os níveis séricos de citocinas relacionadas à resposta inflamatória (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α e VEGF) como marcadores prognósticos nestes indivíduos e os fatores associados à sua concentração sérica;
- Investigar os níveis séricos de marcadores de disfunção endotelial (fator de Von Willebrand, E-selectina, P-selectina, Ativador do plasminogênio tecidual) como marcadores prognósticos nestes indivíduos e os fatores associados à sua concentração sérica;

MÉTODOS:

Tipo de estudo:

Estudo de coorte prospectivo.

População e amostragem:

Serão considerados elegíveis os pacientes maiores que 18 anos e com diagnóstico de cirrose em acompanhamento regular no Serviço de Gastroenterologia do Hospital Universitário da UFSC, atendidos no período de abril de 2012 a abril de 2013. Serão excluídos os indivíduos com diagnóstico duvidoso de cirrose hepática ou aqueles que se recusarem a participar. Os participantes serão incluídos consecutivamente. O diagnóstico de cirrose hepática será estabelecido por histologia (quando disponível), ou pela combinação de achados de exames de imagem (ultrassonografia, tomografia computadorizada ou ressonância magnética), achados laboratoriais e clínicos. O tamanho da amostra foi estimado em 170 indivíduos, considerando avaliação da média dos parâmetros estudados em dois grupos independentes por testes bi-caudais (teste t), $\alpha = 0,05$, poder = 0,80, “effect size” (tamanho do efeito) = 0,50 e mortalidade estimada = 25%. Para cálculo do tamanho amostral foi utilizado o programa G*Power 3.1.3 que utiliza o método descrito por Cohen.

Procedimentos:

Os pacientes que aceitarem participar da pesquisa serão submetidos a um questionário de avaliação clínica e exame físico convencional após sua consulta ambulatorial de rotina. Os exames serão

anotados e serão armazenadas amostras de soro em freezer a -80°C , coletadas em conjunto com os exames de rotina necessários para a avaliação dos casos. Os exames referentes especificamente a este estudo serão feitos posteriormente nestas amostras estocadas de soro. Será feito contato telefônico mensal para averiguação do estado de saúde do paciente e nova avaliação clínica e laboratorial com os mesmos exames da avaliação inicial seis meses após a inclusão. Dados a respeito da ocorrência de internações hospitalares, descompensações da doença (ascite, encefalopatia hepática, hemorragia digestiva alta secundária à hipertensão portal, peritonite bacteriana espontânea, síndrome hepatorenal), transplante hepático ou óbito também serão avaliados.

Variáveis em estudo:

Detalhes sobre as variáveis em estudo podem ser obtidos no instrumento de coleta de dados (Anexo I).

Variáveis clínicas e epidemiológicas:

As seguintes variáveis clínicas e epidemiológicas serão estudadas: idade, sexo, causa da cirrose hepática, tempo de diagnóstico, complicações atuais, complicações anteriores, uso de diuréticos, uso de beta-bloqueadores, outras medicações, doenças associadas, antecedentes cirúrgicos, etilismo atual ou progresso (Anexo II), tabagismo atual ou progresso, uso de drogas ilícitas.

Variáveis de exame físico e sinais vitais:

Os pacientes serão submetidos a exame físico para avaliação dos seguintes aspectos: peso, altura, presença de telangiectasias, eritema

palmar, icterícia, circulação colateral, ascite clinicamente evidente, edema de membros inferiores. Os dados referentes à pressão arterial (PAS, PAD e PAM), frequência cardíaca e respiratória serão anotados.

Diagnóstico da encefalopatia hepática:

A encefalopatia hepática será graduada segundo os Critérios de West Haven (Anexo III).

Variáveis laboratoriais:

Os exames de rotina serão anotados e amostras de soro serão armazenadas em freezer a -80°C , coletadas em conjunto com os exames de rotina necessários para a avaliação dos casos (na primeira consulta e no sexto mês). Os exames referentes especificamente a este estudo serão feitos posteriormente (após a aquisição dos kits) nestas amostras estocadas de soro.

Exames de rotina:

- Hemograma (hemoglobina, hematócrito, leucometria total, neutrófilos, plaquetas), sódio, potássio, uréia, creatinina, tempo e atividade de protrombina, RNI, glicemia de jejum, insulina de jejum, colesterol total e frações, triglicerídeos, hemoglobina glicada, TSH, T3, T4, proteína C reativa, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, gama-glutamilttransferase, fosfatase alcalina, bilirrubinas totais e frações, albumina, Fator do Crescimento do Tipo Insulina I (IGF-I), Proteína ligadora 3 do IGF (IGFBP-3), cálcio total e paratormônio (PTH);

Exames específicos do projeto:

- Adiponectina: níveis séricos determinados por ELISA (AbFrontier Inc);
- Ácidos biliares totais: método colorimétrico (Diazyme Lab);
- 25OHD (Vitamina D): Ensaio imunométrico quimioluminescente, da Abbot (Abbott Laboratories. Abbott Park, Illinois, U.S.A);
- Citocinas relacionadas à resposta inflamatória (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α e VEGF) serão detectados simultaneamente em plataforma de tecnologia Luminex®, por meio do kit Human Inflammation Multiplex Kit® (R&D Systems, Inc).
- Óxido nítrico: aferição baseada na conversão enzimática do nitrato em nitrito pela nitrato redutase. A reação é seguida pela detecção colorimétrica do nitrato como um produto azo da reação de Griess (Kit comercial Parameter R&D Systems). Teste será realizado em duplicata conforme orientação do fabricante.
- Fator de Von Willebrand: níveis séricos detectados por ELISA (Kit VWF Human ELISA kit – Abnova). Teste será realizado em duplicata conforme orientação do fabricante.
- E-selectina, P-selectina e fator ativador do plasminogênio tecidual: seus níveis serão determinados por ELISA (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA).

Modelos prognósticos:

- MELD (Model for End-Stage Liver Disease) =

$10 \times (0,957 \text{ Lncreatinina}[\text{mg/dl}] + 0,378 \text{ Lnbilirrubina total}[\text{mg/dl}] + 1,12 \text{ LnRNI} + 0,643)$

- Escore de Child-Pugh: vide Anexo IV.

Avaliação nutricional:

Os seguintes parâmetros serão estudados para avaliação nutricional:

- Parâmetros antropométricos: peso, altura, índice de massa corporal, circunferência muscular do braço, espessura da dobra cutânea.
- Bioimpedanciometria.

Todos os testes serão realizados por um único examinador previamente treinado.

Metodologia de análise dos dados:

As variáveis serão descritas com medidas de tendência central e dispersão, no caso de variáveis contínuas. As variáveis categóricas serão descritas em números absolutos e proporções. As variáveis contínuas serão comparadas através dos testes *t* de Student ou Mann-Whitney quando apropriado. As variáveis categóricas serão avaliadas pelo teste qui-quadrado. Os coeficientes de correlação de Pearson ou Spearman serão utilizados para avaliar a presença de correlação entre variáveis contínuas, conforme apropriado. Análise de regressão logística múltipla será realizada para identificar os fatores associados de forma independente aos desfechos primários (óbito em seis meses) e

secundários (internações hospitalares e/ou desenvolvimento de complicações da cirrose). A acurácia das variáveis em prever mortalidade ou a ocorrência de internações e complicações, bem como a escolha de pontos de corte será feita por curvas ROC. Serão calculadas sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos para os pontos de corte escolhidos. Valores de p menores que 0,05 serão considerados estatisticamente significativos. Todos os testes utilizados serão bi-caudais e executados pelo programa estatístico SPSS, versão 17.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

Aspectos éticos:

O presente estudo está em conformidade com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/1996. O TCLE será oferecido a todos os candidatos à participação no estudo. Será 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. Os riscos aos participantes são considerados mínimos, não havendo risco de morbidade significativa ou óbito relacionados a este estudo. Os dados de identificação dos sujeitos serão mantidos em sigilo. A coleta de dados só será iniciada após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Os dados obtidos serão armazenados em arquivo próprio localizado em uma sala de uso restrito. Esta sala se localiza no terceiro andar do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Para que a identidade dos indivíduos seja respeitada, será realizada codificação nas fichas cadastrais. Apenas os pesquisadores

envolvidos terão acesso aos bancos de dados resultantes desta pesquisa. Não há qualquer cláusula restritiva quanto à divulgação pública dos resultados e estes serão tornados públicos, sejam eles favoráveis ou não e a confidencialidade dos indivíduos envolvidos será respeitada. Os seguintes pesquisadores terão acesso aos dados: Leonardo de Lucca Schiavon, Janaína Luz Narciso Schiavon, Esther B. Dantas Correa, Telma Erotides da Silva e Mariana Costa Silva.

ORÇAMENTO:

Material de Custeio:

- Kit para dosagem de adiponectina:

| | Valor unitário | Valor total p/ 4 kits |
|-------------------|-----------------------|------------------------------|
| Kits c/ 96 testes | 2.100,00 | 8.400,00 |
| Total | | 8.400,00 |

- Kit para dosagem de ácidos biliares:

| | Valor unitário | Valor total p/ 1 kit |
|--------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Kits p/200 testes* | 2.700,00 | 2.700,00 |
| Total | | 2.700,00 |

* aproximadamente

- Kit para dosagem de vitamina D:

| | Valor unitário | Valor total p/ 4 kits |
|-------------------|-----------------------|------------------------------|
| Kits c/ 96 testes | 1.600,00 | 6.400,00 |
| Total | | 6.400,00 |

- Kit para dosagem de citocinas relacionadas à resposta inflamatória:

| Human Inflammation Multiplex Kit (R&D Systems, Inc) | Valor Unitário | Valor total (2 kits) |
|--|-----------------------|-----------------------------|
| | R\$ 9.900,00 | R\$ 19,800,00 |

- Kit para dosagem óxido nítrico:

| | Valor unitário | Valor total p/ 3 kits |
|------------------|-----------------------|------------------------------|
| Kit c/ 96 testes | 2.500,00 | 7.500,00 |
| Total | | 7.500,00 |

- Kit para dosagem de Fator de Von Willebrand:

| | Valor unitário | Valor total p/ 3 kits |
|------------------|-----------------------|------------------------------|
| Kit c/ 96 testes | 3.000,00 | 9.000,00 |
| Total | | 9.000,00 |

- Kit para dosagem de e-selectina:

| | Valor unitário | Valor total p/ 3 kits |
|------------------|-----------------------|------------------------------|
| Kit c/ 96 testes | 2.400,00 | 7.200,00 |
| Total | | 7.200,00 |

- Kit para dosagem de P-selectina:

| | Valor unitário | Valor total p/ 3 kits |
|------------------|-----------------------|------------------------------|
| Kit c/ 96 testes | 2.400,00 | 7.200,00 |
| Total | | 7.200,00 |

- Kit para dosagem de fator ativador do plasminogênio tecidual:

| | Valor unitário | Valor total p/ 3 kits |
|------------------|-----------------------|------------------------------|
| Kit c/ 96 testes | 2.733,00 | 8.200,00 |

| | | |
|--------------|--|----------|
| Total | | 8.200,00 |
|--------------|--|----------|

Total Orçamento:

| | |
|--------------------|------------------|
| Subtotal | 73.700,00 |
| TOTAL GERAL | 73.700,00 |

Fonte de recursos:

- Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica do Estado de Santa Catarina (FAPESC) - projetos 2448/2011-1 e 2450/2011-3.

- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - projetos 479801/2011-8 e 475738/2011-0.

REFERÊNCIAS BIBLIORÁFICAS:

1. Gines P, Quintero E, Arroyo V, Teres J, Bruguera M, Rimola A, Caballeria J, et al. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. *Hepatology* 1987;7:122-128.
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;44:217-231.
3. Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg* 1964;1:1-85.
4. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973;60:646-649.
5. Fernandez-Esparrach G, Sanchez-Fueyo A, Gines P, Uriz J, Quinto L, Ventura PJ, Cardenas A, et al. A prognostic model for predicting survival in cirrhosis with ascites. *J Hepatol* 2001;34:46-52.
6. Merkel C, Zoli M, Siringo S, van Buuren H, Magalotti D, Angeli P, Sacerdoti D, et al. Prognostic indicators of risk for first variceal bleeding in cirrhosis: a multicenter study in 711 patients to validate and improve the North Italian Endoscopic Club (NIEC) index. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2915-2920.
7. Glud C, Henriksen JH, Nielsen G. Prognostic indicators in alcoholic cirrhotic men. *Hepatology* 1988;8:222-227.
8. Planas R, Balleste B, Alvarez MA, Rivera M, Montoliu S, Galeras JA, Santos J, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *J Hepatol* 2004;40:823-830.

9. van Dam GM, Gips CH, Reisman Y, Maas KW, Purmer IM, Huizenga JR, Verbaan BW. Major clinical events, signs and severity assessment scores related to actual survival in patients who died from primary biliary cirrhosis. A long-term historical cohort study. *Hepatology* 1999;46:108-115.
10. Shetty K, Rybicki L, Carey WD. The Child-Pugh classification as a prognostic indicator for survival in primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1997;25:1049-1053.
11. Zeitoun G, Escolano S, Hadengue A, Azar N, El Younsi M, Mallet A, Boudet MJ, et al. Outcome of Budd-Chiari syndrome: a multivariate analysis of factors related to survival including surgical portosystemic shunting. *Hepatology* 1999;30:84-89.
12. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology* 2000;31:864-871.
13. Freeman RB, Jr., Edwards EB. Liver transplant waiting time does not correlate with waiting list mortality: implications for liver allocation policy. *Liver Transpl* 2000;6:543-552.
14. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, D'Amico G, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001;33:464-470.
15. 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;124:91-96.

16. Freeman RB, Wiesner RH, Edwards E, Harper A, Merion R, Wolfe R. Results of the first year of the new liver allocation plan. *Liver Transpl* 2004;10:7-15.
17. Myers RP, Shaheen AA, Aspinall AI, Quinn RR, Burak KW. Gender, renal function, and outcomes on the liver transplant waiting list: Assessment of revised MELD including estimated glomerular filtration rate. *J Hepatol* 2010.
18. DiCecco SR, Wieners EJ, Wiesner RH, Southorn PA, Plevak DJ, Krom RA. Assessment of nutritional status of patients with end-stage liver disease undergoing liver transplantation. *Mayo Clin Proc* 1989;64:95-102.
19. Mendenhall CL, Anderson S, Weesner RE, Goldberg SJ, Cronic KA. Protein-calorie malnutrition associated with alcoholic hepatitis. Veterans Administration Cooperative Study Group on Alcoholic Hepatitis. *Am J Med* 1984;76:211-222.
20. Alberino F, Gatta A, Amodio P, Merkel C, Di Pascoli L, Boffo G, Caregaro L. Nutrition and survival in patients with liver cirrhosis. *Nutrition* 2001;17:445-450.
21. Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, Byth K, Kench JG, McCaughan GW, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression [corrected]. *Gastroenterology* 2003;125:1695-1704.
22. White DL, Ratziu V, El-Serag HB. Hepatitis C infection and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2008;49:831-844.
23. Nkontchou G, Bastard JP, Ziol M, Aout M, Cosson E, Ganne-Carrie N, Grando-Lemaire V, et al. Insulin resistance, serum leptin, and

adiponectin levels and outcomes of viral hepatitis C cirrhosis. *J Hepatol* 2010;53:827-833.

24. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:911-919; quiz 920.

25. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol* 2011;17:2801-2811.

26. Latif HA, Assal HS, Mahmoud M, Rasheed WI. Role of serum adiponectin level in the development of liver cirrhosis in patients with hepatitis C virus. *Clin Exp Med* 2011;11:123-129.

27. Dervisoglu E, Eraldemir C, Kalender B, Kir HM, Caglayan C. Adipocytokines leptin and adiponectin, and measures of malnutrition-inflammation in chronic renal failure: is there a relationship? *J Ren Nutr* 2008;18:332-337.

28. Jung RT, Davie M, Siklos P, Chalmers TM, Hunter JO, Lawson DE. Vitamin D metabolism in acute and chronic cholestasis. *Gut* 1979;20:840-847.

29. Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:513-520.

30. Collier J. Bone disorders in chronic liver disease. *Hepatology* 2007;46:1271-1278.

31. Shiomi S, Nishiguchi S, Kubo S, Tamori A, Habu D, Takeda T, Ochi H. Vitamin K2 (menatetrenone) for bone loss in patients with cirrhosis of the liver. *Am J Gastroenterol* 2002;97:978-981.

32. Kurihara N, Roodman GD. Interferons-alpha and -gamma inhibit interleukin-1 beta-stimulated osteoclast-like cell formation in long-term human marrow cultures. *J Interferon Res* 1990;10:541-547.
33. Juul A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Horm IGF Res* 2003;13:113-170.
34. Arany E AS, Strain AJ, et al. Differential cellular synthesis of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and IGFBP-3 within human liver. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994;79:1871-1876.
35. Chin E ZJ, Dai J, et al. Cellular localization and regulation of gene expression for components of the insulin-like growth factor ternary binding protein complex. *Endocrinology* 1994;134:2498-2504.
36. Wu YL YJ, Zhang S, et al. Clinical significance of serum IGF-I, IGF-II and IGFBP-3 in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2004;10:2740-2743.
37. Onder C BT, Gul C, Servet K, Fulya AO, Belks U. 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;18:145-149.
38. La Mura V, Reverter JC, Flores-Arroyo A, Raffa S, Reverter E, Seijo S, Abraldes JG, et al. Von Willebrand factor levels predict clinical outcome in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Gut* 2011;60:1133-1138.
39. Lisman T, Leebeek FW, de Groot PG. Haemostatic abnormalities in patients with liver disease. *J Hepatol* 2002;37:280-287.

40. Iwakiri Y. The molecules: mechanisms of arterial vasodilatation observed in the splanchnic and systemic circulation in portal hypertension. *J Clin Gastroenterol* 2007;41 Suppl 3:S288-294.
41. Navasa M, Rimola A, Rodes J. Bacterial infections in liver disease. *Semin Liver Dis* 1997;17:323-333.
42. Tilg H, Wilmer A, Vogel W, Herold M, Nolchen B, Judmaier G, Huber C. Serum levels of cytokines in chronic liver diseases. *Gastroenterology* 1992;103:264-274.
43. Albillos A, de la Hera A, Gonzalez M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, Ruiz-del-Arbol L, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology* 2003;37:208-217.
44. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis* 2000;181:176-180.
45. Chen CC, Wang SS, Lee FY, Chang FY, Lee SD. Proinflammatory cytokines in early assessment of the prognosis of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1999;94:213-218.
46. Tejera A, Santolaria F, Diez ML, Aleman-Valls MR, Gonzalez-Reimers E, Martinez-Riera A, Milena-Abril A. Prognosis of community acquired pneumonia (CAP): value of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) and other mediators of the inflammatory response. *Cytokine* 2007;38:117-123.
47. Lin SY, Wang YY, Sheu WH. Increased serum soluble tumor necrosis factor receptor levels are associated with insulin resistance in liver cirrhosis. *Metabolism* 2004;53:922-926.

48. Riordan SM, Skinner N, Nagree A, McCallum H, McIver CJ, Kurtovic J, Hamilton JA, et al. Peripheral blood mononuclear cell expression of toll-like receptors and relation to cytokine levels in cirrhosis. *Hepatology* 2003;37:1154-1164.
49. Daniluk J, Szuster-Ciesielska A, Drabko J, Kandefler-Szerszen M. Serum cytokine levels in alcohol-related liver cirrhosis. *Alcohol* 2001;23:29-34.
50. Elsing C, Harenberg S, Stremmel W, Herrmann T. Serum levels of soluble Fas, nitric oxide and cytokines in acute decompensated cirrhotic patients. *World J Gastroenterol* 2007;13:421-425.
51. Flisiak R, Pytel-Krolczuk B, Prokopowicz D. Circulating transforming growth factor beta(1) as an indicator of hepatic function impairment in liver cirrhosis. *Cytokine* 2000;12:677-681.
52. Giron-Gonzalez JA, Martinez-Sierra C, Rodriguez-Ramos C, Macias MA, Rendon P, Diaz F, Fernandez-Gutierrez C, et al. Implication of inflammation-related cytokines in the natural history of liver cirrhosis. *Liver Int* 2004;24:437-445.
53. Wang SS, Lee FY, Chan CC, Lu RH, Chao Y, Lin HC, Wu SL, et al. Sequential changes in plasma cytokine and endotoxin levels in cirrhotic patients with bacterial infection. *Clin Sci (Lond)* 2000;98:419-425.
54. Berres ML, Schnyder B, Yagmur E, Inglis B, Stanzel S, Tischendorf JJ, Koch A, et al. Longitudinal monocyte human leukocyte antigen-DR expression is a prognostic marker in critically ill patients with decompensated liver cirrhosis. *Liver Int* 2009;29:536-543.
55. Spahr L, Garcia I, Bresson-Hadni S, Rubbia-Brandt L, Guler R, Olleros M, Chvatchko Y, et al. Circulating concentrations of interleukin-

18, interleukin-18 binding protein, and gamma interferon in patients with alcoholic hepatitis. *Liver Int* 2004;24:582-587.

56. Zuwala-Jagiello J, Pazgan-Simon M, Simon K, Warwas M. Advanced oxidation protein products and inflammatory markers in liver cirrhosis: a comparison between alcohol-related and HCV-related cirrhosis. *Acta Biochim Pol* 2011;58:59-65.

57. Navasa M, Follo A, Filella X, Jimenez W, Francitorra A, Planas R, Rimola A, et al. Tumor necrosis factor and interleukin-6 in spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: relationship with the development of renal impairment and mortality. *Hepatology* 1998;27:1227-1232.

58. Tilg H, Vogel W, Wiedermann CJ, Shapiro L, Herold M, Judmaier G, Dinarello CA. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists in liver disease. *Hepatology* 1993;18:1132-1138.

59. Diez-Ruiz A, Tilz GP, Gutierrez-Gea F, Gil-Extremera B, Murr C, Wachter H, Fuchs D. Neopterin and soluble tumor necrosis factor receptor type I in alcohol-induced cirrhosis. *Hepatology* 1995;21:976-978.

60. Zeni F, Tardy B, Vindimian M, Comtet C, Page Y, Cusey I, Bertrand JC. High levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in the ascitic fluid of cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Infect Dis* 1993;17:218-223.

ANEXO B – Projeto de Pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética

PROCOLO APROVADO PELO COMITE DE ÉTICA/ UFSC

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

PROJETO DE PESQUISA

Pesquisador: Leonardo de Lucca Schiavon

Título: INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM
PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA:

IMPACTO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E NUTRICIONAIS

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Versão: 2

CAAE: 01062212.4.0000.0121

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 28074

Data da Relatoria: 28/05/2012

PROJETO DE PESQUISA

Área Temática:

Apresentação do Projeto:

O objetivo do presente estudo é estudar marcadores de inflamação e disfunção endotelial em cirróticos acompanhados ambulatorialmente, relacionando-os às alterações metabólicas e nutricionais. Será realizado um estudo de coorte prospectivo que incluirá consecutivamente indivíduos portadores de cirrose hepática em acompanhamento ambulatorial. O tamanho da amostra é estimado em 170 pacientes. Espera-se identificar marcadores prognósticos em portadores de cirrose

e também uma melhor compreensão da interação entre os aspectos metabólicos e variáveis relacionadas à inflamação e disfunção endotelial nestes pacientes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral

Estudar marcadores de inflamação e disfunção endotelial em cirróticos acompanhados ambulatorialmente, relacionando-os às alterações metabólicas e nutricionais.

Objetivos Específicos

- Estimar a incidência de complicações da cirrose, taxa de internações hospitalares e mortalidade por causa hepática em seis meses;
- Estimar a prevalência e significado da desnutrição protéico-calórica em cirróticos;
- Estimar a prevalência da resistência insulínica em cirróticos, relacionando a sua presença a variáveis relacionadas ao estado nutricional, inflamação crônica e disfunção endotelial;
- Estudar os níveis séricos de adiponectina em cirróticos, investigando seu papel no prognóstico e o impacto das características nutricionais sobre a concentração sérica destes marcadores;
- Investigar a prevalência e significado das alterações nos níveis de vitamina D, PTH e cálcio em portadores de cirrose hepática;
- Estudar o significado dos níveis séricos de IGF-I e IGFBP-3 em pacientes portadores de cirrose hepática acompanhados ambulatorialmente;
- Estudar os níveis séricos de citocinas relacionadas à resposta inflamatória (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α e VEGF) como marcadores prognósticos nestes indivíduos e os fatores associados à sua concentração sérica;
- Investigar os níveis séricos de marcadores de disfunção endotelial (fator de Von Willebrand, E-selectina, Pselectina, Ativador do

plasminogênio tecidual) como marcadores prognósticos nestes indivíduos e os fatores associados à sua concentração sérica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos aos participantes são aqueles relacionados a coleta de sangue por punção venosa.

No Relatório da Pesquisa consta que não há benefícios direto para o participante. Entretanto, são apontados possíveis benefícios quanto ao tratamento da cirrose hepática.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto de pesquisa está bem elaborado, justifica e fundamenta a investigação. As questões éticas estão discutidas e contemplam as exigências da Resolução CNS n. 196/96.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos: Projeto de Pesquisa; Folha de Rosto da CONEP; Declaração de anuência da instituição onde serão coletados os dados; TCLE; Resposta ao parecer anterior do Comitê de Ética.

- Na Resposta ao parecer anterior do Comitê de Ética, o pesquisador responsável - Leonardo de Lucca Schiavon

- informa que o Regulamento correspondente ao Protocolo de Desenvolvimento do banco de material biológico humano, exigido pela Resolução CNS nº 441/2011, não foi anexado porque a Direção Geral do Hospital Universitário não respondeu a solicitação para implantação de tal regulamento feita pelo pesquisador no ano de 2010. Assim, o pesquisador optou por reformular o Projeto de Pesquisa e os demais documentos retirando a proposta da criação do biobanco e reapresentou o projeto ao Comitê de Ética.

Ressalta-se que a criação do biobanco é relevante para as pesquisas na área visto que permitiria novas análises e novas pesquisas, minimizando os custos e o desconforto para os sujeitos envolvidos.

- O TCLE está redigido de forma adequada e esclarece os sujeitos da pesquisa nos termos exigidos pela Resolução CNS n. 196/96.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Situação do Parecer:

Aprovado

FLORIANOPOLIS, 28 de Maio de 2012

Assinado por:

Washington Portela de Souza

ANEXO C – Emenda do projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA: IMPACTO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E NUTRICIONAIS

Pesquisador: Leonardo de Lucca Schiavon

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 01062212.4.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLOGICO

FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA E INOVACAO DO ESTADO DE SANTA CATARINA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 717.557

Data da Relatoria: 14/07/2014

Apresentação do Projeto:

O presente parecer trata de uma emenda ao projeto de pesquisa "INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA: IMPACTO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E NUTRICIONAIS".

Objetivo da Pesquisa:

Objetivos Específicos

- Estimar a incidência de complicações da cirrose, taxa de internações hospitalares e mortalidade por causa hepática em 6, 12 e 24 meses;
- Investigar a relação entre os biomarcadores relacionados ao processo inflamatório (pentraxina-3, neopterina e triptase) e a endotoxemia, gravidade e prognóstico na cirrose;

- Avaliar os fatores associados aos níveis de neopítopos de proteínas da matriz extracelular (BGM, C3M, C4M, ELM, P3NP, P4NP7S) e o seu papel como marcadores prognósticos na cirrose;
- Estudar os níveis séricos de leptina, resistina, visfatina, RBP4, vaspina, omentina e chemerina e adipina em cirróticos, investigando seu papel no controle metabólico em pacientes com cirrose hepática e os fatores associados à sua concentração sérica;
- Estudar a relação entre os níveis de miRNAs e a gravidade e prognóstico na cirrose.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos aos participantes são considerados mínimos, não havendo risco de morbidade significativa ou óbito relacionados a este estudo. Como o estudo envolve coleta de sangue por punção venosa, podem ocorrer hematomas no local da punção.

Benefícios:

Não há benefício direto para o participante.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Segue na sequência emenda apresentada pelo pesquisador:

O pesquisador solicitou ajuste de cronograma, inclusão de grupo controle e o acréscimo das seguintes variáveis laboratoriais ao projeto acima referido: triptase, pentaxina-3, neopterina, bliglican degradado por MMP9 (BGM), colágenos tipo III e IV degradados por MMP2/9/13 (C3M, C4M), elastina degradada por MMP12 (ELM), pro-colágenos III (P3NP), domínio colágeno IV 7S (P4NP7S), leptina, resistina, visfatina, proteína 4 ligadora retinol (RBP4), vaspina, omentina, chemerina, adipina, hepcidina e fator de crescimento tumoral-beta (TGF-). Além disso, será realizada também a análise dos níveis de miRNAs como potenciais biomarcadores na cirrose.

O estudo está atualmente em andamento e foram incluídos na avaliação 139 pacientes após nova estimativa de tamanho da amostra. Ao longo de 2014 está prevista a reavaliação destes indivíduos. Nesta avaliação, conforme previsto no projeto original, serão realizados exames laboratoriais. Desta forma solicitamos a inclusão de novos testes conforme a justificativa em anexo. Além disso, como estamos testando o papel de novos biomarcadores na cirrose, com fundamento teórico e embasados em estudos experimentais, porém ainda sem estudos em

portadores de doenças hepáticas, também solicitamos a inclusão de grupo controle conforme especificado abaixo.

As variáveis incluídas compreendem exames laboratoriais que podem ser divididos em quatro grupos:

1) marcadores relacionados ao processo inflamatório (tripase, pentraxina-3 e neopterinina): a importância dos marcadores inflamatórios já foi previamente descrita no projeto.

2) neoepítos de proteínas da matriz extracelular (BGM, C3M, C4M, ELM, P3NP, P4NP7S): Na cirrose, a hipertensão portal é consequência de um aumento da resistência hepática e está indiretamente relacionada ao processo de fibrogênese. Os neoepítos de proteínas da matriz são marcadores relacionados a esse processo e que foram relacionados à maior gravidade da doença hepática.

