

Bruno da Silveira Colombo

**O SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DOS VALORES SÉRICOS  
DO FATOR DE CRESCIMENTO DO TIPO INSULINA 1 EM  
PACIENTES ADMITIDOS POR DESCOMPENSAÇÃO  
AGUDA DA CIRROSE**

Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, como requisito  
para a obtenção do título de Mestre  
Profissional em Cuidados Intensivos e  
Paliativos

Florianópolis  
2014



Bruno da Silveira Colombo

**O SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DOS VALORES SÉRICOS  
DO FATOR DE CRESCIMENTO DO TIPO INSULINA 1 EM  
PACIENTES ADMITIDOS POR DESCOMPENSAÇÃO  
AGUDA DA CIRROSE**

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Mestre Profissional em Cuidados Intensivos e Paliativos

Coordenadora do Mestrado Profissional: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rachel Duarte Moritz  
Professor Orientador: Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon

Florianópolis  
2014

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

Colombo, Bruno da Silveira

O significado prognóstico dos valores séricos do fator de crescimento do tipo insulina 1 em pacientes admitidos por descompensação aguda da cirrose / Bruno da Silveira Colombo ; orientador, Leonardo de Lucca Schiavon - Florianópolis, SC, 2014.

82 p.

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

Inclui referências

1. Ciências Médicas. 2. Cirrose Hepática. 3. Prognóstico. 4. IGF 1. I. Schiavon, Leonardo de Lucca. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADOS INTENSIVOS E PALIATIVOS -  
MESTRADO PROFISSIONAL

“O SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DOS VALORES SÉRICOS DO FATOR DE  
CRESCIMENTO DO TIPO INSULINA 1 EM PACIENTES ADMITIDOS POR  
DESCOMPENSAÇÃO AGUDA DA CIRROSE”.

Bruno da Silveira Colombo

ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO  
DE: MESTRE PROFISSIONAL EM CUIDADOS INTENSIVOS E PALIATIVOS

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Cuidados Intensivos e Paliativos

Profa. Dra. Rachel Duarte Moritz

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Cuidados Intensivos e Paliativos

Banca Examinadora:

  
Prof. Dr. Leonardo de Lucca Schiavon (Presidente)  
Profa. Dra. Janaína Luz Narciso-Schiavon (Membro)  
Prof. Dr. Alexandre Hohl (Membro)  
Prof. Dra. Simone van de Sande Lee

Florianópolis, 18 de Dezembro de 2014





SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
 CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADOS INTENSIVOS E PALIATIVOS  
 MESTRADO PROFISSIONAL  
 Fone (48) 3721-4164

ATA N.º 6/2014 DA SESSÃO DO EXAME DE SUSTENTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADOS INTENSIVOS E PALIATIVOS (MESTRADO PROFISSIONAL) DA UFSC – Área de Concentração: Cuidados Intensivos e Paliativos, Linha de Pesquisa: Cuidados Intensivos, presidida e registrada pelo(a) Orientador(a) **Dr. Leonardo de Lucca Schiavon**, do(a) aluno(a) **BRUNO DA SILVEIRA COLOMBO**, realizada no dia 18 de dezembro de 2014, às 8 horas, na Sala de Aula da Pós-graduação do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. A Dissertação tem como título:

A SIGNIFICADO PROGNÓSTICO DOS VALORES SÉRICOS DO FATOR DE CRESCIMENTO DO TIPO INSULINA 1 EM PACIENTES ADMITIDOS POR DECOMPENSAÇÃO AGUDA DA CIRROSE

A Banca Examinadora, constituída pela Portaria 7/MPCIP/2014 da Coordenadora do MPCIP/UFSC, avaliou a Dissertação e  **Aprova** – 30 dias para a entrega da versão final /

**Aprova com alterações** – Máximo 60 dias para a entrega da versão final com alterações solicitadas ao orientador (se necessário também atestada pela banca) + 30 dias para entrega das cópias finais – Total: 90 dias

Destacando/sugerindo:.....

.....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....

**NOME e ASSINATURA da Banca Examinadora:**

Dr. Leonardo de Lucca Schiavon [Assinatura] (Presidente)  
 Dra. Janaina Luz Narciso Schiavon [Assinatura] (Membro)  
 Dr. Alexandre Hohl [Assinatura] (Membro Externo)  
 Dra. Simone Van de Sande Lee [Assinatura] (Membro Externo)

Florianópolis, 18 dezembro de 2014.

De acordo do (a) Mestrando (a):.....





## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr Leonardo de Lucca Schiavon, agradeço pelos ensinamentos, pela dedicação, pela presença, pela confiança e por todo o incentivo fornecido durante toda a execução desse projeto.

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Gastroenterologia e Hepatologia da UFSC (NEGH), pelo apoio e pelo trabalho em conjunto realizado durante esse um ano e meio. Aos professores do Mestrado Profissional pelo aprendizado dividido e pelo auxílio prestado nessa etapa. Aos colegas e preceptores do Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário (HU-UFSC), pela dedicação ao ensino durante os dois anos da minha formação em Endocrinologia e Metabologia. O apoio e a amizade foram fundamentais.

Ao Laboratório de Análises, Biologia Molecular e Microbactérias, do HU – UFSC, liderado pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Luiza Bazzo, pela dedicação no armazenamento e interpretação das amostras coletadas durante todo o projeto. Aos pacientes e aos seus familiares que consentiram em participar da pesquisa. Aos colegas e amigos, Marcelo Fernando Ronsoni, Mariana Costa Silva e Carina Gabriela Correa, pelo companheirismo, pelo apoio e incentivo durante toda a minha formação.