3) adipocinas: a inclusão destas variáveis para estudar os diferentes aspectos relacionados à função do tecido adiposo no paciente com cirrose hepática. Conforme descrito no projeto original, as adipocinas são produtos secretados pelo tecido adiposo que desempenham um papel importante na homeostase energética, sensibilidade à insulina, resposta imunológica e doença vascular. Além da adiponectina já estudada neste projeto, as adipocinas supra-citadas já foram envolvidas nos mecanismos de lesão e reparo hepático. Ainda assim, não surpreendentemente, os resultados são controversos e demonstram a complexidade inerente das adipocinas. Estas variáveis serão relacionadas às variáveis já propostas anteriormente, e poderão vir a ser novos marcadores de inflamação e gravidade da doença hepática. Este grupo de moléculas representa, ainda, um alvo para o desenvolvimento de novas terapias nas doenças hepáticas, justificando a ampliação de abordagem solicitada nesta emenda.

4) MiRNAs: os miRNAs consistem em sequências pequenas de RNA não codificantes, de 19–24 nucleotídeos que regulam a expressão de genes pelo pareamento de bases com a região 3'-não traduzida do miRNA de um gene alvo levando a degradação ou repressão da tradução do respectivo gene. MiRNAs estão envolvidos em vários eventos biológicos, sendo a desregulação destes associada a doenças graves.

Além disso, será necessária nova prorrogação do período de inclusão de pacientes uma vez que houve atraso do cronograma proposto originalmente e a inclusão das novas avaliações leva à necessidade de readequação operacional.

Sendo assim, será elaborado, ainda, um novo termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (em anexo), que será produzido em 2 vias,

sendo uma delas entregue ao sujeito da pesquisa antes da coleta de dados. Será necessário novo TCLE, pois os pacientes já foram avaliados e assinaram o termo referente à primeira etapa do projeto. Portanto, para as modificações propostas, uma nova autorização será solicitada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos estão de acordo com o solicitado pelo CEPESH apresentando o pesquisador com clareza, os objetivos, justificativa técnica, metodologia e TCLE adequado a emenda.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendamos a emenda para aprovação não havendo inadequações ou nada que impeça a continuidade da pesquisa.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

FLORIANOPOLIS, 14 de Julho de 2014

Washington Portela de Souza
(Coordenador)

ANEXO D – Relatório parcial enviado ao CEPESH- UFSC

UNIVERSIDADE FEDERAL SANTA CATARINA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

Relatório Parcial

Data de entrada do projeto no CEP: 28/05/2012

Data de apresentação do Relatório: 01/02/2018

1) Título do Projeto:

INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA: IMPACTO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E NUTRICIONAIS

2) Nome do Pesquisador Responsável:

LEONARDO DE LUCCA SCHIAVON

3) Nome do Pesquisador Principal:

LEONARDO DE LUCCA SCHIAVON

4) Registro no CEP:

28074 e 717557

5) Relatório referente ao período:

28/05/12 A 01/02/2018

6) Área de Conhecimento

CIÊNCIAS MÉDICAS

7) Etapa atual de desenvolvimento

Projeto está na etapa de finalização de seguimento dos pacientes incluídos e análise dos resultados.

8) Atividades desenvolvidas e resultados obtidos

Avaliação da coorte como um todo:

Estudo de coorte prospectivo que incluiu 191 pacientes avaliados no período entre junho de 2012 a fevereiro de 2014. A média de idade foi de $54,39 \pm 12,53$ anos, sendo 68,6% do sexo masculino com MELD médio de $10,11 \pm 2,52$. Quanto à classificação de Child-Pugh, 63,9%, 30,4% e 5,8% foram classificados como A, B ou C, respectivamente. A etiologia da cirrose foi alcoólica em 30,4% e hepatite C em 31,9%. Os pacientes foram seguidos por uma mediana de 18 meses. Durante o período houve descompensação da doença hepática em 30 pacientes (15,7%), transplante em 11 pacientes (5,8%) e óbito em 14 pacientes (7,3%). Hepatocarcinoma ocorreu em 7 pacientes (5,1%). Na análise bivariada, evolução para eventos hepáticos (hospitalização por descompensação, óbito ou transplante) foi associada à diabetes ($P = 0,051$), descompensação prévia ($P = 0,007$), presença de varizes esofágicas ($P = 0,014$), Child-Pugh B/C ($P < 0,001$), maior MELD ($P < 0,001$), bilirrubina total ($P < 0,001$), RNI ($P = 0,020$) e menores níveis de albumina ($P < 0,001$). Na análise de regressão de Cox menor tempo de sobrevivida livre de evento foi associada de forma independente a menores níveis de albumina (OR 0,352, IC95% 0,185-0,671, $P = 0,002$), varizes de esôfago (OR 2,901, IC95% 1,033-8,152, $P = 0,034$) e Child-Pugh B/C (OR 2,135, IC95% 1,074-4,244, $P = 0,030$).

Resultados obtidos em subprojetos:

Proteína ligadora tipo 3 do fator de crescimento símile à insulina tipo I (IGFBP3) como marcadora de prognóstico na cirrose hepática:

Introdução: IGFBP3 circulante está reduzida na cirrose e seus níveis parecem se relacionar à intensidade da disfunção hepática. Entretanto, dados a respeito do seu significado prognóstico ainda são escassos. Objetivos: Estudar o significado prognóstico dos níveis de IGFBP3 em cirróticos estáveis e em pacientes hospitalizados por descompensação aguda da doença. Material e métodos: Estudo prospectivo que incluiu duas coortes: (1) pacientes cirróticos estáveis em acompanhamento ambulatorial (n = 138); (2) pacientes hospitalizados por descompensação aguda (n = 189). IGFBP3 foi mensurada por imunoenquimioluminescência. Resultados: A mediana de IGFBP3 foi significativamente mais baixa nos pacientes hospitalizados em relação aos estáveis (0,94 mcg/mL vs. 1,69 mcg/mL, $P < 0,001$). Nos pacientes estáveis, níveis mais baixos de IGFBP3 foram associados a descompensação prévia e Child-Pugh B/C. Os cirróticos estáveis foram seguidos por uma mediana de 20 meses (17 óbitos e 10 transplantes). Na análise bivariada, evolução para morte ou transplante foi associada a menores níveis de IGFBP3 (1,44 mcg/mL vs. 1,74 mcg/mL, $P = 0,027$). A probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier foi 88,6% nos pacientes com $IGFBP3 \geq 1,67$ mcg/mL e 72,1% naqueles com $IGFBP3 < 1,67$ mcg/mL ($P = 0,015$). Os pacientes foram submetidos à nova coleta de sangue e entre aqueles que não receberam transplante, os níveis de IGFBP3 reduziram significativamente na segunda avaliação (1,67 mcg/mL vs. 1,74 mcg/mL, $P = 0,013$). Entretanto, naqueles que foram transplantados um aumento significativo da IGFBP3 foi notado (3,81 mcg/mL vs. 1,33 mcg/mL, $P = 0,008$). Na coorte de pacientes hospitalizados, níveis mais baixos de IGFBP3 foram associados à presença de ACLF, Child-Pugh C, ascite, encefalopatia hepática e infecção bacteriana na admissão ($P < 0,05$). A mortalidade em 30 dias foi de 24,3% e foi associada na regressão logística a valores mais elevados de creatinina e RNI e mais baixos de

razão SpO₂/FiO₂ e IGFBP3. A probabilidade de sobrevida de Kaplan-Meier em 90 dias foi de 80,4% nos pacientes com IGFBP-3 \geq 0,86 mcg/mL e 56,1% naqueles com IGFBP3 $<$ 0,86 mcg/mL ($P < 0,001$). Conclusões: Níveis séricos de IGFBP3 se relacionaram à intensidade da disfunção hepática em cirróticos estáveis e naqueles hospitalizados por descompensação aguda. IGFBP3 reduzido está associado à evolução para complicações e mortalidade na cirrose hepática e pode representar importante ferramenta prognóstica.

Uso de inibidores de bomba de prótons (IBPs) em portadores de cirrose hepática: impacto na evolução de pacientes cirróticos estáveis e hospitalizados por descompensação aguda:

Introdução: Estudos recentes sugerem que o uso de IBPs em cirróticos está associado à maior risco de infecção em cirróticos. Entretanto, tal associação ainda é controversa e o impacto do uso IBPs sobre o prognóstico da cirrose ainda não é completamente estabelecido. Objetivos: Estudar o impacto do uso de IBPs sobre o prognóstico de pacientes cirróticos estáveis e hospitalizados por descompensação aguda. Material e métodos: Estudo prospectivo que incluiu 2 coortes: (1) 191 pacientes estáveis em acompanhamento ambulatorial; (2) 223 pacientes hospitalizados por descompensação aguda. Resultados: Entre os cirróticos estáveis, a média de idade foi de $54,30 \pm 12,52$ anos e 68,5% eram homens. O MELD médio foi de $10,11 \pm 2,52$, com 36,1% Child-Pugh B/C. Uso de IBP foi relatado por 93 pacientes (48,7%) e foi associado à maior idade ($P = 0,017$), diabetes ($P = 0,009$), hemorragia digestiva alta (HDA) prévia ($P = 0,016$), encefalopatia prévia ($P < 0,001$), descompensação prévia ($P = 0,037$) e maior mediana de PCR ($3P < 0,001$). A mediana de seguimento foi de 18 meses e a probabilidade de sobrevida livre de transplante de Kaplan-Meier foi 82,7% e 81,7% nos pacientes sem uso e com uso de IBPs, respectivamente ($P = 0,910$). A probabilidade de sobrevida livre de eventos (hospitalização por descompensação, transplante ou óbito) foi de 74,5% e 67,7% nos pacientes sem uso e com uso de IBPs,

respectivamente ($P = 0,308$). Entre os hospitalizados, a média de idade foi de $54,00 \pm 11,55$ anos e 72,2% eram homens. O MELD médio foi de $16,69 \pm 6,44$, com 40,3% dos pacientes classificados como Child-Pugh C. Uso de IBP foi associado a maior média de idade ($P = 0,028$), encefalopatia hepática presente na admissão ($P = 0,022$), ACLF ($P = 0,016$) e HDA ($P < 0,001$). Não foi observada associação entre uso de IBP e hospitalização por infecções bacterianas (24,3% vs. 21,1%, $P = 0,589$), incluindo PBE (29,0% vs. 21,4%, $P = 0,342$). A probabilidade de sobrevida de Kaplan-Meier em 90 dias foi de 72,8% e 66,0% nos pacientes sem uso e com uso de IBPs, respectivamente ($P = 0,471$). Não houve influência do uso do IBP sobre prognóstico mesmo quando excluídos os pacientes com HDA quando avaliados ou apenas aqueles com ascite. Conclusões: O uso de IBPs é comum em cirróticos, especialmente nos pacientes mais velhos e naqueles com antecedente ou internação por HDA. IBPs não foram associados à pior prognóstico ou hospitalização por infecções bacterianas nos pacientes estudados.

Níveis circulantes de interleucinas 6, 10 e 17 como marcadores prognósticos na cirrose hepática:

Introdução: A cirrose hepática está associada a alterações na resposta imune que causam aumento significativo no risco de infecções e impacto na resposta aos quadros inflamatórios. **Objetivos:** investigar o significado clínico e o papel prognóstico dos níveis de IL-6, IL-10 e IL-17 em pacientes com cirrose estável e na hospitalização por descompensação aguda da doença. **Materiais e métodos:** Estudo de coorte prospectivo que incluiu 130 pacientes hospitalizados por descompensação aguda da cirrose, 118 cirróticos estáveis e 30 controles. **Resultados:** A cirrose hepática foi associada a níveis mais elevados das citocinas em relação aos controles. Os níveis de IL-10 se relacionaram a maiores taxas de eventos hepáticos (hospitalização, transplante ou óbito) nos pacientes estáveis e as concentrações de IL-6 foram preditores independentes de mortalidade em cirróticos hospitalizados. A IL-6 apresentou acurácia mais elevada que a PCR

para predizer infecções bacterianas. Pacientes com ACLF na admissão apresentaram níveis de IL-6 mais elevados mesmo na ausência de infecções bacterianas. Pacientes que evoluíram para óbito apresentaram níveis de IL-10 mais elevados na admissão uma redução significativa nos níveis de IL-17 no terceiro dia de internação. Conclusões: os níveis séricos de IL-6, IL-10 e IL-17 se mostraram potenciais biomarcadores para investigação prognóstica em pacientes cirróticos.

Níveis séricos de transferrina e prognóstico em portadores de cirrose hepática acompanhados ambulatorialmente

Introdução: Estudos recentes identificaram relação entre baixos níveis de transferrina e mortalidade no curto prazo em cirróticos hospitalizados por descompensações agudas. Entretanto, não existem dados sobre o significado prognóstico da transferrina circulante em cirróticos estáveis em acompanhamento ambulatorial. **Objetivos:** Estudar o valor prognóstico dos níveis séricos de transferrina em portadores de cirrose estável. **Método:** Estudo de coorte prospectivo que incluiu 189 pacientes avaliados no período entre junho de 2012 a fevereiro de 2014. Foram excluídos pacientes com hemocromatose hereditária (n = 2) e sem dosagem de transferrina (n = 1). A avaliação nutricional foi feita pela avaliação global do Royal Free Hospital (disponível para 137 pacientes). **Resultados:** A média de idade foi de $54,20 \pm 12,47$ anos, sendo 67,9% do sexo masculino com MELD médio de $10,08 \pm 2,47$. Quanto à classificação de Child-Pugh, 63,7%, 31,1% e 5,3% foram classificados como A, B ou C, respectivamente. A etiologia da cirrose foi alcoólica em 30,7% e hepatite C em 36,5%. Desnutrição moderada/acentuada foi observada em 48,2%. Níveis médios de transferrina foram de $274,23 \pm 86,06$ mg/dL e se correlacionaram positivamente com albumina e negativamente com RNI, bilirrubina total, ferro, ferritina e MELD. Níveis significativamente mais baixos de transferrina foram observados nos pacientes com descompensação prévia em ascite e PBE, e nos pacientes classificados como Child-Pugh B/C e MELD ≥ 10 . Não foi

notada associação entre níveis de transferrina e estado nutricional. Os pacientes foram seguidos por uma mediana de 32 meses e durante o período 34 paciente morreram e 18 foram transplantados. Na regressão univariada de Cox, níveis mais baixos de transferrina e mais elevados de ferritina foram associados à menor sobrevida livre de transplante. Na regressão multivariada de Cox, menores níveis de transferrina (HR 0,997, IC95% 0,993-1,000, P = 0,045) permaneceram relacionados à menor sobrevida livre de transplante mesmo após correção para MELD e Child-Pugh. A probabilidade de sobrevida livre de transplante de Kaplan-Meier foi 47,8% nos pacientes com transferrina < 220 mg/dL e 81,1% naqueles com transferrina \geq 220 mg/dL (P < 0,001, Teste Log-Rank). Conclusões: Níveis reduzidos de transferrina estão relacionados de forma independente à menor sobrevida em portadores de cirrose acompanhados ambulatorialmente e podem ser utilizados como ferramenta prognóstica.

Razão neutrófilos/linfócitos e prognóstico na cirrose hepática

Introdução: A razão neutrófilos/linfócitos (NLR) tem sido proposta como marcador prognóstico na cirrose, entretanto sua utilidade em cenários clínicos distintos ainda não foi completamente definida. **Objetivos:** Investigar o significado prognóstico da NLR na cirrose hepática. **Método:** Estudo de coorte prospectivo que seguiu 2 coortes: 1) Pacientes cirróticos estáveis em acompanhamento ambulatorial (n=193); 2) Pacientes cirróticos hospitalizados por descompensação aguda por no mínimo 48 horas (n=334). **Resultados:** Mediana significativamente mais elevada de NLR foi observada entre os hospitalizados quando comparados aos cirróticos estáveis (4,02 vs. 2,10; P<0,001). Entre os pacientes estáveis a média de idade foi de 54,36 \pm 12,48 anos e MELD 10,10 \pm 2,51. NLR se correlacionou positivamente com bilirrubina total, RNI e MELD. Maior NLR foi observada naqueles com história de descompensação prévia da cirrose. Após mediana de seguimento de 32 meses, 53 pacientes (27,5%) evoluíram para óbito ou transplante e não foi observada relação entre

NLR na avaliação inicial e sobrevida. Entre os pacientes hospitalizados a média de idade foi de $55,17 \pm 11,22$ anos e MELD $16,90 \pm 6,49$. Maior NLR de admissão foi observada nos pacientes com ascite, ALCF e nos Child-Pugh C. Óbito em 90 dias ocorreu em 81 pacientes (24,3%). Na regressão univariada de Cox, NLR de admissão e de 48 horas foram associadas à menor sobrevida em 90 dias ($P < 0,001$). Após ajuste para ALCF, Child-Pugh C e MELD, apenas NLR de admissão foi associada de forma independente à sobrevida (HR ajustado 1,024, 95% IC 1,004 – 1,045, $P = 0,021$). A proporção de pacientes com elevação de NLR nas primeiras 48 horas de internação foi significativamente maior entre os pacientes que evoluíram para óbito em 90 dias (50,6% vs. 26,9%, $P < 0,001$). Elevação de NLR nas primeiras 48 horas foi associada a pior sobrevida na análise univariada (HR não ajustado 2,418, 95% IC 1,563 – 3,739, $P < 0,001$) e multivariada (HR ajustado 1,814, 95% IC 1,163 – 2,830, $P = 0,009$) de Cox corrigida para ALCF, Child-Pugh C e MELD. A sobrevida de Kaplan-Meier em 90 dias foi de 82% nos pacientes sem elevação de NLR e 62,4% naqueles com elevação ($P < 0,001$). Conclusões: A NLR foi associada de forma independente à menor sobrevida em pacientes hospitalizados por descompensação aguda cirrose, mas não entre cirróticos estáveis em seguimento ambulatorial. Pacientes hospitalizados que apresentam elevação da NLR apresentam maior risco de morte no curto prazo.

SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DE NÍVEIS CIRCULANTES DE ADIPOCINAS E DE PARÂMETROS METABÓLICOS NA CIRROSE HEPÁTICA

Introdução: A cirrose hepática é uma doença catabólica caracterizada por redução da massa de tecido adiposo, hiperinsulinemia, alta incidência de resistência à insulina e diabetes mellitus e um estado pró-inflamatório representado pela elevação dos níveis de citocinas. Os níveis de adiponectina e resistina encontram-se aumentados em pacientes com cirrose, mas o significado prognóstico é desconhecido.

Buscamos investigar os fatores associados aos níveis de adiponectina, resistina e HbA1c e seu significado prognóstico em pacientes com cirrose. Materiais e métodos: estudo de coorte prospectivo que incluiu 122 indivíduos com cirrose em acompanhamento ambulatorial que foram avaliados inicialmente em 2012. A evolução para complicações, mortalidade ou transplante hepático foi avaliada em 2014 e 2015 por telefone ou durante as consultas ambulatoriais. Os níveis de adiponectina e resistina séricos foram medidos em amostras coletadas em 2012 (adiponectina e resistina) e 2014 (adiponectina). Trinta pessoas saudáveis serviram como grupo controle. Resultados: foram observados níveis maiores de adiponectina e resistina em pacientes com cirrose em comparação com os controles. Pacientes classificados como Child-Pugh B/C apresentaram maiores níveis de adiponectina em relação aos pacientes com Child-Pugh A. Os pacientes foram acompanhados por uma mediana de 34 meses. Na segunda medida, os níveis de adiponectina aumentaram significativamente em pacientes não transplantados e diminuíram em receptores de transplante de fígado. A análise univariada de Cox mostrou que, entre os pacientes com doença hepática alcoólica, os níveis de adiponectina foram associados a uma menor sobrevida livre de transplante, sendo a sobrevida significativamente menor entre os pacientes com doença hepática alcoólica e adiponectina $\geq 17 \mu\text{g} / \text{mL}$ em comparação com aqueles com níveis $<17 \mu\text{g}/\text{mL}$. Nenhuma correlação foi encontrada entre os níveis de resistina e sobrevida. Na avaliação dos não diabéticos, níveis de HbA1c $<5,25\%$ e MELD ≥ 10 foram associadas de forma independente à menor sobrevida livre de transplante. A probabilidade de sobrevida livre de transplante foi de 92,9% nos pacientes sem fatores de mau prognóstico, 62,9% naqueles com um dos fatores e de apenas 23,8% nos indivíduos com os dois fatores de mau prognóstico (HbA1c $< 5,25\%$ e MELD ≥ 10). Conclusão: Em portadores de cirrose em acompanhamento ambulatorial os níveis de adiponectina, mas não de resistina, se associaram à intensidade da disfunção hepática. Níveis mais elevados de adiponectina foram associados à pior prognóstico apenas nos pacientes portadores de doença hepática alcoólica, sugerindo seu potencial como biomarcador

prognóstico. Além disso, em pacientes cirróticos não diabéticos, níveis de HbA1c < 5.25 % e MELD \geq de 10 são fatores de mau prognóstico na cirrose, estando associados à uma menor sobrevida livre de transplante, sendo a sobrevida menor ainda na associação dos dois fatores.

MicroRNAs circulantes e prognóstico na cirrose hepática

Introdução: MicroRNAs (miRNAs) são pequenos ácidos ribonucleicos não-codificantes, envolvidos em processos de regulação gênica pós-transcricional. MiRNAs podem ser detectados no soro humano e tem sido estudados como biomarcadores em diversas doenças, porém poucos estudos investigaram a sua relação com o prognóstico na cirrose. **Objetivos:** Estudar o significado prognóstico e os fatores associados à expressão dos miRNAs miR-21, miR-34a, miR-122, miR-181b e miR-885-5p no soro de portadores de cirrose hepática estável. **Método:** Estudo de coorte prospectivo que incluiu 186 pacientes em acompanhamento ambulatorial e 28 controles saudáveis. Foram excluídos pacientes com diagnóstico de carcinoma hepatocelular ou uso interferon. A expressão dos miRNAs foi medida por RT-qPCR. **Resultados:** A média de idade foi de $54,0 \pm 12,4$ anos, 68,3% eram homens, o MELD médio foi de $10,1 \pm 2,5$ e 62,9% eram Child-Pugh A. Entre os cirróticos houve maior expressão para o miR-34a, miR-122 e miR-885-5p, e uma tendência à maior expressão do miR-21 quando comparados aos controles. Os miRNAs miR-34a, miR-122 e miR-885-5p se correlacionaram positivamente com aos níveis de aminotransferases e tiveram suas expressões relativas aumentadas entre os infectados pelo HCV e reduzidas nos Child-Pugh C. Os pacientes foram seguidos por uma mediana de 32 meses. Durante o seguimento, 34 pacientes evoluíram para óbito, 16 transplantaram e em 1 caso não foi possível contato. A regressão univariada de Cox mostrou que entre os miRNAs, apenas o miR-21 foi associado à sobrevida livre de transplante. O miR-21 permaneceu associado à sobrevida na regressão múltipla de Cox mesmo após ajuste para outras variáveis relevantes

como idade, descompensação prévia da cirrose, Child-Pugh B/C e MELD (HR ajustado = 1,056, IC95% 1,003 – 1,111, P = 0,037). A sobrevida livre de transplante foi significativamente menor para os pacientes com expressão relativa de miR-21 ≥ 8 (22,2 meses, IC95% 14,1-30,3) em comparação aos indivíduos com valores < 8 (32,3 meses, IC95% 30,6-34,0) (P = 0,029, Figura). Conclusões: Em portadores de cirrose hepática estável, miR-34a, miR-122 e miR-885-5p se relacionam à resposta inflamatória ou lesão hepática em andamento. Maior expressão de miR-21 se relacionou à menor sobrevida sugerindo que este miRNA apresenta potencial como marcador prognóstico.

9) Apresentação em eventos científicos**APRESENTAÇÃO ORAL**

- 2013 FATORES ASSOCIADOS A OS NÍVEIS SÉRICOS DE ADIPONECTINA EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA. XXII Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2017 NÍVEIS REDUZIDOS DE HBA1C ESTÃO RELACIONADOS À PIOR PROGNÓSTICO EM PACIENTES CIRRÓTICOS ACOMPANHADOS AMBULATORIALMENTE. XXV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2017 MicroRNAs circulantes e prognóstico na cirrose hepática. XXV Congresso Brasileiro de Hepatologia

APRESENTAÇÃO EM POSTER

- 2013 Avaliação dos níveis séricos de vitamina D e hormônio paratireoideano em pacientes cirróticos. Congresso Brasileiro de Atualização em Endocrinologia e Metabologia.
- 2013 Fatores associados aos níveis séricos de 25 (OH)D em pacientes cirróticos. XXII Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2014 FACTORS ASSOCIATED WITH ADIPONECTIN SERUM LEVELS IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS. The 49th Annual Meeting of the European

Association for the Study of Liver (EASL), Londres.

- 2015 Proteína ligadora tipo 3 do fator de crescimento simile á insulina tipo I (IGFBP3) como marcadora de prognóstico na cirrose hepática. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Níveis circulantes de pentraxina-3 (PTX-3) em portadores de cirrose hepática. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 AVALIAÇÃO DO PROGNÓSTICO DE PACIENTES CIRRÓTICOS ESTÁVEIS EM ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL: EXPERIENCIA DE UM ÚNICO CENTRO. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Uso de inibidores da bomba de protons (IBPs) em portadores de cirrose hepática: impacto na evolução de pacientes cirróticos estáveis e hospitalizados por descompensação aguda. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Níveis circulantes de interleucina 6, 10 e 17 como marcadores prognósticos na cirrose hepática. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Circulating interlekin 6, 10 and 17 as prognostic marker in patients with liver cirrhosis. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. San Francisco.
- 2016 Estudo da gastropatia hipertensiva portal em pacientes cirróticos submetidos ao programa de ligadura elástica na unidade de endoscopia digestiva do serviço de gastroenterologia do HU-UFSC. Congresso Sul Brasileiro de Doenças Digestivas (Digesul).

- 2017 Níveis sérios de transferrina e prognóstico em portadores de cirrose hepática acompanhados ambulatorialmente. XXVI Congresso Brasileiro de Hepatologia.

10) Publicações

- 2014 ADIPONECTIN: A MULTITASKING PALYER IN THE FIELD OF LIVER DISEASE. *Diabetes & Metabolism*, v. 40, p. 95-107, 2014.
- 2015 Factors associated with 25-hydroxyvitamin D levels in patients with liver diseases. *Annals of Hepatology*, v. 14, p. 99-107, 2015.
- 2016 Circulating insulin-like growth factor-binding protein 3 as prognostic biomarker in liver cirrhosis. *World Journal of Hepatology*, v. 8 (17), p. 739-748, 2016.
- 2017 Circulating levels of pentraxin-3 (PTX3) in patients with liver cirrhosis. *Annals of Hepatology*. 16(5), p. 780-787, 2017.
- 2017 From stable disease to acute-on-chronic liver failure: circulating cytokines are related to prognosis in different stages of cirrhosis. *Cytokine*, v.91, p.162-169, 2017.
- 2017 Letter: proton pump inhibitors and prognosis of cirrhosis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, v. 45, p. 378-379, 2017.

11) Outras observações

Aceito para publicação:

- Clinical Significance of Serum Adiponectin and Resistin Levels in Liver Cirrhosis

Journal: Annals of Hepatology

- Challenges in diagnosing and monitoring diabetes in patients with chronic liver diseases

Journal: Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews

ANEXO E – Artigo publicado

Revista Annals of Hepatology 2018; 17(1): 286-299.

CC: telma.gastro@gmail.com, leo-jf@uol.com.br

Ref.: Ms. No. ANNHEPATOL-D-16-00197R3

Clinical Significance of Serum Adiponectin and Resistin Levels in Liver Cirrhosis

Dear Dr. Silva,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Annals of Hepatology.

It was accepted on 06/22/2017.

Comments from the Editor and Reviewers can be found below.

Thank you for submitting your work to this journal.

Sincerely,

Nahum

Prof. Nahum Méndez-Sánchez, MD, MSc, PhD, FACG, AGAF.
Editor in Chief
Annals of Hepatology

TITLE PAGE

Manuscript title:

Clinical Significance of Serum Adiponectin and Resistin Levels in Liver Cirrhosis

Authors:

Telma Erotides da Silva¹, Mariana Costa Silva¹, Carina G. Correa¹, Giovana Denardin¹, Maria Luiza Ayres Alencar², Mara S ergia Pacheco Hon rio Coelho², Let cia Muraro Wildner³, Maria Luiza Bazzo³, David Alejandro González-Chica⁴, Esther Buzaglo Dantas-Correa¹, Jana ina Luz Narciso-Schiavon¹, Leonardo de Lucca Schiavon¹.

Affiliations:

¹Division of Gastroenterology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil

²Nutrition and Dietetic Service, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil

³Department of Clinical Analysis, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil

⁴Post-Graduate Program in Nutrition, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil

Key words: Adiponectin; resistin; liver cirrhosis; End Stage Liver Disease; alcoholic liver disease; prognosis.

FOOTNOTE PAGE

Corresponding author: Telma Erotides da Silva
Rua Eliseu Guilherme, 160 – Coqueiros – Florianópolis – SC – Brazil –
Zipcode: 88080825
Phone: +55 48 91014068
Email: telma.gastro@gmail.com

List of Abbreviations:

ALT: alanine aminotransferase.
AST: aspartate aminotransferase.
BMI: body mass index.
CRP: C-reactive protein.
GGT: gamma-glutamyl-transferase.
HCV: hepatitis C virus.
HBV: hepatitis B virus.
HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance.
INR: international normalized ratio.
IR: insulin resistance.
MAMC: mid-arm muscle circumference.
MELD: model for End-Stage Liver Disease.
NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease.
NASH: non-alcoholic steatohepatitis.
RBP4: retinol binding protein 4.
RFH-GA: Royal Free Hospital Global Assessment.
TNF- α : alpha- tumor necrosis factor.
TSF: triceps skinfold thickness.

ABSTRACT

Introduction: Adiponectin and resistin levels are increased in patients with cirrhosis, but its prognostic significance is unknown. We sought to investigate the factors associated with adiponectin and resistin levels and its clinical significance in patients with cirrhosis. **Materials and methods:** This was a prospective cohort study that included 122 subjects with cirrhosis who attended an outpatient clinic and were initially evaluated in 2012. Serum adiponectin and resistin levels were measured in samples collected in 2012 (adiponectin and resistin) and 2014 (adiponectin). Thirty healthy subjects served as a control group. **Results:** Higher adiponectin (21.59 $\mu\text{g}/\text{mL}$ vs. 12.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $P<0.001$) and resistin levels (3.83 ng/mL versus 2.66 ng/mL , $P<0.001$) were observed among patients with cirrhosis compared to controls. Patients classified as Child-Pugh B/C had higher adiponectin levels in relation to Child-Pugh A patients. At second measurement, adiponectin levels increased significantly in non-transplant patients and decreased in liver transplant recipients. Univariate Cox analysis showed that among patients with alcoholic liver disease, adiponectin levels were associated with lower transplant-free survival (HR=1.034, 95% CI 1.006–1.062, $P=0.016$). The transplant-free survival was significantly lower among patients with alcoholic liver disease and adiponectin ≥ 17 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (26.55 months, 95% CI 21.40-31.70) as compared to those with levels < 17 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (33.76 months, 95% CI 30.70-36.82) ($P=0.045$). No relationship was found between the levels of resistin and survival. **Conclusion:** adiponectin but not resistin levels were associated with intensity of liver dysfunction and worse prognosis in patients with alcoholic liver disease, suggesting a potential as a prognostic biomarker.

INTRODUCTION

The liver is primarily a metabolic organ that orchestrates a complex order of biochemical and physiological processes, including regulation of protein and energy metabolism (1). Consequently, and not surprisingly, patients with advanced liver disease suffer from malnutrition (1). Loss of body fat involves a series of metabolic changes as the fat is not simply a deposit of lipids but is also recognized as an important source of hormones that influence body adiposity, glucose homeostasis, inflammation, and cardiovascular disease (2). The adipocyte secretes various adipokines, and changes in body composition observed in cirrhotic individuals are associated with various metabolic effects that are possibly mediated by disturbances in the balance of production and / or action of adipokines.

Among the adipokines, adiponectin and resistin have been highlighted in the context of liver disease. Adiponectin is a 28 kDa protein composed of 274 amino acids whose AdipoQ gene is encoded in the long arm of chromosome 3, locus 3q27. Adiponectin exists in circulation in two isoforms: as an intact molecule (fAd) and as a globular fragment (cleaved proteolytic fragment consisting of gAd) (3). The intact molecule has the ability to group three globular domain oligomeric isoforms: trimeric, hexameric and multimeric forms (3). Each oligomeric form has distinct biological properties and activates different cellular signaling pathways in several tissues (3). Since its discovery, adiponectin has proved to be a key component in the relationship between adiposity and insulin resistance (IR) (3). Resistin is an adipocyte-derived hormone with 12.5 kDa that forms multimeric complexes characterized by the presence of cysteine residues (4). It is involved in the regulation of glucose homeostasis, inflammation, and adipogenesis and thus influences the development of insulin resistance, obesity, and type 2 diabetes (5, 6).

The hepatoprotective role of adiponectin in liver diseases has been described in various experimental and clinical studies, including antiesteatotic, anti-inflammatory, and antifibrogenic effects (7). Low levels of adiponectin were related to various liver diseases including non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and hepatitis B and C (7). Paradoxically, previous studies have observed a significant increase in serum levels of these adipokines in patients with advanced cirrhosis, regardless of etiology (8). Moreover, a positive correlation between adiponectin levels and hepatic fibrosis markers have been demonstrated (9). Few studies have investigated the relevance of resistin in hepatic diseases. The resistin expression in the human liver is increased in

various liver diseases (10-13), and the positive correlation between resistin and inflammation and hepatic fibrosis, which suggests the involvement of this adipokine in the pathophysiology of liver fibrosis, has been demonstrated in alcoholic hepatitis and NAFLD (10, 13). In liver cirrhosis, resistin levels are also significantly higher and have been associated with increased disease severity, suggesting potential as a prognostic biomarker (14). Thus, the aims of this study were to investigate the factors associated with adiponectin and resistin levels and its prognostic significance in patients with liver cirrhosis.

MATERIALS AND METHODS

Patients

This was a prospective cohort study that included consecutive adult subjects (≥ 18 years of age) attending the outpatient clinic at the University Hospital of the Federal University of Santa Catarina, Brazil. The diagnosis of cirrhosis was established histologically (when available) or by the combination of clinical, imaging, and laboratory findings in patients with evidence of portal hypertension. Patients in the following situations were excluded: hepatocellular carcinoma; insulin or thiazolidinedione therapy; interferon-based therapy over the last 30 days; or refusal or inability of the patient to understand the informed consent. Thirty sex- and age-matched healthy subjects evaluated during routine laboratory tests served as a control group. A sample power of 91% was obtained for comparing adiponectin means between cases and controls using a 1-sided test.

Informed consent in writing was obtained from each participant (i.e., patients and healthy volunteers), and 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 at the outpatient clinic of the Gastroenterology Division, and the following clinical variables were collected: age, gender, race, alcohol abuse and smoking history, etiology of cirrhosis, history of previous decompensation and hospitalization, previous diagnosis of diabetes mellitus, dyslipidemia and systemic arterial hypertension, diagnosis of esophageal varices, presence of ascites, encephalopathy and peripheral edema. All subjects underwent laboratory evaluation on the same day as clinical evaluation and the following tests were performed for this study: hepatic enzymes, albumin, total and conjugated bilirubin, international normalized ratio (INR), creatinine, sodium, cholesterol, triglycerides, fasting blood glucose, glycated hemoglobin and insulin, and C-reactive protein (CRP). Insulin resistance was evaluated by the homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) test (15). Patients that had used at least one cigarette in the past 30 days were considered to be currently smoking (16). Current significant alcohol intake was defined as an average overall consumption of 21 or more drinks per week for men and 14 or more drinks per week for women during the 4 weeks before enrolment (one standard drink is equal to 12g absolute alcohol) (17). The same criterion was used to define previous alcohol abuse, considering the habitual alcohol intake pattern before the last four weeks. Child-Pugh classification (18) and the MELD (Model for End-Stage Liver Disease) score (19) were used to assess the severity of the hepatic disease. Major cardiovascular events were defined as myocardial infarction, acute coronary syndrome, cerebrovascular accident or transient ischemic attack.

Nutritional assessment and anthropometric parameters

All patients were submitted to a general nutritional assessment procedure that was proposed and validated for use in cirrhotic patients (Royal Free Hospital Global Assessment - RFH-GA) (20). This evaluation includes the following parameters: body mass index (BMI) based on estimated dry weight; mid-arm muscle circumference (MAMC); estimated daily caloric intake; and clinical data (gastrointestinal symptoms, recent history of infections, renal failure, hepatic encephalopathy, gastrointestinal bleeding, weight variation, physical activity and fatigue). According to the proposed algorithm, patients were divided into adequately nourished, moderately malnourished (or suspected to be), and severely malnourished. The

MAMC measurements were expressed in relation to the 5th percentile for age and gender (21). The triceps skinfold thickness (TSF) was measured with a *Lange* Skinfold Caliper as an estimate of fat mass.

Follow-up of included patients

The entire cohort was initially evaluated from June to October 2012. Patients underwent clinical and laboratory reevaluation in 2014. The development of complications, mortality, or liver transplantation was assessed by periodic phone calls and during outpatient visits. The final reevaluation was performed between June and October 2015. The occurrence of major cardiovascular events was evaluated only in the second reevaluation, performed in 2014.

Serum adiponectin and resistin levels

The tests were performed in serum samples collected after clinical evaluation and stored at -80 °C. Serum adiponectin levels were measured by ELISA in samples collected at baseline (2012) and in the first reevaluation (2014) using a commercially available assay (Human Adiponectin ELISA Kit, EMD Millipore - Missouri - USA). Serum resistin was also measured by ELISA only in baseline samples using the Human Resistin ELISA kit (BioVendor, Brno-Czech Republic). The maximum length of storage was 12 months for adiponectin and 24 months for resistin, and all samples were not previously thawed.

Statistical Analysis

The normality of the variable distribution was determined by the one-sample Kolmogorov–Smirnov test. The correlation between the numerical variables was evaluated using Spearman's correlation coefficient. Continuous variables were compared using the Mann-Whitney test. Univariate Cox regression analysis was used to investigate the association between the adipokines levels and transplant-free survival. The Kaplan-Meier curve was used to illustrate transplant-free survival according to two strata, which were defined by the cutoff of selected adipokine. Survival differences between groups were compared using the log-rank test. Survival analysis initially included all patients, and thereafter, subanalysis including specific etiologies of cirrhosis was conducted. The Wilcoxon signed rank-test was used to compare adiponectin levels at two times. A p value of less than 0.05 was considered statistically significant. All tests were two-tailed and were performed by the SPSS software, version 17.0 (SPSS Inc. Released 2008).

RESULTS

Characteristics of the patients

The characteristics of the 122 subjects included in this study are summarized in Table 1. The mean age was 52.8 ± 12.8 years, and there was a predominance of males (68.0%). The diagnosis of cirrhosis was defined by liver biopsy in 22 patients (18%) and by other criteria in the remaining subjects. The most common cause of cirrhosis was alcohol abuse (54.9%) followed by chronic viral hepatitis (HBV infection in 4.9% and HCV in 36.0%). Current alcohol abuse was observed in five patients, and all of them were diagnosed with alcoholic cirrhosis. At the time of initial evaluation, 67.2% were classified as Child-Pugh A, 30.3% as B, and 2.5% as C. The mean MELD score was 9.84 ± 2.32 (median 9.42). According to the RFH-GA, malnutrition was present in 48.4% of patients and was classified as moderate in 38.5% and severe in 9.8% of cases. None of the patients were undergoing renal replacement therapy at this time.

Factors associated with adipokines levels in cirrhotic patients

Significantly higher levels of adiponectin ($21.59 \mu\text{g/mL}$ vs. $12.52 \mu\text{g/mL}$, $P < 0.001$) and resistin (3.83 ng/mL versus 2.66 ng/mL , $P < 0.001$) were observed among patients with cirrhosis compared to healthy controls.

Table 2 shows the Spearman correlation analysis between adipokines and other numerical variables. Among cirrhotic patients, adiponectin levels were positively correlated with total bilirubin ($P=0.015$) and HDL-cholesterol ($P=0.001$) and negatively correlated with BMI ($P=0.024$), creatinine ($P<0.001$), albumin ($P=0.002$), blood glucose ($P=0.004$), triglycerides ($P < 0.001$), and HOMA-IR ($P=0.025$). The resistin levels directly correlated to creatinine ($P=0.012$) and CRP ($P=0.007$) and inversely to AST ($P=0.029$), ALT ($P=0.007$), GGT ($P=0.022$), fasting glucose ($P=0.015$), and HDL cholesterol ($P=0.038$).

Significantly lower median adiponectin was observed among men ($18.42 \mu\text{g/mL}$ vs. $27.18 \mu\text{g/mL}$, $P=0.002$) and in those with alcoholic etiology (16.83 ug/ml vs. 27.40 mg/mL , $P=0.001$). Figure 1 shows the adiponectin (Figure 1A) and resistin levels (Figure 1B) in the control group and according to the Child-Pugh classification. Patients classified as Child-Pugh B/C had significantly higher levels of adiponectin in relation to Child-Pugh A patients ($30.47 \mu\text{g/mL}$ vs. $17.04 \mu\text{g/mL}$, $P=0.008$). Similarly, higher adiponectin levels were observed in patients with MELD ≥ 10 as compared to those with lower MELD scores (25.67

$\mu\text{g/mL}$ vs. $19.07 \mu\text{g/mL}$, $P = 0.017$). There were no differences in adiponectin levels regarding to other variables, including nutritional status and current alcohol consumption. Higher median resistin levels were observed in patients with a history of hepatic encephalopathy (4.34 ng/ml vs. 3.63 ng/ml , $P=0.003$). There was a trend towards higher values resistin among individuals with a history of cirrhosis decompensation (4.06 ng/ml vs. 3.38 ng/ml , $P=0.064$). No differences were observed in relation to other variables, including etiology of cirrhosis, Child-Pugh classification, MELD score, and nutritional status.

Serial adiponectin measurements patients with cirrhosis

An initial clinical and laboratory reassessment was conducted in 2014; then, the patients were followed for another year for survival evaluation in 2015 (Figure 2). At the 2014 evaluation, 14 patients (11.5%) had died, nine patients (7.4%) underwent liver transplantation, and the remaining 99 patients were still in follow-up and were reassessed (81.1%). When considering only those who did not undergo liver transplantation, 7 patients progressed from Child-Pugh A to B, 1 patient from Child-Pugh A to C, and 1 from Child-Pugh B to C. Major cardiovascular events in this reevaluation were observed in 4 patients, 3 cases of acute coronary syndrome and one death due to acute myocardial infarction. Given the relatively low number of cardiovascular events during follow-up, no statistical analysis could be performed to investigate its relationship with adipokines levels. Nine patients refused blood collection (one liver transplant recipient and eight cirrhotics). After analyzing the adipokines results at baseline, adiponectin was chosen as a potential prognostic biomarker, and it was measured again at the second evaluation. Figures 3A and 3B exhibit the adiponectin and MELD results at the first and second evaluations.

In non-transplant patients, the median adiponectin increased significantly in the second evaluation ($22.49 \mu\text{g/mL}$ vs. $19.13 \mu\text{g/mL}$, $P < 0.001$). Similarly, the median MELD score was significantly higher at the second evaluation (9.22 ± 1.89 vs. 10.01 ± 2.36 , $P < 0.001$). When stratified accordingly to the Child-Pugh classification, median adiponectin levels were $18.65 \mu\text{g/mL}$ in 2012 and $21.96 \mu\text{g/mL}$ in 2014 among Child-Pugh A subjects ($P < 0.001$). In Child-Pugh B/C patients, median adiponectin increased from $24.54 \mu\text{g/mL}$ in 2012 to $34.93 \mu\text{g/mL}$ in 2014 ($P=0.003$). Among the eight liver transplant recipients, the median adiponectin levels numerically decreased from $38.24 \mu\text{g/mL}$ in 2012 to $24.08 \mu\text{g/mL}$ in 2014; although without statistical significance ($P=0.123$).

Adipokines and prognosis in liver cirrhosis

Patients were followed for a median of 34 months. During follow-up, 25 patients (20.5%) died, and 13 (10.7%) underwent liver transplantation. Univariate Cox analysis showed a trend toward association between adiponectin and overall transplant-free survival (HR = 1.019, 95% CI 0.999–1.038, $P=0.057$). No relationship was found between the levels of resistin and transplant-free survival (HR=0.950, 95% CI 0.801–1.126, $P=0.554$). A subsequent analysis was performed that evaluated the relationship between adiponectin and survival according to the etiology of the liver disease (i.e., viral and alcoholic). Twenty-five patients had both alcoholism and chronic viral hepatitis (HCV in 23 and HBV in 2) and were included in both analyses. Less common etiologies were not evaluated in this subanalysis due to the low number of subjects. Of the patients with alcoholic liver disease, 19 patients died, and 9 underwent transplants during follow-up. Univariate Cox analysis showed that among patients with alcoholic liver disease (as either a single etiology or a co-factor), adiponectin levels were significantly associated with lower transplant-free survival (HR = 1.034, 95% CI 1.006–1.062, $P=0.016$). Figure 4 shows Kaplan-Meier survival curves giving to adiponectin levels dichotomized according to the median (17 $\mu\text{g/mL}$) in the entire cohort (Figure 4A) and in patients with alcoholic liver disease (Figure 4B). In the entire cohort, no differences were observed when patients with adiponectin $\geq 17 \mu\text{g/mL}$ were compared to those with adiponectin $< 17 \mu\text{g/mL}$ ($P=0.494$, log-rank test). The transplant-free survival was significantly lower among alcoholic liver disease patients with adiponectin $\geq 17 \mu\text{g/mL}$ (26.55 months, 95% CI 21.40-31.70) as compared to those with levels $< 17 \mu\text{g/mL}$ (33.76 months, 95% CI 30.70 to 36.82) ($P=0.045$, log-rank test). No differences were observed in the Kaplan-Meier survival analysis for the selected adiponectin cutoff in cases of viral etiology or when grouping other less common etiologies of cirrhosis.

DISCUSSION

Patients with liver cirrhosis have a wide spectrum of metabolic disorders, and the interaction between the different aspects of these changes is not yet fully established. Multiple factors such as insulin resistance, changes in body composition and nutritional status as well as liver dysfunction can affect the levels of adiponectin and resistin in patients with cirrhosis. Tables 3 and 4 summarize the major human

studies that investigated the relationship between adiponectin (Table 3), resistin (Table 4), and cirrhosis.

In the present study, cirrhosis patients had significantly higher levels of adiponectin and resistin than healthy controls. These findings are consistent with previous research that demonstrated consistently higher levels of these adipokines in patients with advanced liver disease (8, 14, 29-31). Some mechanisms have been proposed to explain the increase in adiponectin levels in cirrhosis, such as the effect on the inflammatory response (23), increase in production by hepatic stellate cells (32), or an imbalance between adiponectin production and its hepatic excretion (33). Resistin, in turn, is involved in inducing inflammatory response, and it is likely that higher levels in cirrhosis patients merely reflect the chronic inflammatory status seen in these patients as a result either of baseline disease or of the typical immune disorders observed in advanced liver disease (34, 35).

Adiponectin levels were positively correlated with HDL-cholesterol and negatively correlated with triglycerides, blood glucose, HOMA-IR, and BMI. Adiponectin is considered to be a modulator of glucose and lipid metabolism with antiatherogenic, antidiabetic, and anti-inflammatory properties. It has an important role in regulating insulin sensitivity and inflammatory response (36) and acts as an important mediator in the pathogenesis of metabolic diseases (3). Previous studies in non-cirrhotic patients found results similar to those described here (37, 38). In non-cirrhotic patients, adiponectin secretion is inversely related to BMI (39), and the inverse association between adiponectin and insulin resistance is well known. Its plasma levels negatively correlate with adiposity, IR, and metabolic syndrome and positively correlate with insulin sensitivity (37). In the present study, adiponectin inversely correlated with HOMA-IR. These findings contradict the majority of studies, which indicate that increased adiponectin levels in cirrhosis occur independently of body composition and metabolic parameters, including HOMA-IR (8, 22, 25, 33), although some studies demonstrate this association (27). In patients with chronic liver disease, a progressive reduction in insulin sensitivity in parallel with disease progression has been described (40), and it is probably a result of chronic hyperinsulinemia due to decreased hepatic extraction, enhanced insulin secretion, and presence of portosystemic shunts (41). The association between high adiponectin levels and lower blood glucose and HOMA-IR might indicate a role of insulin resistance as a determinant of adiponectinemia in cirrhotics as well – at least in those with less advanced disease.

The inverse relationship between adiponectin and triglycerides has been previously demonstrated in other studies (9, 42, 43) as well as the positive correlation with HDL-cholesterol (42, 44). Adiponectin may reduce the accumulation of triglycerides and fatty acid concentrations in skeletal muscle through oxidation of fatty acids by the activation of acetylcoenzyme A oxidase, carnitine palmitoyltransferase-1, and adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK). Adiponectin may also indirectly stimulate lipoprotein lipase (45), the enzyme that catabolizes VLDL, by increasing expression in Peroxisome Proliferator Activated Alpha Receptor (PPAR α) in the liver and adipocytes (46). It also plays a role in the apolipoprotein B VLDL catabolism, which is independent of insulin resistance (47), suggesting that reduced levels of adiponectin may play a role in hyperlipidemia (48). However, in the majority of studies in patients with cirrhosis, the increased adiponectin levels observed were not related to metabolic and anthropometric parameters (8, 22, 25, 28, 33). Possible explanations for these discrepancies include the small number of patients evaluated in the majority of previous studies and the inclusion of patients with less advanced diseases in the present analysis. In fact, the severity of liver disease appears to influence the circulating adiponectin levels in cirrhotic patients also in the present study since its levels were negatively correlated with albumin and positively correlated with total bilirubin. In addition, significantly higher adiponectin levels were observed among Child-Pugh B/C patients in relation to Child-Pugh A ones and in those with MELD scores ≥ 10 . Previous series reported similar results (8, 33). Furthermore, in this study, low levels of adiponectin have been observed in patients with alcoholic liver disease. Chronic exposure to ethanol is related to direct inhibition of gene expression and adiponectin secretion in adipocytes (49-51), which alter lipid metabolism mediated by regulatory systems as SIRT1, AMPK, PPAR- γ , PPAR α , and SREBP-1, leading to excessive fat accumulation in the liver (52). This dysregulation of adiponectin and its receptors mediated by ethanol is probably a key mechanism for the development of alcoholic fatty liver disease (52).

The resistin levels were positively correlated with creatinine and CRP and negatively correlated with AST, ALT, GGT, glucose, and HDL-cholesterol. Resistin may play an important role in the regulation of glucose homeostasis and adipogenesis (5, 6), thereby influencing the development of insulin resistance, type 2 diabetes, and endothelial dysfunction, thrombosis, and angiogenesis (53-55). The inverse relation between resistin and HDL-cholesterol has been demonstrated in

previous studies (56, 57). In addition to the important role of resistin as an inflammatory mediator (34), these adipokines also have high levels in diseases associated with chronic liver inflammation, such as hepatitis C and NASH (58-60). The role of resistin in the inflammatory response as a proinflammatory cytokine has also been demonstrated, which explains many of the metabolic effects associated with high levels of resistin inducing IR and/or progression of atherosclerosis (61, 62). Therefore, some studies suggest that resistin is a potential biomarker and mediator of cardiovascular disease (63). Resistin appears to be the link between inflammation and RI (64, 65). These studies justify the observed correlation between resistin and CRP as well as with the markers of liver inflammation. This study also showed higher median resistin in patients with a history of hepatic encephalopathy and a trend toward higher resistin levels in individuals with previous report of hepatic decompensation. These findings are in agreement with previous studies that demonstrated significant effects of previous decompensated cirrhosis on resistin levels (14). However, unlike observed here, most previous studies have noted increased levels of resistin in Child-Pugh B or C patients (14, 28-30). It is probable that this difference is due to the lower proportion of patients with more severe liver diseases included in this study and also disparities in the etiology of cirrhosis across the studies.

During follow-up, a significant increase in adiponectin levels was observed in patients with cirrhosis. This rise was numerically more expressive in Child-Pugh B/C patients. There have been no previous studies with serial measurements of adiponectin in cirrhotic. It is likely that increased levels of this adipokine reflect the progressive deterioration of liver function, since the baseline values were associated with variables related to disease severity. Interestingly, a reduction in adiponectin levels was found after transplantation in six out of eight patients undergoing the procedure during the study period. These data are consistent with a study that assessed levels of adiponectin pre- and post-liver transplantation in 77 subjects, showing rapid reduction of these adipokines after transplantation (66). When considered together, these results reinforce the impact of cirrhosis on circulating levels of adiponectin.

A trend toward association between adiponectin and overall transplant-free survival was observed when the entire cohort was considered in the analysis. However, when patients were assessed according to the etiology of cirrhosis, adiponectin levels were associated with shorter transplant-free survival only in patients with alcoholic liver disease.

There are few data regarding the relationship between adiponectin and prognosis in liver diseases. In patients with chronic hepatitis C with or without cirrhosis, higher adiponectin levels were associated with higher all-cause and liver-related mortality (67). Higher adiponectin levels were also associated with reduced survival in a study that included Child-Pugh A or B patients with hepatocellular carcinoma (26). In a recent small study that included 40 patients with alcoholic cirrhosis, higher adiponectin was associated with shorter survival (28). These findings suggest an association between adiponectin and prognosis in cirrhosis, although some factors, especially the underlying disease, appear to influence this relationship.

Resistin levels were not associated with survival in cirrhotic patients even when subanalysis were performed according to the etiology of cirrhosis. These results contrast with those observed by Yagmur et al., where significantly higher resistin levels were observed in patients who died (14). However, this association was not observed in the most recent study that included only patients with alcoholic cirrhosis (28). It is important to note that the study of Yagmur et al. included a greater proportion of individuals with biliary liver disease or autoimmune etiology and with much longer follow-up time than the present study(14).

Some limitations of our analysis should be discussed. First, the small number of patients classified as Child-Pugh C may limit the ability to extrapolate the results. Although further studies with a greater number of Child-Pugh C are desirable, the patients included in the present study probably reflect the characteristics of cirrhotic patients receiving outpatient treatment, which are mostly Child-Pugh A and B. Other limiting factors include the relatively short follow-up time and the measurement of total adiponectin only, which did not allow us to identify the clinical significance of other isoforms of these adipokine (trimeric, hexameric, and multimeric) in patients with cirrhosis. Lastly, given the relatively small number of patients, those with an alcoholic etiology were grouped with other causes of liver disease for the survival subanalysis. Validation of our results specifically in patients with alcoholic cirrhosis and no other major co-factors would be of great value, even though a complete exclusion of other factors that may eventually be related to chronic liver disease could be problematic.

It can be concluded that in outpatients with stable cirrhosis, adiponectin but not resistin levels were associated with the intensity of liver dysfunction. Adiponectin increased during follow-up and its levels at baseline were associated with worse prognosis in patients with alcoholic

liver disease, suggesting a potential as a prognostic biomarker. The significance of elevated adiponectin levels and the effect of any interventions that influence this adipokine should be addressed in future studies.

FIGURE LEGENDS

Fig 1. Box-plots of adiponectin (A) and resistin (B) levels among control group and patients with cirrhosis divided according to the Child-Pugh (CP) Classification. Significantly higher levels of adiponectin (21.59 $\mu\text{g/mL}$ vs. 12.52 $\mu\text{g/mL}$, $P < 0.001$) and resistin (3.83 ng/mL versus 2.66 ng/mL , $P < 0.001$) were observed among patients with cirrhosis compared to healthy controls.

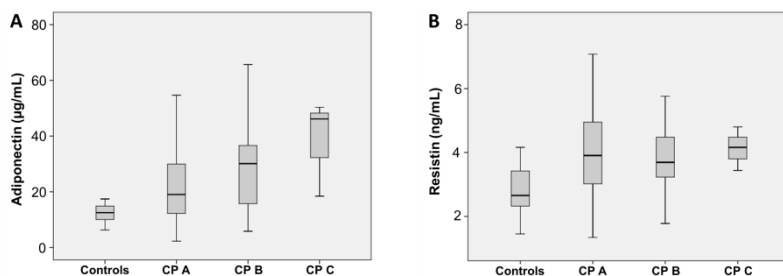


Fig. 2. Flowchart of included patients and planned follow-up.

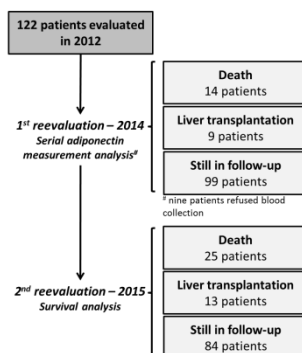


Fig. 3. Adiponectin levels (Fig. 4A) and MELD scores (Fig. 4B) at the first and second evaluations (non-transplanted patients). Adiponectin levels and MELD scores significantly increased at the second evaluation ($P < 0.001$). The bars represent median and interquartile ranges.

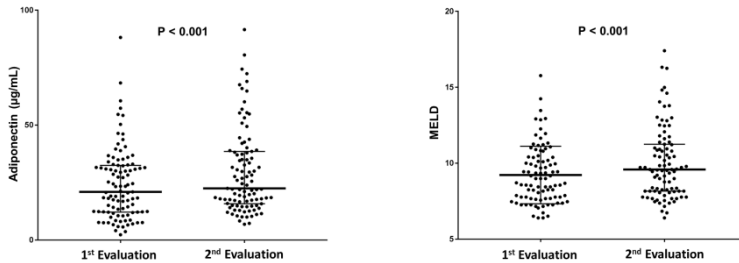


Fig. 4. Kaplan-Meier transplant-free survival of the entire cohort (A) and of patients with alcoholic liver disease (B) stratified according to the adiponectin cutoff level of 17 µg/mL. No significant differences were noted for the entire cohort ($P = 0.206$, log-rank test). Transplant-free survival was significantly lower among patients with adiponectin ≥ 17 µg/mL (26.55 months, 95% CI 21.40 to 31.70) as compared to those with levels < 17 µg/mL (33.76 months, 95% CI 30.70 to 36.82) ($P = 0.045$).

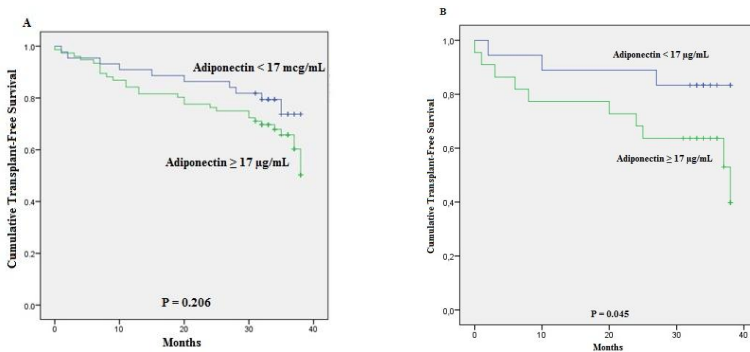


Table 1. Characteristics of included patients

| Variables | Patients (n = 122) |
|--|---------------------------|
| Age (years), mean \pm SD (median) | 52.87 \pm 12.82 (52.0) |
| Sex (male), n (%) | 83 (68.0) |
| Caucasians, n (%) | 112 (91.8) |
| Previous alcohol abuse, n (%) | 54 (44.3) |
| Current alcohol abuse, n (%) | 5 (4.1) |
| Current smoking, n (%) | 34 (27.9) |
| Etiology of cirrhosis ¹ , n (%) | |
| Alcohol | 67 (54.9) |
| Hepatitis C | 44 (36.0) |
| Hepatitis B | 6 (4.9) |
| Autoimmune hepatitis | 6 (4.9) |
| Primary biliary cirrhosis | 5 (4.1) |
| Sclerosing cholangitis | 1 (0.8) |
| Non-alcoholic steatohepatitis | 4 (3.3) |
| Hemochromatosis | 1 (0.8) |
| Cryptogenic | 10 (8.2) |
| Others | 6 (4.9) |
| Diabetes mellitus, n (%) | 23 (18.9) |
| Hypertension, n (%) | 34 (27.9) |
| Dyslipidemia (%) | 14 (11.5) |
| Complication present at evaluation, n (%) | |
| Ascites | 25 (20.5) |
| Hepatic encephalopathy | 13 (10.7) |
| Jaundice | 4 (3.3) |
| Esophageal varices | 102 (83.6) |
| Child-Pugh's classification, n (%) | |
| A | 82 (67.2) |
| B | 37 (30.3) |
| C | 3 (2.5) |
| MELD score, mean \pm SD (median) | 9.84 \pm 2.32 (9.42) |
| Nutritional status, n (%) | |
| Adequately nourished | 63 (51.6) |
| Moderately malnourished | 47 (38.5) |
| Severely malnourished | 12 (9.8) |
| BMI (kg/m ²), mean \pm SD (median) | 27.08 \pm 4.99 (26.25) |
| TSF (mm), mean \pm SD (median) | 23.26 \pm 11.67 (23.00) |

| | |
|--|-----------------------------|
| MAMC < 5th percentile, n (%) | 47 (38.5) |
| Laboratory parameters | |
| Albumin (g/dL), mean ± SD (median) | 3.45 ± 0.46 (3.40) |
| INR, mean ± SD (median) | 1.21 ± 0.13 (1.20) |
| Total bilirubin (mg/dL), mean ± SD (median) | 1.27 ± 0.91 (1.00) |
| Direct bilirubin (mg/dL), mean ± SD (median) | 0.48 ± 0.58 (0.30) |
| Total bile acids (μmol/L), mean ± SD (median) | 35.27 ± 33.89 (23.98) |
| Creatinine (mg/dL), mean ± SD (median) | 0.89 ± 0.19 (0.80) |
| GFR (mL/min/1.73m ²), mean ± SD (median) | 93.52 ± 23.74 (94.20) |
| Sodium (mEq/L), mean ± SD (median) | 137.17 ± 2.71 (138.00) |
| Total cholesterol (mg/dL), mean ± SD (median) | 155.67 ± 35.17 (155.00) |
| HDL- cholesterol (mg/dL), mean ± SD (median) | 50.48 ± 16.39 (51.00) |
| LDL- cholesterol (mg/dL), mean ± SD (median) | 90.66 ± 28.82 (88.00) |
| Triglycerides (mg/dL), mean ± SD (median) | 85.51 ± 49.62 (73.00) |
| Fasting blood glucose (mg/dL), mean ± SD (median) | 108.07 ± 32.41 (100.00) |
| Insulin (IU/ml), mean ± SD (median) | 14.34 ± 14.82 (9.23) |
| Glycated hemoglobin (%), mean ± SD (median) | 5.90 ± 1.22 (5.75) |
| HOMA-IR, mean ± SD (median) | 4.13 ± 5.17 (2.47) |
| C-reactive protein, mean ± SD (median) | 6.15 ± 6.91 (3.50) |
| Ferritin (ng/mL), mean ± SD (median) | 188.39 ± 207.26 (130.50) |
| Adiponectin (μg/mL), mean ± SD (median) | 24.26 ± 15.34 (21.59) |
| Resistin (ng/mL), mean ± SD (median) | 4.27 ± 2.26 (3.83) |

SD = standard deviation; MELD = Model for End-Stage Liver Disease; BMI = body mass index based on estimated dry weight; TSF = triceps skin-fold thickness; MAMC = mid-arm muscle circumference; INR = international normalized ratio; GFR = estimated glomerular filtration rate; HOMA-IR = Homeostasis model assessment-insulin resistance.

¹ More than one etiologic factor could be present in specific cases.

Table 2. Spearman's correlation analysis between adipokines and demographic, anthropometric and laboratory variables

| Variable | Adiponectin r (P-value) | Resistin r (P-value) |
|----------------------|----------------------------|-------------------------|
| Age | -0.069 (0.449) | -0.006 (0.951) |
| BMI | -0.205 (0.024) | -0.031 (0.737) |
| Creatinine | -0.323 (<0.001) | 0.228 (0.012) |
| AST | 0.170 (0.061) | -0.198 (0.029) |
| ALT | 0.140 (0.125) | -0.242 (0.007) |
| Alkaline phosphatase | 0.211 (0.020) | 0.001 (0.995) |
| GGT | -0.149 (0.101) | -0.207 (0.022) |
| Total bilirubin | 0.221 (0.015) | -0.031 (0.737) |
| Albumin | -0.277 (0.002) | -0.043 (0.641) |
| INR | 0.133 (0.145) | 0.050 (0.584) |
| Blood glucose | -0.258 (0.004) | -0.221 (0.015) |
| Sodium | -0.045 (0.623) | -0.173 (0.058) |
| CRP | 0.054 (0.555) | 0.247 (0.007) |
| Ferritin | -0.046 (0.614) | -0.129 (0.156) |
| Total cholesterol | 0.139 (0.128) | -0.094 (0.304) |
| HDL-cholesterol | 0.290 (0.001) | -0.189 (0.038) |
| LDL-cholesterol | 0.039 (0.667) | 0.033 (0.719) |
| Triglycerides | -0.318 (<0.001) | -0.060 (0.513) |
| HOMA-IR | -0.203 (0.025) | -0.161 (0.078) |
| MELD | 0.135 (0.138) | 0.078 (0.392) |

BMI = body mass index based on estimated dry weight; AST= aspartate aminotransferase; ALT = alanine aminotransferase; GGT = gamma-glutamyl-transferase; INR = international normalized ratio; CRP = C-reactive protein; HOMA-IR = Homeostasis model assessment-insulin resistance; MELD = Model for End-Stage Liver Disease.

Table 3: Human studies that investigated the relationship between adiponectin and cirrhosis

| Author /Year (reference) | Number of included subjects and etiology | Adiponectin levels | Primary outcome | Remarks |
|--------------------------|--|--|---|---|
| Tietge 2004 (8) | Liver cirrhosis: 6 (30%) alcoholic, 6 (30%) with HBV and HCV, 6 (30%) with biliary disease and 2 (10%) cryptogenic. Controls: 20 subjects. | Child A (7.3 ± 0.9 µg/mL), Child B (17.2 ± 2.2 µg/mL), Child C (17.2 ± 3.1 µg/mL), Controls (8.2 ± 1.1 µg/mL). | Adiponectin plasma levels elevated in cirrhosis. Not related to parameters of body composition or metabolism. High adiponectin related to parameters of reduced liver function and altered hepatic hemodynamics. | Small sample size. No prognostic information. |
| Tacke 2005 (22) | Liver cirrhosis: 93 patients (33% viral hepatitis ; 28% biliary or autoimmune liver disease; 30% alcoholic or cryptogenic; 9% other causes). Miscellaneous non-cirrhotic chronic liver diseases in 18 patients. Healthy controls: 226 individuals. | Median adiponectin levels were: 7.6 nmol/L in healthy controls; 10.4 nmol/L in non-cirrhotic liver diseases; 14.5 nmol/L in cirrhotics | Adiponectin levels higher in chronic liver disease vs. controls and in patients with cirrhosis vs. non-cirrhotic chronic liver disease. Adiponectin correlates with stage of cirrhosis and parameters of liver cell injury. Animal experiment | No prognostic information. |

| | | | | |
|---------------------|--|---|--|--|
| Kaser 2005 (23) | Liver cirrhosis: 93 patients (9% NAFLD ; 34% alcoholic liver disease; 33% HCV; 9% HBV; 14% Primary biliary cholangitis). Healthy controls: 21 individuals. | Cirrhosis (30.71 ± 1.41 µg/mL) and controls (12.83 ± 1.35 µg/mL). Child A (17.31 ± 1.72 µg/mL), Child B (30.34 ± 1.89 µg/mL), Child C (46.29 ± 3.94 µg/mL). | showing rapid increase in adiponectin after bile duct ligation, suggesting biliary secretion of adiponectin. Adiponectin is increased in liver cirrhosis independent of the etiology and is related to the stage of disease. Adiponectin significantly decreased in a subgroup of patients receiving infliximab for alcoholic hepatitis suggesting a relationship between inflammatory state and adiponectin levels. Adiponectin levels correlated with liver function parameters (prothrombin activity, bilirubin and albumin). Adiponectin was not | No prognostic information. Absence of control group of alcoholic hepatitis patients untreated with anti-TNF to corroborate the hypothesis. |
| Nkontchou 2010 (24) | 248 (100%) patients with compensated HCV cirrhosis. | <u>Cirrhosis (16.5 ± 15.3 µg/mL).</u> | Adiponectin levels correlated with liver function parameters (prothrombin activity, bilirubin and albumin). Adiponectin was not | Only compensated patients included. |

| | | | | |
|------------------|--|--|---|---|
| | | | related to HCC, liver-related death or liver transplantation during follow-up. | |
| Balmer 2010 (9) | 232 patients (45 (19%) subjects with cirrhosis, 64 (28%) subjects with NAFLD, 71(31%) subjects with viral hepatitis, 18 (8%) subjects with autoimmune disease, 3 (1%) subjects with alcohol-induced liver disease, 31 (13%) subjects with elevated liver enzymes of unknown origin) and 20 controls. | Cirrhosis (18.6 ± 14.5 $\mu\text{g/mL}$), patients without cirrhosis (8.4 ± 6.1 $\mu\text{g/mL}$), and controls (9.1 $\mu\text{g/mL}$). NAFLD (4.8 ± 3.5 $\mu\text{g/mL}$) and other liver disease (10.4 ± 6.3 $\mu\text{g/mL}$). | Adiponectin levels correlate positively with markers of hepatic fibrosis. Adiponectin decreased in NAFLD and increased in cirrhosis. | Etiology of cirrhosis not specified. No prognostic information. |
| Salman 2010 (25) | 40 (44%) subjects with HCV-related cirrhosis, 30 (33%) subjects with cirrhosis and cholestasis; and 20 (22%) controls. | HCV cirrhosis (15.1 ± 12.14 $\mu\text{g/mL}$), cirrhosis with cholestasis (21.28 ± 10.2 $\mu\text{g/mL}$), and controls (4.7 ± 4.48 $\mu\text{g/mL}$). | Adiponectin is elevated in cirrhosis. Adiponectin correlated with liver cell injury, marker of inflammation, synthetic liver function and markers of cholestasis. | Small sample size. No prognostic information. |
| Siegel | 140 patients with | Median | Serum | Heterogene |

| | | | | |
|----------------------|--|--|---|--|
| 2015 (27) | cirrhosis and HCC (59% HCV; 15% HBV; 27% alcoholic cirrhosis). | adiponectin levels 13,050 ng/mL. | adiponectin was an independent predictor of overall survival in HCC patients. | ous population. Absence of serial assessment of adiponectin. |
| Hamdy 2015 (28) | 90 (100%) patients with hepatitis C-related liver cirrhosis with HCC and 32% without HCC). | Cirrhosis with HCC: 5.213 ± 3.840 µg/mL); cirrhosis without HCC: 9.000 ± 2.234 µg/mL. | Low adiponectin levels (<5.4 µg/mL) associated with HCC. Adiponectin suggested as a biomarker of HCC. | Small sample size. No prognostic information. Not prospective (Cross-sectional design limit the interpretation of results) |
| Kalafateli 2015 (29) | 40 subjects with non-diabetic alcoholic cirrhosis. | All cirrhotics: median adiponectin 10.23 µg/mL; Child A 7.99 µg/mL; Child B 7.66 µg/mL; Child C 25.73µg/mL | Adiponectin correlated with INR, aminotransferases, bilirubin. Higher adiponectin associated with shorter survival in the univariate analysis but not in the multivariate analysis. | Small sample size. No control group. HCC patients included. Absence of serial assessment of adiponectin. |

HBV = hepatitis B virus; HCV = hepatitis C virus; NAFLD = non-alcoholic fatty liver disease; TNF= tumour necrosis factor; HCC = hepatocellular carcinoma.

Table 4: Human studies that investigated the relationship between resistin and cirrhosis

| Author /Year (reference) | Number of included subjects and etiology | Levels of resistin | Primary outcome | Remarks |
|--------------------------|---|---|---|---|
| Bahr 2005 (30) | 57 patients with cirrhosis (25% alcoholic; 39% virus-induced cirrhosis; 26% biliary cirrhosis; 10.52% cryptogenic) 30 controls. | Cirrhosis 6.5 ± 0.4 ng/mL and controls 3.5 ± 0.2 ng/mL. Child A 5.6 ± 0.6 ng/mL, Child B 5.6 ± 0.6 ng/mL, Child C 7.7 ± 0.7 ng/mL. | Higher resistin levels in alcoholic and biliary etiologies of cirrhosis as compared to viral etiology. No significant changes after liver transplantation. Circulating resistin was related to systemic inflammation (TNF- α) and parameters of hepatic metabolism. | Small sample size. No prognostic information. |
| Yagmur 2006 (14) | 82 patients with chronic liver disease (29.26% virus hepatitis; 25.60% alcoholic or cryptogenic; 23.17% biliary or autoimmune; 21.95% other etiologies) 67 patients were cirrhotic 76 controls. | Patients median resistin and controls 5.2 μ g/L 4.0 μ g/L. No cirrhosis 3.9 μ g/L, Child A 4.4 μ g/L, Child B 6.2 μ g/L, Child C 9.2 μ g/L. | Resistin levels correlated with parameters of liver function, systemic inflammation and HOMA index. Resistin predicted overall survival in univariate and multivariate analysis. | Small sample size. Multivariate analysis not included prognostic models (Child-Pugh and MELD) but the single parameters used to calculate the |

| | | | | |
|-------------------------|---|--|--|---|
| Kakizaki 2008 (31) | 79 (100%) patients with HCV-related cirrhosis and 31 healthy controls. | Child A 6.11 ± 4.68 ng/mL; Child B 7.27 ± 4.10 ng/mL; Child C 14.9 ± 12.83 ng/mL; controls 3.38 ± 1.68 ng/mL. | Plasma resistin significantly higher in patients with more advanced disease (Child B/C vs. Child A). Resistin showed positive correlation with fasting plasma insulin, adiponectin, HOMA-IR index, and a negative correlation with QUICKI. | models. Small sample size. No prognostic information. |
| Kalafateli 2015 (29) | 40 non-diabetic subjects with alcoholic cirrhosis. | Median resistin according ly to Child categories : Child A 0.82 ng/mL, Child B 0.74 ng/mL, Child C 0.88 ng/mL. | Resistin not associated with studied variables, including parameters of severity of liver disease | Small sample size. No control group. HCC patients included. |

HOMA-IR = Homeostasis model assessment-insulin resistance; MELD = Model for End-Stage Liver Disease; HCC = hepatocellular carcinoma.

REFERENCES

1. Juakiem W, Torres DM, Harrison SA. Nutrition in cirrhosis and chronic liver disease. *Clin Liver Dis* 2014;18:179-90.
2. DiSpirito JR, Mathis D. Immunological contributions to adipose tissue homeostasis. *Semin Immunol* 2015;27:315-21.
3. Swarbrick MM, Havel PJ. Physiological, pharmacological, and nutritional regulation of circulating adiponectin concentrations in humans. *Metab Syndr Relat Disord* 2008;6:87-102.
4. Adeghate E. An update on the biology and physiology of resistin. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:2485-96.
5. Stepan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med* 2004;255:439-47.
6. Falcao-Pires I, Castro-Chaves P, Miranda-Silva D, Lourenco AP, Leite-Moreira AF. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of adipokines. *Drug Discov Today* 2012;17:880-9.
7. Silva TE, Colombo G, Schiavon LL. Adiponectin: A multitasking player in the field of liver diseases. *Diabetes Metab* 2014;40:95-107.
8. Tietge UJ, Boker KH, Manns MP, Bahr MJ. Elevated circulating adiponectin levels in liver cirrhosis are associated with reduced liver function and altered hepatic hemodynamics. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;287:E82-9.
9. Balmer ML, Joneli J, Schoepfer A, Stickel F, Thormann W, Dufour JF. Significance of serum adiponectin levels in patients with chronic liver disease. *Clin Sci (Lond)* 2010;119:431-6.
10. Pagano C, Soardo G, Pilon C, Milocco C, Basan L, Milan G, Donnini D, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1081-6.
11. Senates E, Colak Y, Yesil A, Coskunpinar E, Sahin O, Kahraman OT, Erkalma Senates B, et al. Circulating resistin is elevated in patients with non-alcoholic fatty liver disease and is associated with steatosis, portal inflammation, insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis scores. *Minerva Med* 2012;103:369-76.
12. Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Georgiou A, Kafiri G, Tiniakos DG, Manesis EK, et al. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels with fibrosis severity. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:1128-36.
13. Bertolani C, Sancho-Bru P, Failli P, Bataller R, Aleffi S, DeFranco R, Mazzinghi B, et al. Resistin as an intrahepatic cytokine:

overexpression during chronic injury and induction of proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *Am J Pathol* 2006;169:2042-53.

14. Yagmur E, Trautwein C, Gressner AM, Tacke F. Resistin serum levels are associated with insulin resistance, disease severity, clinical complications, and prognosis in patients with chronic liver diseases. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1244-52.

15. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.

16. Centers for Disease C, Prevention. Vital signs: current cigarette smoking among adults aged ≥ 18 years with mental illness - United States, 2009-2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013;62:81-87.

17. Sanyal AJ, Brunt EM, Kleiner DE, Kowdley KV, Chalasani N, Lavine JE, Ratziu V, et al. Endpoints and clinical trial design for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2011;54:344-53.

18. 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.

19. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, D'Amico G, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001;33:464-70.

20. Morgan MY, Madden AM, Soulsby CT, Morris RW. Derivation and validation of a new global method for assessing nutritional status in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2006;44:823-35.

21. Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981;34:2540-5.

22. Tacke F, Wustefeld T, Horn R, Luedde T, Srinivas Rao A, Manns MP, Trautwein C, et al. High adiponectin in chronic liver disease and cholestasis suggests biliary route of adiponectin excretion in vivo. *J Hepatol* 2005;42:666-73.

23. Kaser S, Moschen A, Kaser A, Ludwiczek O, Ebenbichler CF, Vogel W, Jaschke W, et al. Circulating adiponectin reflects severity of liver disease but not insulin sensitivity in liver cirrhosis. *J Intern Med* 2005;258:274-280.

24. Nkontchou G, Bastard JP, Ziolk M, Aout M, Cosson E, Ganne-Carrie N, Grando-Lemaire V, et al. Insulin resistance, serum leptin, and adiponectin levels and outcomes of viral hepatitis C cirrhosis. *J Hepatol* 2010;53:827-33.

25. Salman TA, Allam N, Azab GI, Shaarawy AA, Hassouna MM, El-Haddad OM. Study of adiponectin in chronic liver disease and cholestasis. *Hepatol Int* 2010;4:767-74.
26. Siegel AB, Goyal A, Salomao M, Wang S, Lee V, Hsu C, Rodriguez R, et al. Serum adiponectin is associated with worsened overall survival in a prospective cohort of hepatocellular carcinoma patients. *Oncology* 2015;88:57-68.
27. Hamdy K, Al Swaff R, Hussein HA, Gamal M. Assessment of serum adiponectin in Egyptian patients with HCV-related cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Endocrinol Invest* 2015;38:1225-31.
28. Kalafateli M, Triantos C, Tsochatzis E, Michalaki M, Koutroumpakis E, Thomopoulos K, Kyriazopoulou V, et al. Adipokines levels are associated with the severity of liver disease in patients with alcoholic cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2015;21:3020-9.
29. Bahr MJ, Ockenga J, Boker KH, Manns MP, Tietge UJ. Elevated resistin levels in cirrhosis are associated with the proinflammatory state and altered hepatic glucose metabolism but not with insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;291:E199-206.
30. Kakizaki S, Sohara N, Yamazaki Y, Horiguchi N, Kanda D, Kabeya K, Katakai K, et al. Elevated plasma resistin concentrations in patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:73-7.
31. Latif HA, Assal HS, Mahmoud M, Rasheed WI. Role of serum adiponectin level in the development of liver cirrhosis in patients with hepatitis C virus. *Clin Exp Med* 2011;11:123-9.
32. Ding X, Saxena NK, Lin S, Xu A, Srinivasan S, Anania FA. The roles of leptin and adiponectin: a novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *Am J Pathol* 2005;166:1655-69.
33. Sohara N, Takagi H, Kakizaki S, Sato K, Mori M. Elevated plasma adiponectin concentrations in patients with liver cirrhosis correlate with plasma insulin levels. *Liver Int* 2005;25:28-32.
34. Hutcheson J. Adipokines influence the inflammatory balance in autoimmunity. *Cytokine* 2015;75:272-9.
35. Albillos A, Lario M, Alvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J Hepatol* 2014;61:1385-96.
36. Lopez-Bermejo A, Botas P, Funahashi T, Delgado E, Kihara S, Ricart W, Fernandez-Real JM. Adiponectin, hepatocellular dysfunction and insulin sensitivity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;60:256-63.

37. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 2008;14:741-51.
38. Christou GA, Kiortsis DN. Adiponectin and lipoprotein metabolism. *Obes Rev* 2013;14:939-49.
39. Martinez EC FM, Anjos LA. Influencia do estado nutricional e do VO₂max nos níveis de adiponectina em homens acima de 35 anos. *Arq Bras Cardiol* 2011;96:471-6.
40. Greco AV, Mingrone G, Favuzzi A, Capristo E, Gniuli D, Addolorato G, Brunani A, et al. Serum leptin levels in post-hepatitis liver cirrhosis. *J Hepatol* 2000;33:38-42.
41. Petrides AS, DeFronzo RA. Glucose and insulin metabolism in cirrhosis. *J Hepatol* 1989;8:107-14.
42. Corbetta S, Redaelli A, Pozzi M, Bovo G, Ratti L, Redaelli E, Pellegrini C, et al. Fibrosis is associated with adiponectin resistance in chronic hepatitis C virus infection. *Eur J Clin Invest* 2011;41:898-905.
43. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de Iasio R, Gentilcore E, et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3498-504.
44. Siagris D, Vafiadis G, Michalaki M, Lekkou A, Starakis I, Makri M, Margaritis V, et al. Serum adiponectin in chronic hepatitis C and B. *J Viral Hepat* 2007;14:577-83.
45. Combs TP, Pajvani UB, Berg AH, Lin Y, Jelicks LA, Laplante M, Nawrocki AR, et al. A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity. *Endocrinology* 2004;145:367-83.
46. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001;7:941-6.
47. Ng TW, Watts GF, Farvid MS, Chan DC, Barrett PH. Adipocytokines and VLDL metabolism: independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics? *Diabetes* 2005;54:795-802.
48. Jiang LL, Li L, Hong XF, Li YM, Zhang BL. Patients with nonalcoholic fatty liver disease display increased serum resistin levels and decreased adiponectin levels. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21:662-6.

49. You M, Considine RV, Leone TC, Kelly DP, Crabb DW. Role of adiponectin in the protective action of dietary saturated fat against alcoholic fatty liver in mice. *Hepatology* 2005;42:568-77.
50. Rogers CQ, Ajmo JM, You M. Adiponectin and alcoholic fatty liver disease. *IUBMB Life* 2008;60:790-7.
51. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003;112:91-100.
52. You M, Rogers CQ. Adiponectin: a key adipokine in alcoholic fatty liver. *Exp Biol Med* (Maywood) 2009;234:850-9.
53. Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br J Pharmacol* 2012;165:622-32.
54. Gnacinska M, Malgorzewicz S, Stojek M, Lysiak-Szydłowska W, Sworczak K. Role of adipokines in complications related to obesity: a review. *Adv Med Sci* 2009;54:150-7.
55. Filkova M, Haluzik M, Gay S, Senolt L. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. *Clin Immunol* 2009;133:157-70.
56. Singh AK, Tiwari S, Gupta A, Natu SM, Mittal B, Pant AB. Association of resistin with metabolic syndrome in Indian subjects. *Metab Syndr Relat Disord* 2012;10:286-91.
57. Pięstrzeniewicz K, Luczak K, Komorowski J, Maciejewski M, Jankiewicz Wika J, Goch JH. Resistin increases with obesity and atherosclerotic risk factors in patients with myocardial infarction. *Metabolism* 2008;57:488-93.
58. Morace C, Spadaro A, Cucunato M, Tortorella V, Consolo P, Luigiano C, Stabile G, et al. High serum resistin in chronic viral hepatitis is not a marker of metabolic disorder. *Hepatogastroenterology* 2010;57:1215-9.
59. Shen C, Zhao CY, Wang W, Wang YD, Sun H, Cao W, Yu WY, et al. The relationship between hepatic resistin overexpression and inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterol* 2014;14:39.
60. Polyzos SA, Toulis KA, Goulis DG, Zavos C, Kountouras J. Serum total adiponectin in nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism* 2011;60:313-26.
61. Abate N, Sallam HS, Rizzo M, Nikolic D, Obradovic M, Bjelogrić P, Isenovic ER. Resistin: an inflammatory cytokine. Role in cardiovascular diseases, diabetes and the metabolic syndrome. *Curr Pharm Des* 2014;20:4961-9.

62. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, Rohatgi A, Lazar MA, Rader DJ. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005;111:932-9.
63. Lee SE, Kim HS. Human resistin in cardiovascular disease. *J Smooth Muscle Res* 2012;48:27-35.
64. Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;309:286-90.
65. Bo S, Gambino R, Pagani A, Guidi S, Gentile L, Cassader M, Pagano GF. Relationships between human serum resistin, inflammatory markers and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)* 2005;29:1315-20.
66. Watt KD, Fan C, Therneau T, Heimbach JK, Seaberg EC, Charlton MR. Serum adipokine and inflammatory markers before and after liver transplantation in recipients with major cardiovascular events. *Liver Transpl* 2014;20:791-7.
67. Nakagawa H, Fujiwara N, Tateishi R, Arano T, Nakagomi R, Kondo M, Minami T, et al. Impact of serum levels of interleukin-6 and adiponectin on all-cause, liver-related, and liver-unrelated mortality in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30:379-88.

ANEXO F – Artigo aceito para publicação

Revista: Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews

Aceito em 19/12/17

Shaukat Sadikot <Evisesupport@elsevier.com>

Ref: DMSCRR_2017_370

Title: **Challenges in diagnosing and monitoring diabetes in patients with chronic liver diseases**

Journal: Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews

Dear Dr. SILVA,

I am pleased to inform you that your paper has been accepted for publication. Now that your manuscript has been accepted for publication it will proceed to copy-editing and production.

Thank you for submitting your work to Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. We hope you consider us again for future submissions.

Kind regards,

Shaukat Sadikot

Editor-in-Chief

Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews

Challenges in diagnosing and monitoring diabetes in patients with chronic liver diseases

Authors:

Telma E Silva, Marcelo F Ronsoni, Leonardo L. Schiavon.

Affiliations:

* Telma E Silva

Division of Gastroenterology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis – SC –Brazil.

Address: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima – Trindade – Florianópolis – SC - Brazil – 88040-970.

Email: telma.gastro@gmail.com

* Marcelo F Ronsoni

Division of Endocrinology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis – SC –Brazil.

Address: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima – Trindade – Florianópolis – SC - Brazil – 88040-970.

Email: ronsoni.marcelo@gmail.com

* Leonardo L. Schiavon

Division of Gastroenterology, Federal University of Santa Catarina,
Florianópolis – SC –Brazil.

Address: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima –
Trindade – Florianópolis – SC - Brazil – 88040-970.

Email: leo-jf@uol.com.br

Corresponding author: Telma Erotides da Silva

Rua Eliseu Guilherme, 160 – Coqueiros – Florianopolis – SC – Brazil –
Zipcode: 88080825

Phone: +55 48 991014068

Email: telma.gastro@gmail.com

ABSTRACT

The prevalence and mortality of diabetes mellitus and liver disease have risen in recent years. The liver plays an important role in glucose homeostasis, and various chronic liver diseases have a negative effect on glucose metabolism with the consequent emergence of diabetes. Some aspects related to chronic liver disease can affect diagnostic tools and the monitoring of diabetes and other glucose metabolism disorders, and clinicians must be aware of these limitations in their daily practice. In cirrhotic patients, fasting glucose may be normal in up until 23% of diabetes cases, and glycated hemoglobin provides falsely low results, especially in advanced cirrhosis. Similarly, the performance of alternative glucose monitoring tests, such as fructosamine, glycated albumin and 1,5-anhydroglucitol, also appears to be suboptimal in chronic liver disease. This review will examine the association between changes in glucose metabolism and various liver diseases as well as the particularities associated with the diagnosis and monitoring of diabetes in liver disease patients. Alternatives to routinely recommended tests will be discussed.

Key Words: diabetes, glycated hemoglobin, cirrhosis, chronic liver disease.

Introduction

Diabetes and liver diseases are major causes of morbidity and mortality worldwide. The prevalence and mortality related to diabetes mellitus (DM) has increased significantly in recent decades, resulting in significant economic and social burden [1, 2]. Similarly, mortality related to liver disease is growing, with more than one million deaths from liver cirrhosis in 2010 [3]. When the deaths from liver cancer and acute hepatitis are combined, the annual number of fatalities due to liver disease can exceed two million [4]. The coexistence of changes in glucose metabolism and chronic liver disease is common, partially due to the high prevalence of both conditions. However, the liver plays a key role in glucose homeostasis, and its malfunction is related to the onset of hepatogenous diabetes [5, 6]. Furthermore, even outside of the context of liver failure, various chronic liver diseases are associated with the appearance of DM through different mechanisms. Thus, tools for the diagnosis and monitoring of DM and other glucose metabolism disorders are especially important in patients with liver disease. However, some aspects related to chronic liver diseases can affect the results of these tests, and clinicians should be aware of the limitations in their daily practice. In this review, we discuss the association between changes in glucose metabolism and various liver diseases as well as the particularities related to the diagnosis and monitoring of DM in patients with liver disease. Alternatives to routinely recommended tests are also discussed.

Effects of chronic liver disease on glucose metabolism

Several chronic liver diseases exert a negative effect on glucose metabolism through various mechanisms (Table 1).

Table 1: Estimated prevalence and proposed mechanisms for DM in various liver diseases

| Liver disease | Estimated prevalence of DM | Proposed mechanisms |
|---------------|----------------------------|--|
| NAFLD | 14% to 23.2% [7, 8] | <p>Increased hepatic insulin resistance secondary to adipose tissue dysfunction [9, 10].</p> <p>Changes in liver mitochondrial function (secondary to lipotoxicity, oxidative stress and inflammatory response) with an effect on hepatic energy metabolism (adenosine triphosphate) [11].</p> <p>Changes in the entero-insular axis, such as increased dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) enzyme activity, and changes in the beta cell response to glucose and incretins [12, 13].</p> <p>Genetic polymorphisms, such as TCF7L2, WFS1 and KCNQ1 [14-16].</p> |
| Cirrhosis | 37% to 71% [17-19] | <p>Reduction in insulin clearance by the liver (as a result of a reduction in the hepatocytic mass and portosystemic shunting) [20, 21].</p> <p>Reduction in insulin receptor affinity, reduction in the number of receptors exposed on the cellular surface and functional changes to these receptors as a result of hyperinsulinemia [22-24].</p> <p>Accumulation of advanced glycation end products and hypoxia-induced factor [25].</p> |
| Hepatitis C | 17.5% to | Morphological and functional |

| | | |
|----------------------------|-------------------------|---|
| | 37.8% [26, 27] | changes to pancreatic beta cells infected with HCV [28]. Change in insulin signaling through direct and indirect actions of HCV [29-33]. |
| Hemochromatosis | 10.5% to 21.9% [34, 35] | Excess iron causes oxidative stress in pancreatic beta cells with islet apoptosis, reducing insulin secretion capacity [36, 37]. Insulin resistance secondary to liver injury by iron overload [38, 39]. Genetic predisposition[40]. |
| Post-liver transplantation | 13.7% to 44% [41, 42] | Changes in gluconeogenesis, glycogenolysis and/or insulin signaling [41, 43-45]. Reduction in the activity of pancreatic beta cells resulting from pre-existing dysfunction, use of immunosuppressive drugs or genetic changes [44, 46-49]. Change in intestinal microbiota due to functional metabolic interaction or after transplantation secondary to multiple factors, such as surgical stress and immunosuppression [44, 50]. |

NAFLD = non-alcoholic fatty liver disease; HCV = hepatitis C virus.

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)

NAFLD refers to the presence of hepatic steatosis with no other secondary cause, such as alcohol, hypothyroidism or certain medications. The global prevalence of NAFLD is approximately 20% and the progression rates to cirrhosis a

nd hepatocellular carcinoma are around 2.5% [51]. NAFLD is strongly related to the pathogenesis of metabolic syndrome and insulin

resistance, and there is strong evidence that NAFLD increases the risk of type 2 diabetes mellitus (T2DM) irrespective of other factors [52-56]. However, common genetic variants may also be related to NAFLD. A variant of patatin-like phospholipase domain-containing 3 (PNPLA3) has been associated with steatosis, steatohepatitis and fibrosis [57]. A genetic variant in transmembrane 6 superfamily member 2 (TM6SF2) has also been related to increased liver fat concentrations and steatohepatitis [58]. Although genetic and metabolic risk factors for NAFLD can coexist in the same individual, the cited mutations do not appear to increase the risk of insulin resistance and type 2 diabetes [56].

Hepatic cirrhosis

Liver cirrhosis is the final stage of many chronic liver diseases that are associated with progressive hepatic fibrosis. Cirrhosis is a major public health problem, with increasingly morbidity and mortality worldwide [3]. Changes in glucose metabolism are observed in most cirrhotic patients, with glucose intolerance observed in approximately one-quarter of patients and DM in up to 70% [19, 59-61]. Additionally, some studies indicate that DM is associated with increased mortality in patients with cirrhosis [60-65]. DM also seems to be related to an increased risk of complications of cirrhosis, such as ascites, bacterial infections and hepatic encephalopathy [63]. Glucose intolerance and DM secondary to cirrhosis occur as a result of peripheral resistance to the action of insulin and hyperinsulinemia. Several mechanisms seem to be involved in the pathogenesis of insulin resistance in cirrhotic patients. Decreased insulin clearance due to a reduced hepatocytic mass or secondary to a reduction in hepatic extraction as a result of portosystemic collaterals may result in hyperinsulinemia. Hyperinsulinemia is associated with a reduction in insulin receptor affinity, a reduction in the number of receptors exposed on the cell surface and functional changes to these receptors. Thus, hyperinsulinemia may induce insulin resistance [21-23]. Other phenomena secondary to chronic liver disease that appear to contribute

to insulin resistance in cirrhotic individuals include the accumulation of advanced glycation end products and hypoxia-inducible factor [25]. The difference between hepatogenic DM and T2DM can be complicated, because T2DM is also a risk factor for hepatic cirrhosis [66]. The following factors suggest a diagnosis of hepatogenic DM: onset after a diagnosis of cirrhosis; absence of classic risk factors for type 2 diabetes; normal fasting glucose and glycated hemoglobin (HbA1c) with abnormal oral glucose tolerance test (OGTT) results; and a lower incidence of DM complications [6]. Both of these situations affect the prognosis of cirrhotic patients; however, there is potential for improvement or reversal of hepatogenic diabetes after liver transplantation, which is not observed in T2DM [67].

Chronic hepatitis C

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection is a major cause of chronic liver disease worldwide, with an overall estimated prevalence of anti-HCV positive patients of 1.6%, which corresponds to approximately 115 million viremic patients [68]. HCV infection significantly increases the risk of T2DM. A meta-analysis of 34 studies showed that the combined risk of type 2 diabetes was significantly higher in HCV infected individuals than in uninfected controls in both retrospective (adjusted odds ratio (OR) 1.68) and prospective studies (adjusted hazards ratio (HR) 1.67). This risk appears to be even higher in HCV/HIV co-infected patients as compared to patients mono-infected with HIV (unadjusted OR=1.82). A direct pathogenic effect of HCV in the development of T2DM is suggested not only by the higher prevalence but also by evidence of a higher incidence of T2DM among individuals infected with HCV [69] and by the reduction in this incidence after achieving a sustained virological response (SVR) [70].

Several mechanisms in addition to liver fibrosis and cirrhosis appear to be involved in the pathogenesis of HCV-induced insulin resistance and T2DM. HCV appears to directly affect multiple steps in the insulin signaling pathway, leading to an imbalance between the activating tyrosine-phosphorylated insulin substrate receptor 1 (IRS-1), inhibitory serine-phosphorylated IRS-1 and threonine-phosphorylated Akt (protein kinase B) levels [29, 71-73]. In addition to this direct effect,

the secondary inflammatory response to HCV infection also appears to be an important mechanism involved in the induction of insulin resistance and type 2 diabetes [74]. Although glucose transporter 2 (GLUT2), which is responsible for transporting glucose into hepatocytes, is downregulated by the HCV core protein, tumor necrosis factor alpha (TNF- α) is produced in response to chronic infection and inhibits IRS and phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K) via suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS-3) [75-79]. These effects on the intracellular insulin signaling pathway can block GLUT-4 activation, thereby reducing cellular glucose uptake. In addition to the effects on the insulin signaling pathway, there is evidence that pancreatic beta cells can be infected by HCV, which can result in morphological and functional changes [28]. These changes can also be secondary to the direct action of HCV or to inflammatory mediator activity produced as a result of viral infection [32, 80].

Hereditary hemochromatosis

Hereditary hemochromatosis is a genetic disease characterized by the accumulation of iron in various organs and tissues. Hemochromatosis is commonly caused by mutations that affect the proteins (e.g., human hemochromatosis protein, HFE) that help hepcidin monitor serum iron. The mutation pattern most commonly related to HFE hemochromatosis is C282Y homozygosity [81]. Individuals with compound C282Y/H63D heterozygosity or H63D homozygosity may also exhibit abnormal iron parameters and hepatic accumulation, but these phenomena are usually related to other co-factors [82-84]. Other rarer mutations related to hereditary non-HFE hemochromatosis include mutations in the transferrin receptor 2, hepcidin, hemojuvelin and ferroportin genes [85]. Initial studies found DM prevalence rates over 50% among patients with hemochromatosis [38]. The discovery of genetic testing has facilitated an early diagnosis, which has reduced these rates to values between 13% and 23% [35, 36, 86]. The main mechanism involved in the pathogenesis of DM related to hereditary hemochromatosis seems to be dysfunction of β -cells with insulin deficiency. Excess iron leads to oxidative stress with apoptosis in the pancreatic islets and desensitization of glucose-induced insulin secretion

[37]. Other factors, such as obesity and cirrhosis, also contribute to the development of DM in patients with hemochromatosis [38].

Post-liver transplantation

The emergence of DM is a common complication after liver transplantation, with an estimated incidence rate between 14 and 44% [41-43]. Post-transplant DM is associated with an increased risk of cardiovascular mortality, has a negative impact on the patient's quality of life and increases health care costs [87]. In addition to the classic risk factors, aspects specifically related to liver transplantation, such as immunosuppression-related β -cell dysfunction or liver disease and intestinal microbiota changes, seems to contribute to the appearance of post-liver transplantation DM [44].

Miscellaneous

Changes in glucose metabolism are frequent in patients on prolonged corticosteroid treatment and should be considered during the follow-up of patients with autoimmune hepatitis. Primary biliary cholangitis also has an association with other autoimmune diseases, including type 1 diabetes [88]. Chronic hepatitis B does not appear to be associated with an increased risk of developing DM, but the presence of DM in hepatitis B patients is related to more severe disease progression [89].

Impact of chronic liver disease on currently available methods for the diagnosis and monitoring of DM

Diagnostic criteria for impaired fasting glucose (IFG), impaired glucose tolerance (IGT) and DM

Type 1 DM has a relatively acute onset, with a typical characteristic clinical picture and a markedly increased glucose levels, which facilitate the diagnosis irrespective of the method or cut-off point chosen. However, type 2 DM has a more insidious onset, with a slow and gradual increase in circulating glucose, which emphasizes the importance of the establishment of cut-off points that indicate a pathological condition. Over the past decades, significant evolution has occurred in the diagnostic criteria for glucose metabolism disorders. However, the blood glucose level has remained the only recommended method for many years, with variations only in the cut-off points used to define different clinical situations [90]. Blood glucose measurements can only reflect acute changes, and the use of markers that capture long-term glycemic exposure, such as HbA1c, has the potential to be a more appropriate diagnostic tool in this context. Thus, HbA1c dosage has been recommended for DM diagnosis since 2009 following the endorsement of the International Expert Committee [91]. This currently adopted recommendation was subsequently included in the guidelines of the American Diabetes Association (ADA) and World Health Organization (WHO) (Table 2) [92, 93].

Table 2: Current recommendations for DM diagnosis

| DM diagnostic criteria | Advantages | Disadvantages |
|------------------------|--|---|
| HbA1c \geq 6.5%* | <p data-bbox="412 320 692 389">Does not require fasting or multiple samples [94].</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="412 424 692 493">• Reflects chronic blood glucose levels [94]. <li data-bbox="412 528 692 667">• Relationship with risk of chronic complications, such as retinopathy [94]. <p data-bbox="412 702 692 841">Does not undergo changes during periods of stress or related diseases [92].</p> <p data-bbox="412 876 692 1015">Useful as a guide in treatment decisions and treatment adjustment [94].</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="412 1050 692 1189">• International standardization aligned with DCCT and UKPDS [94]. <li data-bbox="412 1224 692 1402">• Lower inter- and intrapersonal coefficient of variation and less pre-analytical instability than blood glucose [94]. | <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="722 320 1002 539">• Interference in some diseases, such as hemoglobinopathies, changes in erythropoiesis or during red cell turnover[94]. <li data-bbox="722 574 1002 676">• Not suitable for the diagnosis of gestational DM [94]. <p data-bbox="722 711 1002 780">Higher cost than fasting glucose [92].</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="722 815 1002 994">• The 6.0% normal upper limit generates a gap between 6.1 and 6.5% for the diagnosis of DM [94]. <p data-bbox="722 1029 1002 1166">Discrepancy between the 6.5% diagnostic level and the treatment target of 7.0% [94].</p> |

| | | |
|---|--|--|
| Venous fasting plasma glucose \geq 7.0 mmol/L (126 mg/dL)* | Widely available and affordable in most low- and middle-income countries [93]. | Daily variability [93]. |
| | Rapid processing [93]. | Requires fasting [93]. |
| | Does not suffer from interference from hemoglobinopathies unless the patient is very ill [93]. | Is increased in severe or acute diseases [93]. |
| | Useful in diagnosing very high blood glucose levels when there are classic symptoms of hyperglycemia or hyperglycemic crises [92]. | Is not suitable for treatment monitoring [95]. |
| 2 h venous plasma glucose during the OGTT \geq 11.1 mmol/L (200 mg/dL)* | Suitable for the diagnosis of gestational DM [95]. | Is not routinely recommended for diagnosing DM except in pregnancy [97]. |
| | Classifies the various degrees of glucose intolerance [96]. | Requires several collections in the morning after an overnight fast [97]. |
| | Identifies patients at risk of developing diabetic complications, such as cardiovascular disease and macrosomia [97]. | Poor reproducibility, including biological variation of plasma glucose concentrations, variable effects of administration of a |

hypertonic glucose
solution in gastric
emptying and effects of
ambient temperature
[97, 98].

DM = diabetes mellitus; HbA1c = Glycosylated hemoglobin; DCCT = Diabetes control and complications trial; UKPDS = United Kingdom prospective diabetes study; OGGT = Oral glucose tolerance test.

*In the absence of unequivocal hyperglycemia, these criteria should be confirmed by repeat testing

HbA1c for the diagnosis and monitoring of DM

Hemoglobin A (Hb) is the principal and native form of hemoglobin. In healthy people, 97% of hemoglobin is type A1, 2.5% is type Hb A2 and 0.5% is fetal Hb. Approximately 94% of HbA is glycated, and 6% is non-glycated [99]. Glycated hemoglobin is composed of HbA1a and HbA1b, which together amount to 1% of the total glycated hemoglobin, and HbA1c, which corresponds to 5%. HbA1c is formed when glucose is bound stably and irreversibly to the valine NH₂-terminus of the hemoglobin molecule beta chain [99, 100]. HbA1c formation depends on the interaction between the blood glucose concentration and the half-life of the red blood cells and is directly proportional to the glucose concentration [100]. Approximately 50% of HbA1c is the result of glucose exposure over the last 30 days, 40% is from the last 31-90 days and 10% is formed by glucose exposure over the previous 91-120 days. Therefore, its measurement represents the average glycemic status over the last 2-3 months [99].

Although HbA1c has only recently been incorporated as a test for DM diagnosis, HbA1c is the test of choice for monitoring DM and has been

used since 1985 as a parameter for treatment dose adjustment and assistance in patient education [101]. Maintaining an HbA1c level under 7% is considered one of the main goals in DM control. Studies by the *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) and *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) have shown that chronic complications begin to develop when the A1C level is permanently over 7% [102, 103]. However, more recent studies have suggested that glycemic control targets should be individualized according to the needs of each patient and specific aspects of their disease [104]. A 6.5% target may be recommended in selected patients without significant hypoglycemia or adverse treatment effects, short-term DM, a long life expectancy, no comorbidities or cardiovascular complications and treated only with lifestyle changes and metformin [104]. However, a target HbA1c of 8.0% may be appropriate for patients with a history of severe hypoglycemia, a limited life expectancy, advanced micro- or macrovascular complications, multiple comorbidities or long-term DM that is difficult to control with education, blood glucose monitoring and effective doses of medications [104].

Interference factors and effect of chronic liver disease on HbA1c levels

Several factors affect HbA1c measurement (Table 3), which may result in falsely high or low levels. Factors that can raise HbA1c values include anemia associated with decreased cellular turnover (e.g., iron, folate and vitamin B12 deficiency) [105-107], uremia [108], acute hypertriglyceridemia [109], chronic salicylate and opioid ingestion [107, 110]. Some factors often related to liver disease can also lead to falsely elevated HbA1c levels, such as severe hyperbilirubinemia (> 20 mg/dL) [111] and alcoholism [112, 113].

Moreover, situations such as acute or chronic blood loss anemia, hemolysis, pregnancy and vitamin E ingestion can falsely reduce the HbA1c level [114-120]. Treatment of chronic hepatitis C with interferon and ribavirin may also reduce the HbA1c levels, possibly due to

ribavirin-induced hemolysis [121, 122]. Thus, even with the currently available interferon-free treatments, care should be taken in the interpretation of HbA1c in patients treated with regimens containing ribavirin. Another important factor related to a reduction in the HbA1c levels is liver cirrhosis. Cacciatore et al. demonstrated that although glucose intolerance and DM based on the OGTT were observed in 15% and 27% of patients with cirrhosis, respectively and HbA1c levels of the cirrhotic patients did not differ from the levels of patients with chronic hepatitis and controls who did not have DM [123]. Nomura et al. also found similar HbA1c levels between cirrhotic patients and non-diabetic controls even though the blood glucose levels were significantly higher among the cirrhotic patients [124]. In the same study, chronic hepatitis without cirrhosis did not appear to significantly affect the HbA1c levels [124]. Other small studies have found similar results [125, 126]. More recently, a study was conducted with 200 patients with decompensated cirrhosis evaluated for liver transplantation in which HbA1c was measured and three previous blood glucose levels were available performed an estimated HbA1c calculation [127]. In that study, a difference of more than 0.5% between the measured and estimated HbA1c was observed in 47% of the patients, and the HbA1c was less than 5% in 49% of the cases [127]. The reasons for the reduced HbA1c levels in cirrhosis are not fully understood. One possible explanation is the shortened erythrocyte life span and the anemia frequently observed in patients with advanced liver disease [128]. Indeed, cirrhotic patients are at increased risk of anemia due to apparent or occult bleeding related to portal hypertension and hemolysis that is mainly related to hypersplenism [128, 129]. Moreover, Lahousen et al. demonstrated that the HbA1c levels in cirrhotic patients and patients treated with ribavirin were negatively correlated with the reticulocyte count, indicating the effect of hemolysis on this test [125].

Table 3: Factors affecting the HbA1c levels

| Factor | Decreases HbA1c | Increases HbA1c | Variable changes in HbA1c |
|----------------|--|--|---|
| Erythropoiesis | <p>Anemia from acute or chronic blood loss [107, 130].</p> <p>Erythropoietin, iron or vitamin B12 use [131].</p> <p>Reticulocytosis [131].</p> <p>Chronic liver disease [131].</p> <p>Erythropoietin deficiency anemia secondary to terminal stage kidney disease [107, 131, 132].</p> <p>Pregnancy (levels decrease in second trimester in pregnant women without DM) [107, 118].</p> | <p>Iron deficiency [107, 131, 132].</p> <p>Aplastic anemia [133].</p> <p>Vitamin B12 and/or folic acid deficiency [107, 130, 131].</p> | <p>Blood transfusion (high glucose concentrations in the blood - increased HbA1c or dilutional effect - reduced HbA1c) [107].</p> |

| | | |
|--------------------------------|--|--|
| | Compromised bone marrow due to radiation, toxins, fibrosis, tumors [132]. | |
| | Leukemia [132]. | |
| Changed hemoglobin | | HbS, HbC, HbD and HbE hemoglobinopathies (may result in falsely elevated or decreased values according to the methodology applied) [107, 131, 132, 134]. |
| Change in hemoglobin glycation | Presence of large amounts of vitamin C and E can inhibit glycation [107, 131, 132]. Use of aspirin [131].d Hemoglobinopathies [131]. Increased erythrocyte pH | Chronic alcohol consumption [107]. Reduction in erythrocyte pH [131]. Uremia [107, 131, 132, 135]. |

[131].

Destruction of red blood cells of Hemolytic anemias of different etiologies [132]. Asplenia/splenectomy [107].

Splenomegaly [107, 131].

Hemoglobinopathies [131].

Rheumatoid arthritis [131].

Antiretrovirals [131].

Dapsone[131].

Treatment with interferon and ribavirin [107, 131].

Other mechanisms or unknown mechanism of Hyperthyroidism [132]. Severe burns with protein loss [132]. Multiple myeloma [132]. Lead poisoning Hypertriglyceridemia [107, 109]. Acute hyperbilirubinemia [107, 131]. Chronic salicylate ingestion [107, 131]. Vitamin C ingestion (can increase its levels in electrophoresis and decrease in chromatography) [107, 136].

| | | |
|--------|-------------------------------|-----------------|
| [132]. | Chronic ingestion 131]. | opioid [107, |
|--------|-------------------------------|-----------------|

Alternatives for diagnosis and monitoring DM in patients with advanced liver disease

Due to the limitations of HbA1c, this test cannot be recommended for the diagnosis and monitoring of DM in advanced liver disease patients and should be used with caution in non-cirrhotic individuals who have other interfering factors related or not to liver disease. To diagnose glucose metabolism disorders in situations where the HbA1c results are not reliable, the best option is the use of fasting glucose or OGTT as recommended by the main guidelines [92, 94]. However, because fasting glucose may be normal in 23% of cirrhotic patients with DM in the early stages [60], an OGTT is recommended for these patients [25].

Monitoring of DM in advanced cirrhosis patients can be challenging. Table 4 shows the alternative methods to HbA1c and their main advantages and disadvantages as well as the effects of advanced liver disease on their performance. The following tests may be considered as alternatives to HbA1c in these cases: fructosamine, glycated albumin, 1,5 anhydroglucitol (1,5-AG), self-monitoring of blood glucose (SMBG) and continuous glucose monitoring (CGM) systems. Fructosamine measures the fraction of total proteins that have undergone glycation, especially albumin, which is the major circulating protein. Therefore, the fructosamine levels are affected by albumin's half-life and reflect the average blood glucose over a 2-week period [137]. This test is considered an alternative in situations where the A1C measurement is not valid, but it can be affected by uremia, lipemia and the use of ascorbic acid [107]. Hypoproteinemia/hypoalbuminemia, as seen in nephrotic syndrome or severe liver disease, can affect the fructosamine

levels; therefore, this test does not appear to be a suitable option for cirrhotic patients [107, 138].

Table 4: Alternative methods to HbA1c, their main advantages and disadvantages and the effects of advanced liver disease on their performance

| Method | Mechanism | Advantages | Disadvantages | Effect of advanced liver disease |
|-----------------------|--|--|--|--|
| Fructosamine | Glycation of glucose with proteins, including albumin [137]. | Reflects blood glucose over the last 2 weeks [139]. Useful to evaluate recent changes in glycemic averages [107, 137]. | Levels can be changed in situations where there is protein loss (nephrotic syndrome, cirrhosis, malnutrition or thyroid disease) and immunoglobulin deficiency [139]. Can be affected by uremia, lipemia and use of ascorbic acid [107]. | Levels raised by hypoalbuminemia [126, 138]. |
| Glycated albumin (GA) | Glycation of albumin [140]. | Reflects blood glucose over the last 2-3 weeks [141, 142]. Is not | Levels can be changed in situations where there is protein loss (nephrotic syndrome, cirrhosis, malnutrition or | Levels increased by the prolonged half-life of albumin [144, 145]. |

| | | | | |
|------------------------------------|--|---|---|---|
| | | affected by anemia [143]. Evaluation of situations where there are rapid changes in blood glucose [142]. | thyroid disease) [139]. | |
| CLD-HbA1c (average HbA1c and GA/3) | Formula based on the fact that HbA1c levels are apparently reduced and the GA levels are increased in cirrhosis [146]. | Suggested as a better long-term glycemic control marker than GA or HbA1c in diabetic patients with cirrhosis [146]. | Is not an accurate control marker in patients with unstable glycemic control [146]. Few studies. | Can be used as a complementary alternative to glycemic control in cirrhotic patients [146]. |
| 1,5-anhydroglucitol (1,5-AG) | Renal reabsorption of 1,5-AG is competitively inhibited by glycosuria [147]. | Reflects blood glucose over the last 48 hours to 2 weeks [148]. Useful in detecting postprandial hyperglyc | Levels are affected by pregnancy, extreme hypertriglyceridemia, renal dysfunction, gastrectomy and cystic fibrosis [150]. | Reduced in liver cirrhosis (modified synthesis) [151]. |

emia
[148].
Is not
affected
by
hemoglobi
n
metabolis
m [149].

| | | | | |
|---|---|---|---|--|
| Self-monitoring of blood glucose (SMBG) | Measurements of blood glucose [152]. | Assists in glycemic control, the detection and treatment of hypoglycemia and as an educational tool [131, 152]. Useful in situations where HbA1c does not reflect the true blood glucose [131]. | Requires instructions and the ability to use and adjust the insulin dose [153]. Peripheral hypoperfusion, low hematocrit, hypertriglyceridemia, marked hyperuricemia and the use of some medications, such as acetaminophen and dopamine, can affect the results [154]. | Significantly elevated bilirubin levels can result in falsely reduced blood glucose values [154, 155]. |
| Continuous glucose monitoring systems (CGM) | Measurement of glucose concentrations in the interstitial fluid | Indicated in type 1 diabetes and in suspected cases of nocturnal | CGM readings may be affected by periods of high glycemic variability as well as | None. |

through a hypoglycemia, paracetamol or skin sensor "dawn" ascorbic acid [156]. phenomenon [157, 158]. on, Issues related postprandial to the type of al methodology hyperglycemia or used (need for emia or calibration and when effect of factors treatment such as skin changes pigmentation are and room needed, temperature) such as [157]. when increasing the insulin dose [107, 153].

Glycated albumin (GA) is another option for the diagnosis and monitoring of DM that is already recommended in some countries, especially in the East [141, 159, 160]. Similar to fructosamine, GA reflects a shorter duration of glycemic control of approximately 2 to 3 weeks [161]. GA has several advantages over HbA1c, including the fact that it is not affected by the life span of red blood cells, which makes it especially useful in patients with hematological diseases and anemia-related conditions. GA levels also rise faster than the HbA1c levels, which better reflects the postprandial blood glucose concentration. Thus, this test is especially useful in the evaluation of situations where there are rapid changes in blood glucose [161, 162]. However, the GA test also has significant limitations. Conditions related to increased albumin catabolism, such as nephrotic syndrome, hyperthyroidism and obesity, can reduce the GA level [163-165]. Other factors that are also associated with inappropriately low GA levels include hypertriglyceridemia, hyperuricemia and smoking [166, 167]. A Japanese study demonstrated

that the GA levels were reduced in relation to blood glucose in non-diabetic men with NASH and elevated ALT [168]. GA levels may be elevated in relation to blood glucose levels in conditions associated with reduced albumin metabolism, especially hypothyroidism and cirrhosis [145, 146, 162, 169]. Indeed, studies have shown that the glycemic levels tend to be overestimated by GA in cirrhotic patients, indicating that this test is not suitable in these subjects, which is similar to A1C [146, 162, 169]. However, one study demonstrated the usefulness of a formula based on the HbA1c and GA values (average of HbA1c and GA/3) in a cohort of patients with chronic liver disease (mostly cirrhosis) [146]. This study showed that both HbA1c and GA were strongly correlated with average measured blood glucose but overestimated and underestimated its values, respectively. Thus, one parameter was used to correct the effect of the other, resulting in the formula CLD-HbA1c, which did not appear to be affected by hepatic function [146]. The CLD-HbA1c formula may become a useful tool for daily practice when new studies confirm the initial results.

1,5-AG is a naturally occurring dietary polyol that is analogous to glucose and is not metabolized [150]. 1,5-AG is excreted into the urine and reabsorbed almost entirely by the renal tubules. This resorption is inhibited by glucose; thus, the increase in blood glucose is related to a decrease in tubular 1,5-AG reabsorption, with a consequent reduction in the serum levels [150]. Because its levels reflect the average blood glucose over a short period (from two days to a few weeks) [149], 1,5-AG is often used for weekly adjustments in patients who already have partial control of DM. The 1,5-AG levels are affected by pregnancy, extreme hypertriglyceridemia, renal dysfunction, gastrectomy and cystic fibrosis [150]. Circulating 1,5-AG is reduced in cirrhosis, especially in patients with more advanced liver disease [151].

SMBG has been recommended, even for individuals who do not use insulin, in order to optimize glycemic control and reduce the risk of hypoglycemia. This method has also been used as an educational tool because it increases patient understanding of DM and facilitates treatment optimization [152]. Factors that may affect SMBG results

include peripheral hypoperfusion, low hematocrit, hypertriglyceridemia, marked hyperuricemia and the use of certain medications, such as acetaminophen and dopamine [154]. SMBG seems to be a good alternative for patients with advanced liver disease; however, significantly elevated bilirubin levels, which are occasionally seen in these patients, should be taken into consideration, because it may result in falsely reduced blood glucose values [154, 155].

CGM based on interstitial glucose measurement via a skin sensor has been routinely recommended, especially in adults with type 1 DM [156]. Intermittent CGM use is usually indicated in cases of suspected nocturnal hypoglycemia, the "dawn" phenomenon, postprandial hyperglycemia or when treatment changes are needed [107]. CGM results correlate well with A1C [170], and this methodology may be an alternative in cases where the measurement of other parameters for glycemic control are not reliable, such as liver cirrhosis. CGM readings may be affected by periods of high glycemic variability as well as paracetamol or ascorbic acid intake [157, 158].

Conclusions

The prevalence and mortality related to DM and chronic liver disease are increasing worldwide. Due to the liver's central role in glucose metabolism, the association between liver disease and DM is common and requires special attention from clinicians. The tests currently recommended for the diagnosis and monitoring of DM, especially HbA1c, can be affected by various common conditions in patients with chronic liver disease. Clinicians should be aware that the HbA1c levels are not reliable for the diagnosis or monitoring of DM in patients with cirrhosis, especially in those with decompensated disease. In this group of patients, the best strategy for DM diagnosis is OGTT. DM monitoring should be performed by SMBG or CGM, since the alternative tests to HbA1c, such as fructosamine and GA, are also unreliable. New studies exploring alternative tools in subjects with advanced liver disease are

needed in order to improve clinical management and facilitate an early diagnosis and appropriate treatment of DM in the setting of liver cirrhosis.

References

- [1] Mortality GBD, Causes of Death C. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388:1459-544.
- [2] Collaboration NCDRF. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet*. 2016;387:1513-30.
- [3] Mokdad AA, Lopez AD, Shahraz S, Lozano R, Mokdad AH, Stanaway J, et al. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med*. 2014;12:145.
- [4] Byass P. The global burden of liver disease: a challenge for methods and for public health. *BMC medicine*. 2014;12:159.
- [5] Megyesi C, Samols E, Marks V. Glucose tolerance and diabetes in chronic liver disease. *Lancet*. 1967;2:1051-6.
- [6] Orsi E, Grancini V, Menini S, Aghemo A, Pugliese G. Hepatogenous diabetes: Is it time to separate it from type 2 diabetes? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2016.
- [7] Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Finch J, Chang Z, Kochunov VG, et al. Prevalence of prediabetes and diabetes and metabolic profile of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetes care*. 2012;35:873-8.
- [8] Fan JG, Li F, Cai XB, Peng YD, Ao QH, Gao Y. Effects of nonalcoholic fatty liver disease on the development of metabolic disorders. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2007;22:1086-91.
- [9] Armstrong MJ, Hazlehurst JM, Hull D, Guo K, Borrows S, Yu J, et al. Abdominal subcutaneous adipose tissue insulin resistance and lipolysis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2014;16:651-60.
- [10] Trauner M, Arrese M, Wagner M. Fatty liver and lipotoxicity. *Biochimica et biophysica acta*. 2010;1801:299-310.

- [11] Koliaki C, Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular and cellular endocrinology*. 2013;379:35-42.
- [12] Hodson DJ, Mitchell RK, Bellomo EA, Sun G, Vinet L, Meda P, et al. Lipotoxicity disrupts incretin-regulated human beta cell connectivity. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123:4182-94.
- [13] Firneisz G, Varga T, Lengyel G, Feher J, Ghyczy D, Wichmann B, et al. Serum dipeptidyl peptidase-4 activity in insulin resistant patients with non-alcoholic fatty liver disease: a novel liver disease biomarker. *PloS one*. 2010;5:e12226.
- [14] Schafer SA, Tschritter O, Machicao F, Thamer C, Stefan N, Gallwitz B, et al. Impaired glucagon-like peptide-1-induced insulin secretion in carriers of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphisms. *Diabetologia*. 2007;50:2443-50.
- [15] Schafer SA, Mussig K, Staiger H, Machicao F, Stefan N, Gallwitz B, et al. A common genetic variant in WFS1 determines impaired glucagon-like peptide-1-induced insulin secretion. *Diabetologia*. 2009;52:1075-82.
- [16] Mussig K, Staiger H, Machicao F, Kirchoff K, Guthoff M, Schafer SA, et al. Association of type 2 diabetes candidate polymorphisms in KCNQ1 with incretin and insulin secretion. *Diabetes*. 2009;58:1715-20.
- [17] Wlazlo N, Beijers HJ, Schoon EJ, Sauerwein HP, Stehouwer CD, Bravenboer B. High prevalence of diabetes mellitus in patients with liver cirrhosis. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2010;27:1308-11.
- [18] Tellez-Avila FI, Sanchez-Avila F, Garcia-Saenz-de-Sicilia M, Chavez-Tapia NC, Franco-Guzman AM, Lopez-Arce G, et al. Prevalence of metabolic syndrome, obesity and diabetes type 2 in cryptogenic cirrhosis. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2008;14:4771-5.
- [19] Holstein A, Hinze S, Thiessen E, Plaschke A, Egberts EH. Clinical implications of hepatogenous diabetes in liver cirrhosis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2002;17:677-81.
- [20] Petrides AS, Stanley T, Matthews DE, Vogt C, Bush AJ, Lambeth H. Insulin resistance in cirrhosis: prolonged reduction of hyperinsulinemia normalizes insulin sensitivity. *Hepatology*. 1998;28:141-9.
- [21] Petrides AS, DeFronzo RA. Glucose and insulin metabolism in cirrhosis. *Journal of hepatology*. 1989;8:107-14.
- [22] de Meyts P, Roth J, Neville DM, Jr., Gavin JR, 3rd, Lesniak MA. Insulin interactions with its receptors: experimental evidence for

- negative cooperativity. *Biochemical and biophysical research communications*. 1973;55:154-61.
- [23] Gavin JR, 3rd, Roth J, Neville DM, Jr., de Meyts P, Buell DN. Insulin-dependent regulation of insulin receptor concentrations: a direct demonstration in cell culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1974;71:84-8.
- [24] Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*. 2005;26:19-39.
- [25] Elkrief L, Rautou PE, Sarin S, Valla D, Paradis V, Moreau R. Diabetes mellitus in patients with cirrhosis: clinical implications and management. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2016;36:936-48.
- [26] Banks DE, Bogler Y, Bhuket T, Liu B, Wong RJ. Significant disparities in risks of diabetes mellitus and metabolic syndrome among chronic hepatitis C virus patients in the U.S. *Diabetes Metab Syndr*. 2016.
- [27] Huang JF, Yu ML, Dai CY, Hsieh MY, Hwang SJ, Hsiao PJ, et al. Reappraisal of the characteristics of glucose abnormalities in patients with chronic hepatitis C infection. *The American journal of gastroenterology*. 2008;103:1933-40.
- [28] Masini M, Campani D, Boggi U, Menicagli M, Funel N, Pollera M, et al. Hepatitis C virus infection and human pancreatic beta-cell dysfunction. *Diabetes care*. 2005;28:940-1.
- [29] Banerjee S, Saito K, Ait-Goughoulte M, Meyer K, Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus core protein upregulates serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and impairs the downstream akt/protein kinase B signaling pathway for insulin resistance. *Journal of virology*. 2008;82:2606-12.
- [30] Christen V, Treves S, Duong FH, Heim MH. Activation of endoplasmic reticulum stress response by hepatitis viruses up-regulates protein phosphatase 2A. *Hepatology*. 2007;46:558-65.
- [31] Gastaldi G, Goossens N, Clement S, Negro F. Current level of evidence on causal association between hepatitis C virus and type 2 diabetes: A review. *J Adv Res*. 2017;8:149-59.
- [32] Knobler H, Schattner A. TNF- α , chronic hepatitis C and diabetes: a novel triad. *QJM*. 2005;98:1-6.
- [33] Mitsuyoshi H, Itoh Y, Sumida Y, Minami M, Yasui K, Nakashima T, et al. Evidence of oxidative stress as a cofactor in the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2008;38:348-53.

- [34] Barton JC, Barton JC, Adams PC, Acton RT. Risk Factors for Insulin Resistance, Metabolic Syndrome, and Diabetes in 248 HFE C282Y Homozygotes Identified by Population Screening in the HEIRS Study. *Metab Syndr Relat Disord*. 2016;14:94-101.
- [35] O'Sullivan EP, McDermott JH, Murphy MS, Sen S, Walsh CH. Declining prevalence of diabetes mellitus in hereditary haemochromatosis--the result of earlier diagnosis. *Diabetes research and clinical practice*. 2008;81:316-20.
- [36] McClain DA, Abraham D, Rogers J, Brady R, Gault P, Ajioka R, et al. High prevalence of abnormal glucose homeostasis secondary to decreased insulin secretion in individuals with hereditary haemochromatosis. *Diabetologia*. 2006;49:1661-9.
- [37] Cooksey RC, Jouihan HA, Ajioka RS, Hazel MW, Jones DL, Kushner JP, et al. Oxidative stress, beta-cell apoptosis, and decreased insulin secretory capacity in mouse models of hemochromatosis. *Endocrinology*. 2004;145:5305-12.
- [38] Pelusi C, Gasparini DI, Bianchi N, Pasquali R. Endocrine dysfunction in hereditary hemochromatosis. *J Endocrinol Invest*. 2016;39:837-47.
- [39] Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology*. 1999;117:1155-63.
- [40] Barton JC, Barton JC, Acton RT. Diabetes in first-degree family members: a predictor of type 2 diabetes in 159 nonscreening Alabama hemochromatosis probands with HFE C282Y homozygosity. *Diabetes care*. 2014;37:259-66.
- [41] Honda M, Asonuma K, Hayashida S, Suda H, Ohya Y, Lee KJ, et al. Incidence and risk factors for new-onset diabetes in living-donor liver transplant recipients. *Clinical transplantation*. 2013;27:426-35.
- [42] Lv C, Zhang Y, Chen X, Huang X, Xue M, Sun Q, et al. New-onset diabetes after liver transplantation and its impact on complications and patient survival. *J Diabetes*. 2015;7:881-90.
- [43] Ling Q, Xie H, Lu D, Wei X, Gao F, Zhou L, et al. Association between donor and recipient TCF7L2 gene polymorphisms and the risk of new-onset diabetes mellitus after liver transplantation in a Han Chinese population. *Journal of hepatology*. 2013;58:271-7.
- [44] Ling Q, Xu X, Wang B, Li L, Zheng S. The Origin of New-Onset Diabetes After Liver Transplantation: Liver, Islets, or Gut? *Transplantation*. 2016;100:808-13.
- [45] Gelley F, Zadori G, Firmeisz G, Wagner L, Fehervari I, Gerlei Z, et al. Relationship between hepatitis C virus recurrence and de novo

- diabetes after liver transplantation: the Hungarian experience. *Transplantation proceedings*. 2011;43:1281-2.
- [46] Perseghin G, Mazzaferro V, Sereni LP, Regalia E, Benedini S, Bazzigaluppi E, et al. Contribution of reduced insulin sensitivity and secretion to the pathogenesis of hepatogenous diabetes: effect of liver transplantation. *Hepatology*. 2000;31:694-703.
- [47] Rostambeigi N, Lanza IR, Dzeja PP, Deeds MC, Irving BA, Reddi HV, et al. Unique cellular and mitochondrial defects mediate FK506-induced islet beta-cell dysfunction. *Transplantation*. 2011;91:615-23.
- [48] Chakkeri HA, Mandarin L. Calcineurin inhibition and new-onset diabetes mellitus after transplantation. *Transplantation*. 2013;95:647-52.
- [49] Hernandez-Fisac I, Pizarro-Delgado J, Calle C, Marques M, Sanchez A, Barrientos A, et al. Tacrolimus-induced diabetes in rats courses with suppressed insulin gene expression in pancreatic islets. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2007;7:2455-62.
- [50] Wu ZW, Ling ZX, Lu HF, Zuo J, Sheng JF, Zheng SS, et al. Changes of gut bacteria and immune parameters in liver transplant recipients. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2012;11:40-50.
- [51] Bellentani S. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2017;37 Suppl 1:81-4.
- [52] Shibata M, Kihara Y, Taguchi M, Tashiro M, Otsuki M. Nonalcoholic fatty liver disease is a risk factor for type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetes care*. 2007;30:2940-4.
- [53] Park SK, Seo MH, Shin HC, Ryoo JH. Clinical availability of nonalcoholic fatty liver disease as an early predictor of type 2 diabetes mellitus in Korean men: 5-year prospective cohort study. *Hepatology*. 2013;57:1378-83.
- [54] Kasturiratne A, Weerasinghe S, Dassanayake AS, Rajindrajith S, de Silva AP, Kato N, et al. Influence of non-alcoholic fatty liver disease on the development of diabetes mellitus. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2013;28:142-7.
- [55] Chang Y, Jung HS, Yun KE, Cho J, Cho YK, Ryu S. Cohort study of non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD fibrosis score, and the risk of incident diabetes in a Korean population. *The American journal of gastroenterology*. 2013;108:1861-8.
- [56] Lallukka S, Yki-Jarvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of type 2 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2016;30:385-95.

- [57] Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature genetics*. 2008;40:1461-5.
- [58] Sookoian S, Castano GO, Scian R, Mallardi P, Fernandez Gianotti T, Burgueno AL, et al. Genetic variation in transmembrane 6 superfamily member 2 and the risk of nonalcoholic fatty liver disease and histological disease severity. *Hepatology*. 2015;61:515-25.
- [59] Garcia-Compean D, Jaquez-Quintana JO, Gonzalez-Gonzalez JA, Maldonado-Garza H. Liver cirrhosis and diabetes: risk factors, pathophysiology, clinical implications and management. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2009;15:280-8.
- [60] Nishida T, Tsuji S, Tsujii M, Arimitsu S, Haruna Y, Imano E, et al. Oral glucose tolerance test predicts prognosis of patients with liver cirrhosis. *The American journal of gastroenterology*. 2006;101:70-5.
- [61] Bianchi G, Marchesini G, Zoli M, Bugianesi E, Fabbri A, Pisi E. Prognostic significance of diabetes in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 1994;20:119-25.
- [62] Moreau R, Deleuge P, Pessione F, Hillaire S, Durand F, Lebec D, et al. Clinical characteristics and outcome of patients with cirrhosis and refractory ascites. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2004;24:457-64.
- [63] Elkrief L, Chouinard P, Bendersky N, Hajage D, Larroque B, Babany G, et al. Diabetes mellitus is an independent prognostic factor for major liver-related outcomes in patients with cirrhosis and chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2014;60:823-31.
- [64] Quintana JO, Garcia-Compean D, Gonzalez JA, Perez JZ, Gonzalez FJ, Espinosa LE, et al. The impact of diabetes mellitus in mortality of patients with compensated liver cirrhosis-a prospective study. *Annals of hepatology*. 2011;10:56-62.
- [65] Berman K, Tandra S, Forssell K, Vuppalanchi R, Burton JR, Jr., Nguyen J, et al. Incidence and predictors of 30-day readmission among patients hospitalized for advanced liver disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2011;9:254-9.
- [66] Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, Tan MH. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease. *Diabetes care*. 2007;30:734-43.
- [67] Shetty A, Wilson S, Kuo P, Laurin JL, Howell CD, Johnson L, et al. Liver transplantation improves cirrhosis-associated impaired oral glucose tolerance. *Transplantation*. 2000;69:2451-4.

- [68] Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *Journal of hepatology*. 2014;61:S45-57.
- [69] Mehta SH, Brancati FL, Strathdee SA, Pankow JS, Netski D, Coresh J, et al. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *Hepatology*. 2003;38:50-6.
- [70] Arase Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Kawamura Y, et al. Sustained virological response reduces incidence of onset of type 2 diabetes in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2009;49:739-44.
- [71] Hammerstad SS, Grock SF, Lee HJ, Hasham A, Sundaram N, Tomer Y. Diabetes and Hepatitis C: A Two-Way Association. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015;6:134.
- [72] Bose SK, Ray R. Hepatitis C virus infection and insulin resistance. *World J Diabetes*. 2014;5:52-8.
- [73] Bose SK, Shrivastava S, Meyer K, Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus activates the mTOR/S6K1 signaling pathway in inhibiting IRS-1 function for insulin resistance. *Journal of virology*. 2012;86:6315-22.
- [74] Kralj D, Virovic Jukic L, Stojisavljevic S, Duvnjak M, Smolic M, Curcic IB. Hepatitis C Virus, Insulin Resistance, and Steatosis. *Journal of clinical and translational hepatology*. 2016;4:66-75.
- [75] Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, et al. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology*. 2004;126:840-8.
- [76] Banerjee A, Meyer K, Mazumdar B, Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus differentially modulates activation of forkhead transcription factors and insulin-induced metabolic gene expression. *Journal of virology*. 2010;84:5936-46.
- [77] Durante-Mangoni E, Zampino R, Marrone A, Tripodi MF, Rinaldi L, Restivo L, et al. Hepatic steatosis and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2006;24:1349-57.
- [78] Knobler H, Zhornicky T, Sandler A, Haran N, Ashur Y, Schattner A. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance may mediate the hepatitis C virus-diabetes association. *The American journal of gastroenterology*. 2003;98:2751-6.
- [79] Romero-Gomez M. Insulin resistance and hepatitis C. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2006;12:7075-80.

- [80] Narita R, Abe S, Kihara Y, Akiyama T, Tabaru A, Otsuki M. Insulin resistance and insulin secretion in chronic hepatitis C virus infection. *Journal of hepatology*. 2004;41:132-8.
- [81] Creighton Mitchell T, McClain DA. Diabetes and hemochromatosis. *Current diabetes reports*. 2014;14:488.
- [82] Gurrin LC, Bertalli NA, Dalton GW, Osborne NJ, Constantine CC, McLaren CE, et al. HFE C282Y/H63D compound heterozygotes are at low risk of hemochromatosis-related morbidity. *Hepatology*. 2009;50:94-101.
- [83] Ramakrishna R, Gupta S, Sarathy K, Bowen A. Phenotypic and clinical manifestations of compound heterozygous genetic haemochromatosis (CHGH): a non-invasive approach to clinical management. *Intern Med J*. 2013;43:254-61.
- [84] Pietrangelo A. Genetics, Genetic Testing, and Management of Hemochromatosis: 15 Years Since Hepcidin. *Gastroenterology*. 2015;149:1240-51 e4.
- [85] Pietrangelo A, Caleffi A, Corradini E. Non-HFE hepatic iron overload. *Seminars in liver disease*. 2011;31:302-18.
- [86] Hatunic M, Finucane FM, Brennan AM, Norris S, Pacini G, Nolan JJ. Effect of iron overload on glucose metabolism in patients with hereditary hemochromatosis. *Metabolism: clinical and experimental*. 2010;59:380-4.
- [87] Jimenez-Perez M, Gonzalez-Grande R, Omonte Guzman E, Amo Trillo V, Rodrigo Lopez JM. Metabolic complications in liver transplant recipients. *World journal of gastroenterology*. 2016;22:6416-23.
- [88] Hemminki K, Li X, Sundquist J, Sundquist K. Familial association between type 1 diabetes and other autoimmune and related diseases. *Diabetologia*. 2009;52:1820-8.
- [89] Jarcuska P, Drazilova S, Fedacko J, Pella D, Janicko M. Association between hepatitis B and metabolic syndrome: Current state of the art. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2016;22:155-64.
- [90] Kumar R, Nandhini LP, Kamalanathan S, Sahoo J, Vivekanadan M. Evidence for current diagnostic criteria of diabetes mellitus. *World journal of diabetes*. 2016;7:396-405.
- [91] International Expert C. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. 2009;32:1327-34.
- [92] American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes care*. 2010;33 Suppl 1:S11-61.

- [93] WHO. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c_2011.pdf?ua=1. 2011.
- [94] Gillett MJ. International Expert Committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes: *Diabetes Care* 2009; 32(7): 1327-1334. *Clin Biochem Rev.* 2009;30:197-200.
- [95] Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes care.* 2011;34:e61-99.
- [96] Puavilai G, Chanprasertyotin S, Sriphrapradaeng A. Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. World Health Organization. *Diabetes research and clinical practice.* 1999;44:21-6.
- [97] Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clinical chemistry.* 2002;48:436-72.
- [98] Ko GT, Chan JC, Woo J, Lau E, Yeung VT, Chow CC, et al. The reproducibility and usefulness of the oral glucose tolerance test in screening for diabetes and other cardiovascular risk factors. *Annals of clinical biochemistry.* 1998;35 (Pt 1):62-7.
- [99] Linters-Westra E, Schindhelm RK, Bilo HJ, Slingerland RJ. Haemoglobin A1c: Historical overview and current concepts. *Diabetes research and clinical practice.* 2013;99:75-84.
- [100] Bunn HF, Haney DN, Kamin S, Gabbay KH, Gallop PM. The biosynthesis of human hemoglobin A1c. Slow glycosylation of hemoglobin in vivo. *J Clin Invest.* 1976;57:1652-9.
- [101] Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group. World Health Organ Tech Rep Ser. 1985;727:1-113.
- [102] Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet.* 1998;352:837-53.
- [103] American Diabetes A. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes care.* 2002;25:213-29.
- [104] Standards of Medical Care in Diabetes-2016: Summary of Revisions. *Diabetes care.* 2016;39 Suppl 1:S4-5.

- [105] Coban E, Ozdogan M, Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta Haematol.* 2004;112:126-8.
- [106] Arnold JG, McGowan HJ. Delay in diagnosis of diabetes mellitus due to inaccurate use of hemoglobin A1C levels. *J Am Board Fam Med.* 2007;20:93-6.
- [107] Radin MS. Pitfalls in hemoglobin A1c measurement: when results may be misleading. *J Gen Intern Med.* 2014;29:388-94.
- [108] Wang X, Peesapati SK, Renedo MF, Moktan S. Hemoglobin A1c levels in non-diabetic patients with end-stage renal disease (ESRD) receiving hemodialysis. *Journal of endocrinological investigation.* 2004;27:733-5.
- [109] Falko JM, O'Dorisio TM, Cataland S. Spurious elevations in glycosylated hemoglobin (HbA1) secondary to hypertriglyceridemia. *Arch Intern Med.* 1982;142:1370-1.
- [110] Rastelli G, Gerra G, Mineo F, Ceresini G, Baroni MC, Caccavari R, et al. [Homeostasis of blood glucose and abuse of exogenous opiates: evaluation of fructosamine and glycosylated hemoglobin]. *Minerva Med.* 1987;78:1291-6.
- [111] Homa K, Majkowska L. Difficulties in interpreting HbA(1c) results. *Pol Arch Med Wewn.* 2010;120:148-54.
- [112] Hoberman HD, Chiodo SM. Elevation of the hemoglobin A1 fraction in alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res.* 1982;6:260-6.
- [113] Hazelett SE, Liebelt RA, Brown WJ, Androulakakis V, Jarjoura D, Truitt EB, Jr. Evaluation of acetaldehyde-modified hemoglobin and other markers of chronic heavy alcohol use: effects of gender and hemoglobin concentration. *Alcohol Clin Exp Res.* 1998;22:1813-9.
- [114] Freedman BI, Shenoy RN, Planer JA, Clay KD, Shihabi ZK, Burkart JM, et al. Comparison of glycated albumin and hemoglobin A1c concentrations in diabetic subjects on peritoneal and hemodialysis. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis.* 2010;30:72-9.
- [115] Joy MS, Cefalu WT, Hogan SL, Nachman PH. Long-term glycemic control measurements in diabetic patients receiving hemodialysis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation.* 2002;39:297-307.
- [116] Bernstein RE. Glycosylated hemoglobins: hematologic considerations determine which assay for glycohemoglobin is advisable. *Clinical chemistry.* 1980;26:174-5.
- [117] Lind T, Cheyne GA. Effect of normal pregnancy upon the glycosylated haemoglobins. *Br J Obstet Gynaecol.* 1979;86:210-3.

- [118] Hanson U, Hagenfeldt L, Hagenfeldt K. Glycosylated hemoglobins in normal pregnancy: sequential changes and relation to birth weight. *Obstetrics and gynecology*. 1983;62:741-4.
- [119] Ceriello A, Giugliano D, Quattraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre PJ. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. New prospect for prevention of diabetic complications? *Diabetes care*. 1991;14:68-72.
- [120] Starkman HS, Wacks M, Soeldner JS, Kim A. Effect of acute blood loss on glycosylated hemoglobin determinations in normal subjects. *Diabetes care*. 1983;6:291-4.
- [121] Gross BN, Cross LB, Foard JC, Wood YA. Falsely low hemoglobin A1c levels in a patient receiving ribavirin and peginterferon alfa-2b for hepatitis C. *Pharmacotherapy*. 2009;29:121-3.
- [122] Greenberg PD, Rosman AS, Eldeiry LS, Naqvi Z, Brau N. Decline in haemoglobin A1c values in diabetic patients receiving interferon-alpha and ribavirin for chronic hepatitis C. *Journal of viral hepatitis*. 2006;13:613-7.
- [123] Cacciatore L, Cozzolino G, Giardina MG, De Marco F, Sacca L, Esposito P, et al. Abnormalities of glucose metabolism induced by liver cirrhosis and glycosylated hemoglobin levels in chronic liver disease. *Diabetes Res*. 1988;7:185-8.
- [124] Nomura Y, Nanjo K, Miyano M, Kikuoka H, Kuriyama S, Maeda M, et al. Hemoglobin A1 in cirrhosis of the liver. *Diabetes Res*. 1989;11:177-80.
- [125] Lahousen T, Hegenbarth K, Ille R, Lipp RW, Krause R, Little RR, et al. Determination of glycated hemoglobin in patients with advanced liver disease. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2004;10:2284-6.
- [126] Trenti T, Cristani A, Cioni G, Pentore R, Mussini C, Ventura E. Fructosamine and glycated hemoglobin as indices of glycemic control in patients with liver cirrhosis. *Ric Clin Lab*. 1990;20:261-7.
- [127] Nadelson J, Satapathy SK, Nair S. Glycated Hemoglobin Levels in Patients with Decompensated Cirrhosis. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:8390210.
- [128] Gonzalez-Casas R, Jones EA, Moreno-Otero R. Spectrum of anemia associated with chronic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2009;15:4653-8.
- [129] Morse EE. Mechanisms of hemolysis in liver disease. *Ann Clin Lab Sci*. 1990;20:169-74.
- [130] Nitin S. HbA1c and factors other than diabetes mellitus affecting it. *Singapore Med J*. 2010;51:616-22.

- [131] Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert C, Berard LD, Blumer I, Houlden R, Miller D, Woo V. Monitoring glycemic control. *Can J Diabetes*. 2013;37 Suppl 1:S35-9.
- [132] Pimazoni Netto A, Andiolo A, Fraige Filho F, Tambascia M, Gomes M, Melo M, et al. Update on glycated hemoglobin (HbA1c) for assessment of glycemic control and the diagnosis of diabetes: clinical and laboratory aspects. *J Bras Patol Med Lab*. 2009;45:31-48.
- [133] Saudek CD, Brick JC. The clinical use of hemoglobin A1c. *J Diabetes Sci Technol*. 2009;3:629-34.
- [134] NGSP. Factors that interfere with HbA1c test results.
- [135] de Boer MJ, Miedema K, Casparie AF. Glycosylated haemoglobin in renal failure. *Diabetologia*. 1980;18:437-40.
- [136] Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS. Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes*. 1992;41:167-73.
- [137] Armbruster DA. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. *Clinical chemistry*. 1987;33:2153-63.
- [138] Constanti C, Simo JM, Joven J, Camps J. Serum fructosamine concentration in patients with nephrotic syndrome and with cirrhosis of the liver: the influence of hypoalbuminaemia and hypergammaglobulinaemia. *Annals of clinical biochemistry*. 1992;29 (Pt 4):437-42.
- [139] Danese E, Montagnana M, Nouvenne A, Lippi G. Advantages and pitfalls of fructosamine and glycated albumin in the diagnosis and treatment of diabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2015;9:169-76.
- [140] Rondeau P, Bourdon E. The glycation of albumin: structural and functional impacts. *Biochimie*. 2011;93:645-58.
- [141] Takahashi S, Uchino H, Shimizu T, Kanazawa A, Tamura Y, Sakai K, et al. Comparison of glycated albumin (GA) and glycated hemoglobin (HbA1c) in type 2 diabetic patients: usefulness of GA for evaluation of short-term changes in glycemic control. *Endocrine journal*. 2007;54:139-44.
- [142] Guthrow CE, Morris MA, Day JF, Thorpe SR, Baynes JW. Enhanced nonenzymatic glycosylation of human serum albumin in diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1979;76:4258-61.
- [143] Zheng CM, Ma WY, Wu CC, Lu KC. Glycated albumin in diabetic patients with chronic kidney disease. *Clin Chim Acta*. 2012;413:1555-61.
- [144] Bianchi R, Mariani G, Pilo A, Toni MG. Serum albumin turnover in liver cirrhosis. *J Nucl Biol Med*. 1974;18:20-9.

- [145] Bando Y, Kanehara H, Toya D, Tanaka N, Kasayama S, Koga M. Association of serum glycated albumin to haemoglobin A1C ratio with hepatic function tests in patients with chronic liver disease. *Annals of clinical biochemistry*. 2009;46:368-72.
- [146] Koga M, Kasayama S, Kanehara H, Bando Y. CLD (chronic liver diseases)-HbA1C as a suitable indicator for estimation of mean plasma glucose in patients with chronic liver diseases. *Diabetes research and clinical practice*. 2008;81:258-62.
- [147] Yamanouchi T, Akanuma Y. Serum 1,5-anhydroglucitol (1,5 AG): new clinical marker for glycemic control. *Diabetes research and clinical practice*. 1994;24 Suppl:S261-8.
- [148] Dungan KM. 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark) as a marker of short-term glycemic control and glycemic excursions. *Expert Rev Mol Diagn*. 2008;8:9-19.
- [149] Koga M. 1,5-Anhydroglucitol and glycated albumin in glycemia. *Advances in clinical chemistry*. 2014;64:269-301.
- [150] Kim WJ, Park CY. 1,5-Anhydroglucitol in diabetes mellitus. *Endocrine*. 2013;43:33-40.
- [151] Yamagishi S, Ohta M. Serum 1,5-anhydro-D-glucitol levels in liver cirrhosis. *Acta diabetologica*. 1998;35:65-6.
- [152] Kirk JK, Stegner J. Self-monitoring of blood glucose: practical aspects. *J Diabetes Sci Technol*. 2010;4:435-9.
- [153] Chamberlain JJ, Rhinehart AS, Shaefer CF, Jr., Neuman A. Diagnosis and Management of Diabetes: Synopsis of the 2016 American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes. *Annals of internal medicine*. 2016;164:542-52.
- [154] Erbach M, Freckmann G, Hinzmann R, Kulzer B, Ziegler R, Heinemann L, et al. Interferences and Limitations in Blood Glucose Self-Testing: An Overview of the Current Knowledge. *J Diabetes Sci Technol*. 2016;10:1161-8.
- [155] Dungan K, Chapman J, Braithwaite SS, Buse J. Glucose measurement: confounding issues in setting targets for inpatient management. *Diabetes care*. 2007;30:403-9.
- [156] Toschi E, Wolpert H. Utility of Continuous Glucose Monitoring in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2016;45:895-904.
- [157] Vaddiraju S, Burgess DJ, Tomazos I, Jain FC, Papadimitrakopoulos F. Technologies for continuous glucose monitoring: current problems and future promises. *J Diabetes Sci Technol*. 2010;4:1540-62.

- [158] Lucarelli F, Ricci F, Caprio F, Valgimigli F, Scuffi C, Moscone D, et al. GlucoMen Day continuous glucose monitoring system: a screening for enzymatic and electrochemical interferents. *J Diabetes Sci Technol.* 2012;6:1172-81.
- [159] Furusyo N, Koga T, Ai M, Otokozawa S, Kohzuma T, Ikezaki H, et al. Utility of glycated albumin for the diagnosis of diabetes mellitus in a Japanese population study: results from the Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS). *Diabetologia.* 2011;54:3028-36.
- [160] Ikezaki H, Furusyo N, Ihara T, Hayashi T, Ura K, Hiramane S, et al. Glycated albumin as a diagnostic tool for diabetes in a general Japanese population. *Metabolism: clinical and experimental.* 2015;64:698-705.
- [161] Lee JE. Alternative biomarkers for assessing glycemic control in diabetes: fructosamine, glycated albumin, and 1,5-anhydroglucitol. *Annals of pediatric endocrinology & metabolism.* 2015;20:74-8.
- [162] Dozio E, Di Gaetano N, Findeisen P, Corsi Romanelli MM. Glycated albumin: from biochemistry and laboratory medicine to clinical practice. *Endocrine.* 2017;55:682-90.
- [163] Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T, et al. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycosylated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2007;18:896-903.
- [164] Koga M, Murai J, Saito H, Matsumoto S, Kasayama S. Effects of thyroid hormone on serum glycosylated albumin levels: study on non-diabetic subjects. *Diabetes research and clinical practice.* 2009;84:163-7.
- [165] Koga M, Otsuki M, Matsumoto S, Saito H, Mukai M, Kasayama S. Negative association of obesity and its related chronic inflammation with serum glycosylated albumin but not glycosylated hemoglobin levels. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2007;378:48-52.
- [166] Koga M, Murai J, Saito H, Mukai M, Kasayama S. Serum glycosylated albumin, but not glycosylated haemoglobin, is low in relation to glycemia in hyperuricemic men. *Acta Diabetol.* 2010;47:173-7.
- [167] Koga M, Murai J, Saito H, Mukai M, Kasayama S. Serum glycosylated albumin, but not glycosylated hemoglobin, is low in relation to glycemia in men with hypertriglyceridemia. *J Diabetes Investig.* 2010;1:202-7.
- [168] Koga M, Murai J, Saito H, Mukai M, Kasayama S. Serum glycosylated albumin levels, but not glycosylated hemoglobin, is low in relation to glycemia in non-diabetic men with nonalcoholic fatty liver disease

with high alanine aminotransferase levels. *Clin Biochem.* 2010;43:1023-5.

[169] Isoda H, Takahashi H, Eguchi Y, Kojima M, Inoue K, Murayama K, et al. Re-evaluation of glycated hemoglobin and glycated albumin with continuous glucose monitoring system as markers of glycemia in patients with liver cirrhosis. *Biomed Rep.* 2017;6:51-6.

[170] Nielsen JK, Gravholt CH, Djurhuus CB, Brandt D, Becker J, Heinemann L, et al. Continuous subcutaneous glucose monitoring shows a close correlation between mean glucose and time spent in hyperglycemia and hemoglobin A1c. *J Diabetes Sci Technol.* 2007;1:857-63.

ANEXO G – Publicações, Apresentações Oraís e Posterés

OUTRAS PUBLICAÇÕES

- 2014 ADIPONECTIN: A MULTITASKING PALYER IN THE FIELD OF LIVER DISEASE. *Diabetes & Metabolism*, v. 40, p. 95-107, 2014.
- 2015 Factors associated with 25-hidroxyvitamin D levels in patients with liver diseases. *Annals of Hepatology*, v. 14, p. 99-107, 2015.
- 2016 Circulating insulin-like growth factor-binding protein 3 as prognostic biomarker in liver cirrhosis. *World Journal of Hepatology*, v. 8 (17), p. 739-748, 2016.
- 2017 Circulating levels of pentraxin-3 (PTX3) in patients with liver cirrhosis. *Annals of Hepatology*. 16(5), p. 780-787, 2017.
- 2017 From stable disease to acute-on-chronic liver failure: circulating cytokines are related to prognosis in different stages of cirrhosis. *Cytokine*, v.91, p.162-169, 2017.
- 2017 Letter: proton pump inhibitors and prognosis of cirrhosis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, v. 45, p. 378-379, 2017.

APRESENTAÇÃO ORAL

- 2013 FATORES ASSOCIADOS A OS NÍVEIS SÉRICOS DE ADIPONECTINA EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA. XXII Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2017 NÍVEIS REDUZIDOS DE HBA1C ESTÃO RELACIONADOS À PIOR PROGNÓSTICO EM PACIENTES CIRRÓTICOS ACOMPANHADOS AMBULATORIALMENTE. XXV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2017 MicroRNAs circulantes e prognóstico na cirrose hepática. XXV Congresso Brasileiro de Hepatologia

APRESENTAÇÃO EM POSTER

- 2013 Avaliação dos níveis séricos de vitamina D e hormônio paratireoideano em pacientes cirróticos. Congresso Brasileiro de Atualização em Endocrinologia e Metabolologia.
- 2013 Fatores associados aos níveis séricos de 25 (OH)D em pacientes cirróticos. XXII Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2014 FACTORS ASSOCIATED WITH ADIPONECTIN SERUM LEVELS IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS. The 49th Annual Meeting of the European Association for the Study of Liver (EASL), Londres.
- 2015 Proteína ligadora tipo 3 do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGFBP3) como marcadora de prognóstico na cirrose hepática. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Níveis circulantes de pentraxina-3 (PTX-3) em portadores de cirrose hepática. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 AVALIAÇÃO DO PROGNÓSTICO DE PACIENTES CIRRÓTICOS ESTÁVEIS EM ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL: EXPERIÊNCIA DE UM ÚNICO CENTRO. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Uso de inibidores da bomba de prótons (IBPs) em portadores de cirrose hepática: impacto na evolução de pacientes cirróticos estáveis e hospitalizados por descompensação aguda. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Níveis circulantes de interleucina 6, 10 e 17 como marcadores prognósticos na cirrose hepática. XXIV Congresso Brasileiro de Hepatologia.
- 2015 Circulating interleukin 6, 10 and 17 as prognostic marker in patients with liver cirrhosis. The 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. San Francisco.
- 2016 Estudo da gastropatia hipertensiva portal em pacientes cirróticos submetidos ao programa de ligadura elástica na unidade de endoscopia digestiva do serviço de gastroenterologia do HU-UFSC. Congresso Sul Brasileiro de Doenças Digestivas (Digesul).
- 2017 Níveis sérios de transferrina e prognóstico em portadores de cirrose hepática acompanhados ambulatorialmente. XXVI Congresso Brasileiro de Hepatologia.

APENDICE A – Instrumento de Coleta de Dados 2012

INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA: IMPACTO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E NUTRICIONAIS

| Dados de identificação e contato | |
|---|---------------|
| 1. Nome: | nome |
| 2. Número do prontuário: | num_pront |
| 3. Data da avaliação: ___/___/___ | data_aval |
| 4. Data de nascimento: ___/___/___ | data_nasc |
| 5. Telefone residencial: (___) | tel_resid |
| 6. Telefone celular: (___) | tel_celular |
| 7. Outro telefone de contato 1: (___) | tel_contato1 |
| 8. Nome da pessoa de contato 2: (___) | nome_contato1 |
| 9. Outro telefone de contato 2: (___) | tel_contato2 |
| 10. Nome da pessoa de contato 2: (___) | nome_contato2 |

| CrITÉRIOS exclusÃO | | | |
|---------------------------|---------|---------|-------------|
| 11. Incluído no estudo? | (0) Não | (1) Sim | incluido |
| 12. Motivo da exclusão: | | | motivo_excl |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

| Características sócias demográficas | |
|---|--------------|
| 13. Idade: _____ anos | idade |
| 14. Sexo: | sexo |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| 15. Cor da pele/raça (conforme observado pelo pesquisador): | cor_pele |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| 16. Estado civil: <i>Neste momento o (a) Sr.(a) está?</i> | estado_civil |

| | |
|---------------------------------------|--|
| (0) Casado ou morando com companheiro | |
| (1) Solteiro | |
| (2) Divorciado ou separado | |
| (3) Viúvo | |
| (4) IGN | |

| Comorbidades | | | | |
|--|---------|---------|---------|-----------------------------|
| <i>Algum médico já disse que o senhor tem ou teve:</i> | | | | |
| (complementar com dados do prontuário) | | | | |
| 17. Pressão alta | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | has |
| 18. Diabetes | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | diabetes |
| 19. AIDS/HIV | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | HIV |
| 20. Asma | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | asma |
| 21. Enfisema ou bronquite crônica (DPOC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | dpoc |
| 22. Infarto do miocárdio | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | lam |
| 23. Angina | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | angina |
| 24. Derrame (AVC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | avc |
| 25. Colesterol alto | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | dislipidemia |
| 26. Insuficiência cardíaca congestiva (ICC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | icc |
| 27. Insuficiência renal | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | insuf_renal |
| 28. Hipotireoidismo | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hipotir |
| 29. Osteoporose ou osteopenia | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | osteop |
| 30. Artrite reumatóide | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | artrite |
| 31. Lupus | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | lupus |
| 32. Depressão | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | depressao |
| 33. Tuberculose | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | tuberc |
| Medicações | | | | |
| (complementar com dados do prontuário) | | | | |
| <i>O senhor faz uso regular de alguma das medicações abaixo?</i> | | | | |
| 34. Propranolol Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | proprano dose_proprano |
| 35. Espironolactona Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | espiro dose_espiro |
| 36. Furosemida Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | furo dose_furo |
| 37. Lactulose Dose: _____ ml/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | lactulose dose_lactulose |
| 38. Norfloxacin Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | norflox dose_norflox |
| 39. Alendronato Dose: _____ mg/sem | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | alendro dose_alendro |
| 40. Cálcio Nome comercial: _____ Nº comprimidos/d: _____ | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | calcio |

| | | | | |
|--|------------|------------|------------|---------------------------|
| Dose: _____ mg/d | | | | dose_calcio |
| 41. Vitamina D Nome comercial: _____ Nº gotas/d: _____ Dose: _____ UI/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | vitamd dose_vitamd |
| 42. Hidroclorotiazida Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hctz dose_hctz |
| 43. Prednisona Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | pred dose_pred |
| 44. Remédio oral para diabetes Qual? _____ | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hipoglicem qual_hipogl |
| 45. Insulina | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | insulina |
| 46. Remédio para triglicérides (fibratos) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | fibrato |
| 47. Remédio para colesterol alto (estatinas) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | estatinas |
| Quais outras medicações o senhor fez uso regular nos últimos 30 dias (anotar os nomes): | | | | |
| | | | | med1 |
| | | | | med2 |
| | | | | med3 |
| | | | | med4 |
| | | | | med5 |
| Hábitos de vida – Consumo de álcool | | | | |
| 48. O Sr. (a) tem ou já teve o hábito de beber bebidas alcoólicas? (0) Não tenho e nunca bebi - pule para a pergunta nº 56 (1) Já bebi, mas parei há mais de 30 dias - pule para a pergunta nº 52 (2) Ainda bebo – continue abaixo | | | | etilismo |
| Etilismo atual | | | | |
| 49. Há quantos anos o Sr. (a) começou a beber? _____ anos | | | | dur_etilismoatu |
| 50. Com que frequência em média o(a) Sr.(a) toma bebidas alcoólicas? (0) Menos que uma vez ao mês (1) Uma vez ao mês (2) Duas vezes ao mês (3) Uma vez por semana (4) Duas vezes por semana (5) Três vezes por semana (6) Quatro vezes por semana (7) Cinco vezes por semana (8) Seis vezes por semana (9) Todos os dias (10) NSA (99) IGN | | | | freq_etilismoatu |
| 51. Quanto de álcool o(a) Sr.(a) toma normalmente ao beber por vez? (ver quadro de equivalência de dose padrão abaixo) | | | | dose_alcoolatu |

| | |
|---|-------------------|
| Bebida: <input type="checkbox"/> Cerveja; volme em ml _____ <input type="checkbox"/> Vinho ou champanhe; volume em ml _____ <input type="checkbox"/> Destilado (aguardente; whisky; vodca; gim; etc); volume em ml _____ Quantidade ingerida por semana após conversão em gramas: _____ g/sem | |
| Etilismo prévio | |
| 52. Há quantos meses o Sr. (a) parou de beber completamente? _____ meses | tempo_abst |
| 53. Por quantos anos o Sr. (a) consumiu bebidas alcoólicas? _____ anos | dur_etilismoprev |
| 54. Com que frequência em média o(a) Sr.(a) tinha o hábito de tomar bebidas alcoólicas? (1) Mensalmente ou menos (2) Uma vez ao mês (3) Duas vezes ao mês (4) Uma vez por semana (5) Duas vezes por semana (6) Três vezes por semana (7) Quatro vezes por semana (8) Cinco vezes por semana (9) Seis vezes por semana (10) Todos os dias (11) NSA (99) IGN | freq_etilismoprev |
| 55. Quanto de álcool o(a) Sr.(a) toma normalmente ao beber por vez? (ver quadro de equivalência de dose padrão abaixo) Bebida: <input type="checkbox"/> Cerveja; volme em ml _____ <input type="checkbox"/> Vinho ou champanhe; volume em ml _____ <input type="checkbox"/> Destilado (aguardente; whisky; vodca; gim; etc); volume em ml _____ Quantidade ingerida por semana após conversão em gramas: _____ g/sem | dose_alcoolprev |

| | |
|---|----------------|
| Hábitos de vida – Tabagismo | |
| 56. O Sr. (a) fuma ou já fumou? (0) Nunca fumei - pule para a pergunta n° 62 (1) Já fumei, mas parei - pule para a pergunta n° 59 (2) Ainda fumo – continue abaixo | tabagismo |
| Tabagismo atual | |
| 57. Há quantos anos o Sr. (a) começou a fumar? _____ anos | tempo_tabagatu |
| 58. Quantos cigarros o Sr. (a) usa em média por dia? _____ cigarros | cigar_diaatu |
| Tabagismo prévio | |

| | |
|---|-----------------|
| 59. Há quantos anos o Sr. (a) parou de fumar completamente? _____ | tempo_semfumo |
| 60. Por quantos anos o Sr. (a) teve o hábito de fumar? _____ anos | tempo_tabagprev |
| 61. Quantos cigarros o Sr. (a) usava em média por dia? _____ cigarros | cigar_diaprev |

| Complicações prévias da cirrose hepática | | | | |
|---|------------|------------|---------|---------------|
| <i>O senhor tem ou já teve algum dos problemas abaixo?</i> | | | | |
| (complementar com dados do prontuário) | | | | |
| 62. Inchaço nas pernas | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | edema_prev |
| 63. Água na barriga (ascite) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | ascite_prev |
| 64. Retirou líquido da barriga (paracentese) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | paracent_prev |
| 65. Vômitos com sangue/hemorragia digestiva | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hda_prev |
| 66. Internação por confusão mental (encefalopatia) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | encef_prev |
| 67. Internação por infecção no líquido da barriga (PBE) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | pbe_prev |
| 68. Internação por complicações da cirrose | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_prev |
| 69. Data primeira internação (mês/ano): _____/_____/_____ | | | | data_intern |

| RFH – Avaliação Subjetiva Global | | | | | |
|--|-------------|----------|--------------|-----------|--------------|
| Informações Clínicas – Nas últimas duas semanas o Sr. (a) apresentou? | | | | | |
| (leve: ≤ 1 semana; moderada: até 2 semanas; grave: > 2 semanas) | | | | | |
| 70. Diminuição de apetite | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rfh_anorex |
| 71. Náuseas ou ânsia de vômito | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rfh_nausea |
| 72. Vômitos | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rfh_vomitos |
| 73. Dificuldade para mastigação | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rfh_mastiga |
| 74. Dificuldade para engolir | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rfh_disfagia |
| 75. Sintomas de má digestão | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rfh_indigest |

| | | | | | |
|--|---|---|--|---------------------|-------------------|
| 76. Dor ou desconforto na barriga | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | r fh_dorabd |
| 77. Em média, quantas evacuações o Sr. (a) apresenta por dia? _____ vezes/dia | | | | | r fh_evac |
| 78. Hábito alment e como é a consist ência das fezes? | (0) Ressecadas | (1) Sólidas | (2) Pastosas | (3) Líquidas | r fh_consistf ez |
| 79. Habitualmente como é a coloração das fezes? _____ | | | | | r fh_corfez |
| 80. O Sr. apresentou alguma infecção nas últimas duas semanas? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | | r fh_infec |
| 81. Data infecção: ____/____/____ | | | | | r fh_datainfec |
| 82. Disfunção renal (apenas dados história) | (0) Ausente (sem queixas ou história de doença renal) | (1) Leve (diminuição subjetiva do vol urinário) | (2) Moderada (disfunção renal diagnosticada sem diálise) | (3) grave (Diálise) | r fh_disf renal |
| 83. Encefalopatia hepática (West-Haven) | (0) Ausente (G0) | (1) Leve (G1/G2) | (2) Moderada (G3) | (3) grave (G4) | r fh_enc efalop |
| 84. Sangramento digestivo | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | r fh_san gr |
| Perda ou ganho de peso | | | | | |
| 85. Peso habitual: _____ kg | | | | | r fh_pesoha bit |
| 86. Perdeu peso nos últimos 6 meses | (0) Não | | (1) Sim | (9) IGN | r fh_perdpes o |
| 87. Quantidade perdida: _____ kg | | | | | r fh_pesoper dido |
| 88. %perda peso relação ao habitual: _____% (= peso habitual – peso atual / peso habitual x 100) | | | | | r fh_percent perd |
| Capacidade funcional | | | | | |
| 89. Atividade Física (0) Trabalhando conforme habitual (1) Trabalhando com restrições: maior cansaço ou grau de dificuldade para exercer as atividades cotidianas. | | | | | r fh_ativfisic a |

| | | | | | |
|---|--|--|--|-----------|---------------------|
| (2) Em tratamento ambulatorial: restrito ao ambiente domiciliar, com suas atividades cotidianas interrompidas e tendo de permanecer sentado a maior parte do tempo. | | | | | |
| (3) Restrito ao leito: A maior parte do tempo acamado. | | | | | |
| 90. Fadiga | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rffh_fadiga |
| Ingesta alimentar | | | | | |
| 91. Apetite | | (0) Bom | (1) Razoável | (2) Ruim | rffh_apetite |
| 92. Saciedade precoce | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rffh_saciedade |
| 93. Alterações de paladar | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) grave | rffh_paladar |
| 94. Requerimento estimado (Schofield): _____ kcal | | | | | rffh_requerimento |
| 95. Ingesta diária conforme recordatório: _____ kcal/d RECORDATÓRIO ALIMENTAR EM FORMULÁRIO ESPECÍFICO | | | | | rffh_ingestadi |
| 96. Restrições dietéticas: _____ | | | | | |
| 97. Suplementos nutricionais: | (0) Oral | (1) Enteral | (2) Parenteral | | rffh_suplement |
| 98. Ingesta alimentar | (0) Adequada > requer diário | (1) Inadequada < req e >500kcal/d | (2) Insignificante < 500kcal/d | | rffh_ingesta |
| Impressão geral do estado nutricional pelo pesquisador: | | | | | |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|--|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| RFH – Avaliação Física | | | | | | |
| 99. Estoque de gordura subcutânea | | (0) Bom | (1) Razoável | (3) Ruim | rffh_gordura | |
| 100. Diminuição da massa muscular | | (0) Ausente | (1) Leve | (2) Moderada | (3) Grave | rffh_musculo |
| 101. Edema: | | | | | edema_atu | |

| | |
|---|------------|
| (0) Ausente (1) Até tornozelo (+) (2) Até joelho (++) (3) Até raiz de coxa (+++) (4) Anasarca (++++) | |
| 102. Ascite: (0) Ausente (1) Grau 1 (apenas ultrassonográfica – ver último USG prontuário) (2) Grau 2 (moderada não tensa) (3) Grau 3 (ascite importante/tensa) | ascite_atu |

| Dados complementares de exame físico | | | | |
|---|---------|---------|---------|------------|
| 103. Pressão arterial sistólica: | | | | pasist |
| 104. Pressão arterial diastólica: | | | | padiast |
| 105. Frequência cardíaca: | | | | fcard |
| 106. Saturação de oxigênio (paciente de pé): | | | | sao2 |
| 107. Icterícia: (0) Ausente (1) 1+ (2) 2++ (3) 3+++ (4) 4++++ | | | | ictericia |
| 108. Fala arrastada | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | fala |
| 109. Sonolência | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | sono |
| 110. Desatenção | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | desatencao |
| 111. Flapping | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | flapping |
| 112. Encefalopatia hepática (Critérios de West Haven): (0) Ausente – Nenhuma anormalidade detectada. (1) Grau 1 – falta atenção, euforia, ansiedade, desempenho prejudicado. (2) Grau 2 – Flapping; letargia, desorientação leve tempo e espaço, mudança súbita personalidade. (3) Grau 3 – Flapping; sonolento, mas responsivo a estímulos, confusão e desorientação importante. (4) Grau 4 – coma. | | | | encef_atu |

| Dados de antropometria | |
|---|--------------|
| 113. Peso (kg): _____ Descontar peso da roupa extra! | peso |
| 114. Peso seco estimado: _____ | peso_seco |
| 115. IMC (peso seco): _____ kg/m ² | imc_pesoseco |
| 116. Altura (cm): _____ | altura |
| 117. Circunferência do braço 1 (cm): _____ | circ_braço1 |
| 118. Circunferência do braço 2 (cm): _____ | circ_braço2 |
| 119. Circunferência do braço 3 (cm): _____ | circ_braço3 |
| 120. Prega cutânea tricipital 1 (mm): _____ | prega_tric1 |
| 121. Prega cutânea tricipital 2 (mm): _____ | prega_tric2 |
| 122. Prega cutânea tricipital 3 (mm): _____ | prega_tric3 |
| 123. Força aperto de mão 1: _____ | forca_mao1 |
| 124. aperto de mão 2: _____ | forca_mao2 |
| 125. Força aperto de mão 3: _____ | forca_mao3 |
| 126. Circunferência muscular do braço (cm): _____ (=CB – (0,314 x PCT)) | cmb |

| Dados complementares de prontuário | | | | |
|---|---------|---------|---------|--------------|
| Etiologia da doença hepática crônica (marcar mais de uma se presente) | | | | |
| 127. Hepatite B | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hep_b |
| 128. Hepatite C | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hep_c |
| 129. Álcool | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | alcool_etiol |
| 130. Hepatite auto-imune | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hep_ai |
| 131. Cirrose biliar primária | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | cbp |
| 132. Colangite esclerosante primária | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | cep |
| 133. Hemocromatose | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hemocr |
| 134. Esteatohepatite não-alcoólica | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | nash |
| 135. Criptogênica | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | cripto_etiol |
| 136. Outra: _____ | | | | outra_etiol |
| Hepatocarcinoma: | | | | |
| 137. Diagnóstico HCC? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hcc |
| Endoscopia digestiva alta: | | | | |
| 138. Data última EDA: ____/____/____ | | | | data_eda |
| 139. Varizes esôfago | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | varesof_eda |
| 140. Varizes gástricas | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | vargastr_eda |
| 141. Gastropatia hipertensiva portal | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | gastrop_eda |

| Hipertensão portal (no caso de ausência de indícios na EDA) | | | | |
|--|---------|---------|---------|-------------|
| 142. Outros indícios de hipertensão portal em exame de imagem (USG/TC/RM)? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hipert_imag |

| Diagnóstico de cirrose hepática (Hipertensão portal = varizes de esôfago/gástricas OU ascite com GASA \geq 1,1 OU exame de imagem sugestivo) | |
|---|-------------------|
| 143. Critérios para diagnóstico da cirrose hepática (no caso de mais de uma resposta, escolha o menor número): (0) Biópsia hepática mostrando cirrose (1) Hipertensão portal + exame de imagem sugestivo de cirrose (2) Hipertensão portal + estigmas clínicos de insuficiência hepática crônica (3) Hipertensão portal + alterações laboratoriais sugestivas de cirrose (4) Outro | diagn_cirrose |
| 144. Especificar outro critério diagnóstico: _____ | outrocrit_cirrose |
| Categorização do estado nutricional | |
| 145. IMC categorizado (peso seco): (0) < 20 (1) \geq 20 | imc_cat20 |
| 146. Circunferência muscular do braço categorizada de acordo com o percentil (0) < percentil 5 (1) \geq percentil 5 | cmb_catperc5 |
| 147. Ingesta alimentar (já definida e digitada acima) (0) Adequada (1) Inadequada (2) Insignificante | |
| 148. Categoria provisória de acordo com o algoritmo (RFH): (0) Adequadamente nutrido (1) Moderadamente malnutrido (ou suspeita de) (2) Gravemente malnutrido | diagn_nutriprov |
| 149. Substituição subjetiva de categoria (permitida mudança de apenas uma categoria) (0) Não (1) Redução de uma categoria (2) Aumento de uma categoria | muda_subj |
| 150. Categorização nutricional final (após substituição subjetiva) (0) Adequadamente nutrido (1) Moderadamente malnutrido (ou suspeita de) (2) Gravemente malnutrido | diagn_nutrifinal |

| Exames Laboratoriais | | | | | |
|--|--|---------------|----------------|--|--------------|
| 151. Data da coleta: ___/___/_____ | | | | | data_coleta |
| Anotar ao menos duas casas decimais quando for o caso | | | | | |
| No caso de resultado abaixo do limite de referência, anotar <XXX | | | | | |
| Anotar o valor total e não a porcentagem no caso do hemograma | | | | | |
| Creatinina | | ex_crea | Insulina | | ex_insul |
| Uréia | | ex_ureia | TSH | | ex_tsh |
| Hemoglobina | | ex_hemogl | T3 | | ex_t3 |
| Hematócrito | | ex_hematocr | T4 Livre | | ex_t4 |
| Leucometria (n) | | ex_leucome | IGF-1 | | ex_igf1 |
| Formas jovens (n) | | ex_formjv | IGFBP-3 | | ex_igfbp3 |
| Neutrófilos (n) | | ex_neutrof | PCR | | ex_pcr |
| Linfócitos (n) | | ex_linfoc | PTH | | ex_pth |
| Monócitos (n) | | ex_monoc | Vitamina D | | ex_vitad |
| Eosinófilos (n) | | ex_eosinof | Cálcio total | | ex_calciot |
| Basófilos (n) | | ex_basof | Cálcio ion | | ex_calcioion |
| Plaquetas | | ex_plaque | Fósforo | | ex_fosforo |
| AST | | ex_ast | Col. Total | | ex_coltotal |
| ALT | | ex_alt | HDL | | ex_colhdl |
| Fosf. Alcalina | | ex_falcalina | LDL | | ex_colldl |
| Gama-GT | | ex_gamagt | VLDL | | ex_colvldl |
| Bili Total | | ex_bilitotal | Triglicerídeos | | ex_triglicer |
| Bili Direta | | ex_bilidireta | Hb glicada | | ex_hbglicada |
| Albumina | | ex_albumina | Adiponectina | | ex_adipo |
| Alfa-feto | | ex_alfafeto | | | |
| Ferro | | ex_ferro | | | |
| Ferritina | | ex_ferritina | | | |
| Transferrina | | ex_transferr | | | |
| Ativ.protr. | | ex_ativpro | | | |
| Tempo protr. | | ex_tempopro | | | |
| RNI | | ex_rni | | | |
| Glicemia | | ex_glicemia | | | |
| Sódio | | ex_sodio | | | |
| Potássio | | ex_potassio | | | |
| TTPA (segundos) | | ex_ttpaseg | | | |
| TTPA (relação) | | ex_ttparel | | | |

APENDICE B – Instrumento de Coleta de Dados 2014

INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA: IMPACTO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E NUTRICIONAIS

| Dados de identificação e contato | |
|---|---------------|
| 1. Nome: | nome |
| 2. Número do prontuário: | num_pront |
| 3. Data da avaliação: ____/____/____ | data_aval |
| 4. Data de nascimento: ____/____/____ | data_nasc |
| 5. Telefone residencial: (____) | tel_resid |
| 6. Telefone celular: (____) | tel_celular |
| 7. Outro telefone de contato 1: (____) | tel_contato1 |
| 8. Nome da pessoa de contato 1: (____) | nome_contato1 |
| 9. Outro telefone de contato 2: (____) | tel_contato2 |
| 10. Nome da pessoa de contato 2: (____) | nome_contato2 |

| Critérios exclusão | | | |
|--|---------|---------|-------------|
| 11. Incluído no estudo? | (0) Não | (1) Sim | incluido |
| 12. Motivo da exclusão: | | | motivo_excl |
| (5) Uso de interferon nos últimos 30 dias | | | |
| (6) Limitação da capacidade de compreensão | | | |
| (7) Recusa | | | |

| Características sócias demográficas | |
|-------------------------------------|-------|
| 13. Idade: _____ anos | idade |

| Comorbidades | | | | |
|--|---------|---------|---------|--------------|
| <i>Algum médico já disse que o senhor tem ou teve:</i> | | | | |
| (complementar com dados do prontuário) | | | | |
| 14. Pressão alta | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | has |
| 15. Diabetes | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | diabetes |
| 16. AIDS/HIV | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hiv |
| 17. Asma | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | asma |
| 18. Enfisema ou bronquite crônica (DPOC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | dpoc |
| 19. Infarto do miocárdio | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | iam |
| 20. Angina | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | angina |
| 21. Derrame (AVC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | avc |
| 22. Colesterol alto | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Dislipidemia |
| 23. Insuficiência cardíaca | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | lcc |

| | | | | |
|-------------------------------|---------|---------|---------|-------------|
| congestiva (ICC) | | | | |
| 24. Insuficiência renal | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | insuf_renal |
| 25. Hipotireoidismo | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Hipotir |
| 26. Osteoporose ou osteopenia | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Osteop |
| 27. Artrite reumatóide | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Artrite |
| 28. Lupus | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Lúpus |
| 29. Depressão | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Depressão |
| 30. Tuberculose | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Tuberc |

| Medicações (complementar com dados do prontuário) | | | | |
|---|------------|------------|------------|-----------------------------|
| <i>O senhor faz uso regular de alguma das medicações abaixo?</i> | | | | |
| 31. Propranolol Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | proprano dose_proprano |
| 31. Espironolactona Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | espiro dose_espiro |
| 32. Furosemida Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | furo dose_furo |
| 33. Lactulose Dose: _____ ml/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | lactulose dose_lactulose |
| 34. Norfloxacina Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | norflox dose_norflox |
| 35. Alendronato Dose: _____ mg/sem | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | alendro dose_alendro |
| 36. Cálcio Nome comercial: _____ Nº comprimidos/d: _____ Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | calcio dose_calcio |
| 37. Vitamina D Nome comercial: _____ Nº gotas/d: _____ Dose: _____ UI/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | vitamd dose_vitamd |
| 38. Hidroclorotiazida Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hctz dose_hctz |
| 39. Prednisona Dose: _____ mg/d | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | pred dose_pred |
| 40. Remédio oral para diabetes Qual? _____ | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hipoglicem qual_hipogl |
| 41. Insulina | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | insulina |
| 42. Remédio para triglicérides (fibratos) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | fibrato |
| 43. Remédio para colesterol alto (estatinas) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | estatinas |
| <i>Quais outras medicações o senhor fez uso regular nos últimos 30 dias (anotar os nomes):</i> | | | | |
| | | | | med1 |
| | | | | med2 |
| | | | | med3 |

| | |
|--|------|
| | med4 |
| | med5 |
| | med6 |
| | med7 |
| | med8 |

| Hábitos de vida – Consumo de álcool | |
|---|-------------------|
| 44. O Sr. (a) tem ou já teve o hábito de beber bebidas alcoólicas? (3) Não tenho e nunca bebi - pule para a pergunta n° 52 (4) Já bebi, mas parei há mais de 30 dias - pule para a pergunta n° 48 (5) Ainda bebo – continue abaixo | etilismo |
| Etilismo atual | |
| 45. Há quantos anos o Sr. (a) começou a beber? _____ anos | dur_etilismoatu |
| 46. Com que frequência em média o(a) Sr.(a) toma bebidas alcoólicas? (0) Menos que uma vez ao mês (1) Uma vez ao mês (2) Duas vezes ao mês (3) Uma vez por semana (4) Duas vezes por semana (5) Três vezes por semana (6) Quatro vezes por semana (7) Cinco vezes por semana (8) Seis vezes por semana (9) Todos os dias (10) NSA (99) IGN | freq_etilismoatu |
| 47. Quanto de álcool o(a) Sr.(a) toma normalmente ao beber por vez? (ver quadro de equivalência de dose padrão abaixo) Bebida: () Cerveja; volume em ml _____ () Vinho ou champanhe; volume em ml _____ () Destilado (aguardente; whisky; vodca; gim; etc); volume em ml _____ Quantidade ingerida por semana após conversão em gramas: _____ g/sem | dose_alcoolatu |
| Etilismo prévio | |
| 48. Há quantos meses o Sr. (a) parou de beber completamente? _____ meses | tempo_abst |
| 49. Por quantos anos o Sr. (a) consumiu bebidas alcoólicas? _____ anos | dur_etilismoprev |
| 50. Com que frequência em média o(a) Sr.(a) tinha o hábito de tomar bebidas alcoólicas? (1) Mensalmente ou menos (2) Uma vez ao mês (3) Duas vezes ao mês (4) Uma vez por semana (5) Duas vezes por semana | freq_etilismoprev |

| | |
|---|-----------------|
| (6) Três vezes por semana (7) Quatro vezes por semana (8) Cinco vezes por semana (9) Seis vezes por semana (10) Todos os dias (11) NSA (99) IGN | |
| 51. Quanto de álcool o(a) Sr.(a) toma normalmente ao beber por vez? (ver quadro de equivalência de dose padrão abaixo) Bebida: () Cerveja; volume em ml _____ () Vinho ou champanhe; volume em ml _____ () Destilado (aguardente; whisky; vodca; gim; etc); volume em ml _____ Quantidade ingerida por semana após conversão em gramas: _____ g/sem | dose_alcoolprev |

| Infecção atual | | | | |
|---|---------|---------|---------|-----------------------------|
| Informações Clínicas – Atualmente o Sr. vem sentindo/apresentando (últimos 7 dias)? | | | | |
| 52. Febre | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | inf_febre |
| 53. Tosse com expectoração (diferente da habitual) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | inf_tosse |
| 54. Dor ou ardência para urinar | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | inf_disuria |
| 55. Dor de garganta | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | inf_amigdala |
| 56. Inflamação na pele (examinar) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | inf_celulite |
| 57. Fez uso de antibiótico nos últimos 7 dias Qual? _____ | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | inf_antibiot inf_qualatb |

| Dados complementares de prontuário | | | | |
|---|---------|---------|---------|-----------|
| Hepatocarcinoma: | | | | |
| 58. Diagnóstico HCC? (0) Não: pule para pergunta 61 (1) Sim | | | | hcc |
| 59. Data do diagnóstico HCC: ____/____/____ | | | | data_hcc |
| 60. Dentro critérios de Milão? * 1 lesão até 5 cm ou 3 lesões até 3 cm * sem metástases a distância * sem invasão vascular (trombose portal tumoral) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hcc_milao |
| Endoscopia digestiva alta: | | | | |

| | | | | |
|---|---------|---------|---------|--------------|
| 61. Data última EDA: ____/____/____ | | | | data_eda |
| 62. Varizes esôfago | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | varesof_eda |
| 63. Varizes gástricas | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | vargastr_eda |
| 64. Gastropatia hipertensiva portal | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | gastrop_eda |
| Hipertensão portal (no caso de ausência de indícios na EDA) | | | | |
| 65. Outros indícios de hipertensão portal em exame de imagem (USG/TC/RM)? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hipert_imag |

| | | | | |
|---|---------|---------|---------|-----------------|
| Complicações prévias da cirrose hepática | | | | |
| <i>O senhor tem ou já teve algum dos problemas abaixo?</i> | | | | |
| (complementar com dados do prontuário) | | | | |
| 66. Inchaço nas pernas | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | edema_prev |
| 67. Água na barriga (ascite) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | ascite_prev |
| 68. Retirou líquido da barriga (paracentese) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | paracent_prev |
| 69. Vômitos com sangue/hemorragia digestiva | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hda_prev |
| 70. Internação por confusão mental (encefalopatia) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | encef_prev |
| 71. Internação por infecção no líquido barriga (PBE) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | pbe_prev |
| 72. Internação por complicações da cirrose | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_prev |
| 73. Data primeira internação (mês/ano): ____/____ | | | | data_primintern |
| 74. Data última internação (dia/mês/ano): ____/____/____ | | | | data_ultintern |

| | | | | |
|---|---------|---------|---------|----------------|
| Reavaliação 2012 – 2014 | | | | |
| (complementar com dados do prontuário) | | | | |
| Informações Clínicas – Nos últimos dois anos o Sr. (a) apresentou? | | | | |
| Descompensação hepática: | | | | |
| 75. Inchaço nas pernas | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | edema_reav |
| 76. Data primeiro episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_edema |
| 77. Água na barriga (ascite) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | ascite_reav |
| 78. Data1: ____/____ (mês/ano) | | | | data_ascite1 |
| 79. Data2: ____/____ (mês/ano) | | | | data_ascite2 |
| 80. Data3: ____/____ (mês/ano) | | | | data_ascite3 |
| 81. Data4: ____/____ (mês/ano) | | | | data_ascite4 |
| 82. Data5: ____/____ (mês/ano) | | | | data_ascite5 |
| 83. Data6: ____/____ (mês/ano) | | | | data_ascite6 |
| 84. Retirou líquido da barriga (paracentese) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | paracent_reav |
| 85. Data1: ____/____ (mês/ano) | | | | data_paracent1 |
| 86. Data2: ____/____ (mês/ano) | | | | data_paracent2 |
| | | | | data_paracent3 |

| | | | | |
|---|---------|---------|---------|---|
| 87. Data3: ____/____ (mês/ano) 88. Data4: ____/____ (mês/ano) 89. Data5: ____/____ (mês/ano) 90. Data6: ____/____ (mês/ano) | | | | data_paracent4 data_paracent5 data_paracent6 |
| 91. Vômitos com sangue/hemorragia digestiva 92. Data1: ____/____ (mês/ano) 93. Data2: ____/____ (mês/ano) 94. Data3: ____/____ (mês/ano) 95. Data4: ____/____ (mês/ano) 96. Data5: ____/____ (mês/ano) 97. Data6: ____/____ (mês/ano) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hda_reav data_hda1 data_hda2 data_hda3 data_hda4 data_hda5 data_hda6 |
| 98. Internação por hemorragia digestiva 99. Data1: ____/____ (mês/ano) 100. Data2: ____/____ (mês/ano) 101. Data3: ____/____ (mês/ano) 102. Data4: ____/____ (mês/ano) 103. Data5: ____/____ (mês/ano) 104. Data6: ____/____ (mês/ano) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_reav data_internhda 1 data_internhda 2 data_internhda 3 data_internhda 4 data_internhda 5 data_internhda 6 |
| 105. Encefalopatia hepática 106. Data1: ____/____ (mês/ano) 107. Data2: ____/____ (mês/ano) 108. Data3: ____/____ (mês/ano) 109. Data4: ____/____ (mês/ano) 110. Data5: ____/____ (mês/ano) 111. Data6: ____/____ (mês/ano) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | encef_reav data_encef1 data_encef2 data_encef3 data_encef4 data_encef5 data_encef6 |
| 112. Internação por confusão mental (encefalopatia) 113. Data1: ____/____ (mês/ano) 114. Data2: ____/____ (mês/ano) 115. Data3: ____/____ (mês/ano) 116. Data4: ____/____ (mês/ano) 117. Data5: ____/____ (mês/ano) 118. Data6: ____/____ (mês/ano) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_encef data_interencef 1 data_interencef 2 data_interencef 3 data_interencef 4 data_interencef 5 data_interencef 6 |
| 119. Internação por infecção no líquido da barriga(PBE) 120. Data1: ____/____ (mês/ano) 121. Data2: ____/____ (mês/ano) 122. Data3: ____/____ (mês/ano) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | pbe_reav data_pbe1 data_pbe2 data_pbe3 data_pbe4 |

| | | | | |
|--|---------|---------|---------|----------------|
| 123. Data4: ____/____ (mês/ano) | | | | data_pbe5 |
| 124. Data5: ____/____ (mês/ano) | | | | data_pbe6 |
| 125. Data6: ____/____ (mês/ano) | | | | |
| 126. Internação por complicações da cirrose | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_reav |
| 127. Data1: ____/____ (mês/ano) | | | | data_intereav1 |
| 128. Data2: ____/____ (mês/ano) | | | | data_intereav2 |
| 129. Data3: ____/____ (mês/ano) | | | | data_intereav3 |
| 130. Data4: ____/____ (mês/ano) | | | | data_intereav4 |
| 131. Data5: ____/____ (mês/ano) | | | | data_intereav5 |
| 132. Data6: ____/____ (mês/ano) | | | | data_intereav6 |
| 133. Internação no HU? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_hu |
| 134. Data1: ____/____ (mês/ano) | | | | data_internhu1 |
| 135. Data2: ____/____ (mês/ano) | | | | data_internhu2 |
| 136. Data3: ____/____ (mês/ano) | | | | data_internhu3 |
| 137. Data4: ____/____ (mês/ano) | | | | data_internhu4 |
| 138. Data5: ____/____ (mês/ano) | | | | data_internhu5 |
| 139. Data6: ____/____ (mês/ano) | | | | data_internhu6 |
| Eventos cardiovasculares: | | | | |
| 140. Infarto do miocárdio | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | iam_reav |
| 141. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_iam |
| 142. Angina | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | angina_reav |
| 143. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_angina |
| 144. Arritmia | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | arritmia_reav |
| 145. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_arritmia |
| 146. Insuficiência cardíaca congestiva (ICC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | icc_reav |
| 147. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_icc |
| 148. Derrame (AVC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | avc_reav |
| 149. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_avc |
| 150. AIT | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | ait_reav |
| 151. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_ait |
| 152. Infarto mesentérico | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | inf_mesent_rea |
| 153. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_infmesent |
| 154. Embolia pulmonar | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | emb_pulm-reav |
| 155. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_embpulm |
| 156. Trombose venosa profunda | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | tvp_reav |
| 157. Data 1º episódio: ____/____ (mês/ano) | | | | data_tvp |

| Óbito <i>(complementar com dados do prontuário)</i> | | | | |
|--|--|---------|---------|---------------|
| 158. Óbito (0) Não: pule para pergunta 164 (1) Sim | Óbito | | | |
| 159. Data do Óbito: ____/____/____ | data_obito | | | |
| 160. Causa do óbito: (1) Hemorragia digestiva (2) Infecção (sepsis) (3) Síndrome hepatorenal (4) Infarto agudo do miocárdio (5) Derrame (AVC) (6) Não sabe (7) Outra: _____ | causa_obito outra_causaob | | | |
| 161. Internação no HU antes do óbito | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_hu |
| 162. Internação em outro serviço antes do óbito | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_outro |
| 163. Qual: _____ | | | | interna_qual |

| Transplante <i>(complementar com dados do prontuário)</i> | |
|--|---|
| 164. Transplante (0) Não: pule para pergunta 168 (1) Sim | transplante |
| 165. Data do Transplante: ____/____/____ | data_tx |
| 166. Serviço transplante: (1) HU (2) Blumenau (3) Outro: _____ | local_tx outlocal_tx |
| 167. Transplantado por: (1) Gravidade hepatopatia (MELD elevado) (2) Hepatocarcinoma (3) Ascite refratária (4) Encefalopatia crônica (5) Síndrome hepatopulmonar (6) Não sabe (7) Outro critério de exceção: _____ | indica_tx outrocrit_tx |

| Dados de antropometria | |
|--|--------------|
| 168. Peso (kg): _____ <i>Descontar peso da roupa extra!</i> | Peso |
| 169. Peso seco estimado: _____ | peso_seco |
| 170. IMC (peso seco): _____ kg/m ² | imc_pesoseco |
| 171. Altura (cm): _____ | Altura |

| Dados complementares de exame físico | | | | |
|---|---------|---------|---------|------------|
| 172. Pressão arterial sistólica: | | | | Pasist |
| 173. Pressão arterial diastólica: | | | | Padiast |
| 174. Frequência cardíaca: | | | | Fcard |
| 175. Saturação de oxigênio (paciente de pé): | | | | saO2 |
| 176. Icterícia: (5) Ausente (6) 1+ (7) 2++ (8) 3+++ (9) 4++++ | | | | Icterícia |
| 177. Fala arrastada | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Fala |
| 178. Sonolência | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | Sono |
| 179. Desatenção | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | desatencao |
| 180. Flapping | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | flapping |
| 181. Encefalopatia hepática (Critérios de West Haven): (5) Ausente – Nenhuma anormalidade detectada. (6) Grau 1 – falta atenção, euforia, ansiedade, desempenho prejudicado. (7) Grau 2 – Flapping; letargia, desorientação leve tempo e espaço, mudança súbita personalidade. (8) Grau 3 – Flapping; sonolento, mas responsivo a estímulos, confusão e desorientação importante. (9) Grau 4 – coma. | | | | encef_atu |
| Avaliação Física | | | | |
| 182. Edema: (5) Ausente (6) Até tornozelo (+) (7) Até joelho (++) (8) Até raiz de coxa (+++) (9) Anasarca (++++) | | | | edema_atu |
| 183. Ascite: (4) Ausente (5) Grau 1 (apenas ultrassonográfica – ver último USG prontuário) (6) Grau 2 (moderada não tensa) (7) Grau 3 (ascite importante/tensa) | | | | ascite_atu |

| Exames Laboratoriais | | | | | |
|--|--|-------------|----------|--|-------------|
| 184. Data da coleta: ____/____/____ | | | | | data_coleta |
| Anotar ao menos duas casas decimais quando for o caso | | | | | |
| No caso de resultado abaixo do limite de referência, anotar <XXX | | | | | |
| Anotar o valor total e não a porcentagem no caso do hemograma | | | | | |
| Creatinina | | ex_crea | Insulina | | ex_insul |
| Uréia | | ex_ureia | IGF-1 | | ex_igf1 |
| Hemoglobina | | ex_hemogl | IGFBP-3 | | ex_igfbp3 |
| Hematócrito | | ex_hematocr | PCR | | ex_pcr |
| Leucometria (n) | | ex_leucome | PTH | | ex_pth |

| | | | | | |
|-------------------|--|---------------|----------------|--|--------------|
| Formas jovens (n) | | ex_formjv | Vitamina D | | ex_vitad |
| Neutrófilos (n) | | ex_neutrof | Cálcio total | | ex_calciot |
| Linfócitos (n) | | ex_linfoc | Fósforo | | ex_fosforo |
| Monócitos (n) | | ex_monoc | Col. Total | | ex_coltotal |
| Eosinófilos (n) | | ex_eosinof | HDL | | ex_colhdl |
| Basófilos (n) | | ex_basof | LDL | | ex_colldl |
| Plaquetas | | ex_plaque | VLDL | | ex_colvldl |
| AST | | ex_ast | Triglicerídeos | | ex_triglicer |
| ALT | | ex_alt | Hb glicada | | ex_hbglicada |
| Fosf. Alcalina | | ex_falcalina | Adiponectina | | ex_adipo |
| Gama-GT | | ex_gamagt | | | |
| Bili Total | | ex_bilitotal | | | |
| Bili Direta | | ex_bilidireta | | | |
| Albumina | | ex_albumina | | | |
| Alfa-feto | | ex_alfafeto | | | |
| Ferro | | ex_ferro | | | |
| Ferritina | | ex_ferritina | | | |
| Transferrina | | ex_transferr | | | |
| Ativ.protr. | | ex_ativpro | | | |
| Tempo protr. | | ex_tempopro | | | |
| RNI | | ex_rni | | | |
| Glicemia | | ex_glicemia | | | |
| Sódio | | ex_sodio | | | |
| Potássio | | ex_potassio | | | |

APENDICE C – Instrumento de Coleta de Dados do Grupo Controle

INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA: CONTROLES

| Dados de identificação e contato | |
|---|---------------|
| 1. Nome: | Nome |
| 2. Número do prontuário: | num_pront |
| 3. Data da avaliação: ____/____/____ | data_aval |
| 4. Data de nascimento: ____/____/____ | data_nasc |
| 5. Telefone residencial: (____) | tel_resid |
| 6. Telefone celular: (____) | tel_celular |
| 7. Outro telefone de contato 1: (____) | tel_contato1 |
| 8. Nome da pessoa de contato 1: (____) | nome_contato1 |
| 9. Outro telefone de contato 2: (____) | tel_contato2 |
| 10. Nome da pessoa de contato 2: (____) | nome_contato2 |

| Critérios exclusão | | | |
|--|---------|---------|-------------|
| 11. Incluído no estudo? | (0) Não | (1) Sim | Incluído |
| 12. Motivo da exclusão: | | | motivo_excl |
| (8) Diagnóstico de doença hepática crônica (qualquer doença hepática, inclusive esteatose) | | | |
| (9) Diabetes mellitus | | | |
| (10) Uso de hipoglicemiantes orais ou insulina | | | |
| (11) Obesidade IMC >28 | | | |
| (12) Uso de antibiótico nos últimos 7 dias | | | |
| (13) Etilismo significativo (> 250 g/sem para homens e > 170g/sem para mulheres) | | | |
| (14) Imunossupressão (SIDA, uso de imunossupressores ou prednisona, outras doenças) | | | |
| (15) Neoplasia maligna | | | |
| (16) Doenças inflamatórias (intestinais, reumatológicas, auto-imunes, etc) | | | |
| (17) Risco cardiovascular: Ico, ICC | | | |
| (18) DPOC | | | |
| (19) IRC | | | |

| Características sócias demográficas | |
|-------------------------------------|-------|
| 13. Idade: _____ anos | Idade |
| 14. Sexo: | sexo |
| (2) Feminino | |

| | |
|--|--------------|
| (3) Masculino | |
| 15. Cor da pele/raça (conforme observado pelo pesquisador): (6) Branca (7) Parda (8) Negra (9) Amarela (10) Indígena (11) IGN | cor_pele |
| 16. Estado civil: Neste momento o (a) Sr.(a) está? (5) Casado ou morando com companheiro (6) Solteiro (7) Divorciado ou separado (8) Viúvo (9) IGN | estado_civil |

| Comorbidades | | | | |
|--|---------|---------|---------|--------------|
| Algum médico já disse que o senhor tem ou teve: | | | | |
| 17. Pressão alta | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | has |
| 18. Diabetes | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | diabetes |
| 19. AIDS/HIV | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hiv |
| 20. Asma | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | asma |
| 21. Enfisema ou bronquite crônica (DPOC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | d poc |
| 22. Infarto do miocárdio | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | iam |
| 23. Angina | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | angina |
| 24. Derrame (AVC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | avc |
| 25. Colesterol alto | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | dislipidemia |
| 26. Insuficiência cardíaca congestiva (ICC) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | icc |
| 27. Insuficiência renal | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | insuf_renal |
| 28. Hipotireoidismo | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hipotir |
| 29. Osteoporose ou osteopenia | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | osteop |
| 30. Artrite reumatóide | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | artrite |
| 31. Lupus | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | lupus |
| 32. Depressão | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | depressao |
| 33. Tuberculose | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | tuberc |

| Medicações | | | | |
|--|------------|------------|------------|------------|
| O senhor faz uso regular de alguma das medicações abaixo? | | | | |
| 36. Remédio para pressão alta Qual(is)? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | antihipert |
| 37. Diuréticos Qual(is)? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | diureticos |
| 45. Remédio para colesterol alto (estatinas) | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | estatinas |

| Quais outras medicações o senhor fez uso regular nos últimos 30 dias (anotar os nomes): | |
|--|------|
| | med1 |
| | med2 |
| | med3 |
| | med4 |
| | med5 |
| | med6 |
| | med7 |
| | med8 |

| Hábitos de vida – Consumo de álcool | |
|--|-------------------|
| 46. O Sr. (a) tem ou já teve o hábito de beber bebidas alcoólicas? (6) Não tenho e nunca bebi - pule para a pergunta n° 52 (7) Já bebi, mas parei há mais de 30 dias - pule para a pergunta n° 48 (8) Ainda bebo – continue abaixo | etilismo |
| Etilismo atual | |
| 47. Há quantos aos o Sr. (a) começou a beber? _____ anos | dur_etilismoatu |
| 48. Com que frequência em média o(a) Sr.(a) toma bebidas alcoólicas? (0) Menos que uma vez ao mês (1) Uma vez ao mês (2) Duas vezes ao mês (3) Uma vez por semana (4) Duas vezes por semana (5) Três vezes por semana (6) Quatro vezes por semana (7) Cinco vezes por semana (8) Seis vezes por semana (9) Todos os dias (10) NSA (99) IGN | freq_etilismoatu |
| 49. Quanto de álcool o(a) Sr.(a) toma normalmente ao beber por vez? (ver quadro de equivalência de dose padrão abaixo) Bebida: () Cerveja; volme em ml _____ () Vinho ou champanhe; volume em ml _____ () Destilado (aguardente; whisky; vodca; gim; etc); volume em ml _____ Quantidade ingerida por semana após conversão em gramas: _____ g/sem | dose_alcoolatu |
| Etilismo prévio | |
| 50. Há quantos meses o Sr. (a) parou de beber completamente? _____ meses | tempo_abst |
| 51. Por quantos anos o Sr. (a) consumiu bebidas alcoólicas? _____ anos | dur_etilismoprev |
| 52. Com que frequência em média o(a) Sr.(a) tinha o hábito de tomar bebidas alcoólicas? (1) Mensalmente ou menos | freq_etilismoprev |

| | |
|--|-----------------|
| (2) Uma vez ao mês (3) Duas vezes ao mês (4) Uma vez por semana (5) Duas vezes por semana (6) Três vezes por semana (7) Quatro vezes por semana (8) Cinco vezes por semana (9) Seis vezes por semana (10) Todos os dias (11) NSA (99) IGN | |
| 53. Quanto de álcool o(a) Sr.(a) toma normalmente ao beber por vez? (ver quadro de equivalência de dose padrão abaixo) Bebida: () Cerveja; volme em ml _____ () Vinho ou champanhe; volume em ml _____ () Destilado (aguardente; whisky; vodca; gim; etc); volume em ml _____ Quantidade ingerida por semana após conversão em gramas: _____ g/sem | dose_alcoolprev |

| Hábitos de vida - Tabagismo | | | | |
|---|-----------------|---------|---------|---------------|
| 54. O Sr. (a) fuma ou já fumou? (3) Nunca fumei - pule para a pergunta n° 62 (4) Já fumei, mas parei - pule para a pergunta n° 59 (5) Ainda fumo – continue abaixo | tabagismo | | | |
| Tabagismo atual | | | | |
| 55. Há quantos anos o Sr. (a) começou a fumar? _____ anos | tempo_tabagatu | | | |
| 56. Quantos cigarros o Sr. (a) usa em média por dia? _____ cigarros | cigar_diaatu | | | |
| Tabagismo prévio | | | | |
| 57. Há quantos anos o Sr. (a) parou de fumar completamente? _____ | tempo_semfumo | | | |
| 58. Por quantos anos o Sr. (a) teve o hábito de fumar? _____ anos | tempo_tabagprev | | | |
| 59. Quantos cigarros o Sr. (a) usava em média por dia? _____ cigarros | cigar_diaprev | | | |
| Tabagismo para escore de Framingham | | | | |
| 60. O Sr. Fumou algum cigarro no último mês? | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | cigar_framing |

| História familiar de risco Cardiovascular | | | | | |
|---|--|---------|---------|---------|-----------|
| <i>O senhor tem alguém na família (pais ou irmãos) que foram diagnosticados com algumas das doenças abaixo?</i> | | | | | |
| 66. Infarto Agudo do Miocárdio | | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hf_iam |
| 67. Angina do peito | | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hf_angina |
| 68. AVC/derrame | | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hf_avc |

| | | | | |
|------------------------------------|-------------------------|-----|-----|-----------|
| | | Não | Sim | |
| Índice de Massa Corporal | | | | |
| <i>Preferencialmente calculado</i> | | | | |
| 66. Peso: | _____ kg | | | ef_peso |
| 67. Altura: | _____ cm | | | ef_altura |
| 68. IMC: | _____ kg/m ² | | | ef_imc |

| | | | | |
|--|----------------|---------------|----------------|--------------|
| Exames Laboratoriais | | | | |
| 69. Data da coleta: | ____/____/____ | | | data_coleta |
| Anotar ao menos duas casas decimais quando for o caso | | | | |
| No caso de resultado abaixo do limite de referência, anotar <XXX | | | | |
| Anotar o valor total e não a porcentagem no caso do hemograma | | | | |
| Creatinina | | ex_crea | PCR | ex_pcr |
| Uréia | | ex_ureia | Col. Total | ex_coltotal |
| Hemoglobina | | ex_hemogl | HDL | ex_colhdl |
| Hematócrito | | ex_hematocr | LDL | ex_colldl |
| Leucometria (n) | | ex_leucome | VLDL | ex_colvldl |
| Formas jovens (n) | | ex_formjv | Triglicerídeos | ex_triglicer |
| Neutrófilos (n) | | ex_neutrof | Ácido úrico | ex_acurico |
| Linfócitos (n) | | ex_linfoc | Anti-HCV | ex_antihcv |
| Monócitos (n) | | ex_monoc | HBsAg | ex_hbsag |
| Eosinófilos (n) | | ex_eosinof | Hba1C | |
| Basófilos (n) | | ex_basof | | |
| Plaquetas | | ex_plaque | | |
| AST | | ex_ast | | |
| ALT | | ex_alt | | |
| Fosf. Alcalina | | ex_falcalina | | |
| Gama-GT | | ex_gamagt | | |
| Bili Total | | ex_bilitotal | | |
| Bili Direta | | ex_bilidireta | | |
| Albumina | | ex_albumina | | |
| Ferro | | ex_ferro | | |
| Ferritina | | ex_ferritina | | |
| Transferrina | | ex_transferr | | |
| Ativ.protr. | | ex_ativpro | | |
| Tempo protr. | | ex_tempopro | | |
| RNI | | ex_rni | | |
| Glicemia | | ex_glicemia | | |
| Insulina | | ex_insul | | |
| Sódio | | ex_sodio | | |
| Potássio | | ex_potassio | | |
| TTPA (segundos) | | ex_ttpaseg | | |
| TTPA (relação) | | ex_ttparel | | |

APENDICE D – Instrumento de Coleta de Dados 2015

INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA: IMPACTO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E NUTRICIONAIS

| Dados de identificação e contato | |
|-----------------------------------|-----------|
| 1. Nome: | Nome |
| 2. Número do prontuário: | num_pront |
| 3. Data da avaliação: ___/___/___ | data_aval |

| Óbito (complementar com dados do prontuário) | | | | |
|---|----------------------------------|---------|---------|-----------------------------------|
| 4. Óbito (0) Não: pule para pergunta 10 (1) Sim | Óbito | | | |
| 5. Data do Óbito: ___/___/___ | data_obito | | | |
| 6. Causa do óbito: (1) Hemorragia digestiva (2) Infecção (sepse) (3) Síndrome hepatorenal (4) Infarto agudo do miocárdio (5) Derrame (AVC) (6) Não sabe (7) Outra: _____ | causa_obito outra_causaob | | | |
| 7. Internação no HU antes do óbito | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_hu |
| 8. Internação em outro serviço antes do óbito | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_outro interna_qual |
| 9. Qual: _____ | | | | |

| Transplante (complementar com dados do prontuário) | | | | |
|--|-----------------------------|--|--|--|
| 10. Transplante (0) Não: pule para pergunta 14 (1) Sim | Transplante | | | |
| 11. Data do Transplante: ___/___/___ | data_tx | | | |
| 12. Serviço transplante: (1) HU (2) Blumenau (3) Outro: _____ | local_tx outlocal_tx | | | |
| 13. Transplantado por: (1) Gravidade hepatopatia (MELD elevado) (2) Hepatocarcinoma (3) Ascite refratária (4) Encefalopatia crônica (5) Síndrome hepatopulmonar (6) Não sabe | indica_tx | | | |

| | |
|--------------------------------------|--------------|
| (7) Outro critério de exceção: _____ | outrocrit_tx |
|--------------------------------------|--------------|

| Reavaliação 2015 | | | | |
|--|---------|---------|---------|-----------------------------------|
| Informações Clínicas – No último ano (desde a última avaliação) o Sr. (a) apresentou? | | | | |
| 14. Água na barriga (ascite) 15. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas do primeiro episódio do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | ascite_reav data_ascite1 |
| 16. Retirou líquido da barriga (paracentese) 17. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas da primeira paracentese do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | paracent_reav data_paracent1 |
| 18. Vômitos com sangue/hemorragia digestiva 19. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas do primeiro episódio do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | hda_reav data_hda1 |
| 20. Internação por hemorragia digestiva 21. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas do primeiro episódio do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_reav data_internhda1 |
| 22. Encefalopatia hepática 23. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas do primeiro episódio do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | encef_reav data_encef1 |
| 24. Internação por confusão mental (encefalopatia) 25. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas do primeiro episódio do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_encef data_interencef1 |
| 26. Internação por infecção no líquido da barriga(PBE) 27. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas do primeiro episódio do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | pbe_reav data_pbe1 |
| 28. Internação por complicações da cirrose 29. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas da primeira internação do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_reav data_intereav1 |

| | | | | |
|--|---------|---------|---------|------------------------------|
| 30. Internação no HU? 31. Data1: ____/____ (mês/ano) Data apenas da primeira internação do período | (0) Não | (1) Sim | (9) IGN | interna_hu data_internhu1 |
|--|---------|---------|---------|------------------------------|