À minha família, em especial a meu pai, a minha mãe e a meu irmão, que sempre estiveram ao meu lado durante toda a minha caminhada profissional e me incentivaram a sempre seguir em busca dos meus objetivos. Obrigado por todo o incentivo e a presença constante, mesmo com a distância desses últimos dois anos de minha formação.



## RESUMO

**Introdução:** Níveis reduzidos do fator de crescimento do tipo insulina 1 (IGF-1) tem sido relatados em pacientes com cirrose hepática e parecem se associar com a intensidade da disfunção hepática. No entanto, ainda faltam dados sobre o significado prognóstico dessas alterações. **Objetivo:** Investigar a relação entre os valores séricos de IGF-1 e o prognóstico em curto prazo em pacientes admitidos por descompensação aguda de cirrose. **Métodos:** Estudo de coorte prospectivo onde os pacientes foram acompanhados durante a internação e a mortalidade em 90 dias foi avaliada por contato telefônico em caso de alta hospitalar. Todos os pacientes realizaram exames laboratoriais na admissão e os níveis de IGF-1 foram avaliados por ELISA. Vinte e um pacientes foram também avaliados no seguimento ambulatorial após a alta hospitalar e comparados em dois momentos (hospitalização e avaliação ambulatorial). **Resultados:** Entre Dezembro de 2011 e Novembro de 2013, 103 pacientes foram incluídos, com média de idade de  $54,2 \pm 11,3$  anos, com uma predominância do sexo masculino (69,9%). IGF-1 se correlacionou positivamente com a albumina e negativamente com relação normalizada internacional (RNI), proteína C reativa (PCR), bilirrubina total e a valores de MELD (*Model for End-Stage Liver Disease*). A mortalidade em 90 dias foi de 26,2 % e, na análise multivariada, foi associada de forma independente a maiores valores médios de MELD, a presença de ascite e a níveis reduzidos de IGF-1. A estimativa da probabilidade de sobrevida de Kaplan-Meier no nonagésimo dia foi de 94,3% em pacientes com  $IGF-1 \geq 13$  ng/mL e 63,2% para os indivíduos com  $IGF-1 < 13$  ng/mL ( $P = 0,001$ ). No seguimento ambulatorial pós-alta hospitalar, níveis significativamente mais elevados de IGF-1 foram encontrados quando comparados com o momento da descompensação aguda. **Conclusão:** Os níveis séricos de IGF-1 diminuem durante a descompensação aguda da cirrose e são independentemente associados com a mortalidade em curto prazo. Estes resultados sugerem que esse biomarcador pode ser utilizado como uma ferramenta prognóstica em pacientes com cirrose admitidos por complicações agudas da doença.

**Palavras-chave:** cirrose hepática; prognóstico; IGF-I



## ABSTRACT

**Background & Aims:** Decreased IGF-1 serum levels have been reported in patients with cirrhosis and seem to correlate with the intensity of hepatic dysfunction. However, data about the prognostic significance of decreased IGF-1 serum levels are still lacking. We investigated the relationship between serum IGF-1 levels and short-term prognosis in patients admitted for acute decompensation of cirrhosis. **Methods:** Patients were followed during their hospital stay and 90-day mortality was evaluated. All subjects underwent a laboratory evaluation at admission and IGF-1 was measured by ELISA. Twenty-one patients were also evaluated in the outpatient clinic after discharge and were compared at two time points. **Results:** Between December 2011 and November 2013, 103 patients were included, with a mean age of  $54.2 \pm 11.3$  years. IGF-1 was positively correlated with albumin and negatively correlated with international normalized ratio (INR), C-reactive protein (CRP), total bilirubin and the Model for End-Stage Liver Disease (MELD). Ninety-day mortality was 26.2% and it was independently associated with MELD, ascites and IGF-1 levels in multivariate analysis. The Kaplan-Meier survival probability at 90 days was 94.3% in patients with  $\text{IGF-1} \geq 13$  ng/mL and 63.2% for patients with  $\text{IGF-1} < 13$  ng/mL ( $P = 0.001$ ). In the outpatient evaluation, significantly higher levels of IGF-1 were found compared with acute decompensation. **Conclusions:** IGF-1 levels decrease during acute decompensation of cirrhosis and were independently associated with short-term mortality. These findings suggest that this biomarker can be used as a prognostic tool in patients with cirrhosis admitted for acute complications of the disease.

**Key words:** liver cirrhosis; prognostic; insulin-like growth factor 1



## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

### **TABELA 1 -**

Características da Casuística \_\_\_\_\_31

### **TABELA 2 -**

Fatores associados com a mortalidade em 90 dias nos pacientes hospitalizados por descompensação aguda da cirrose \_\_\_\_\_34

### **TABELA 3 -**

Análise de regressão logística múltipla dos fatores associados com a mortalidade em 90 dias \_\_\_\_\_35

### **FIGURA 1 -**

Taxa cumulativa de sobrevida em 90 dias de pacientes cirróticos de acordo com as categorias de IGF-1 \_\_\_\_\_36

### **FIGURA 2 -**

*Box plot* de IGF-1 de acordo com o momento de avaliação (hospitalar ou ambulatorial). Os níveis de IGF-1 foram significativamente mais elevados na avaliação ambulatorial ( $P < 0,001$ ) \_\_\_\_\_37





## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ACLF</b>	Acute-on-Chronic Liver Failure
<b>DA</b>	Descompensação Aguda
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>EASL-CLIF</b>	<i>European Association for the Study of the Liver – Chronic Liver Failure</i>
<b>GH</b>	Hormônio de Crescimento
<b>HBV</b>	Vírus da Hepatite B
<b>HCV</b>	Vírus da Hepatite C
<b>HDA</b>	Hemorragia Digestiva Alta
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>IC</b>	Intervalo de Confiança
<b>IGF</b>	Fator de Crescimento do tipo Insulina
<b>IGF-1</b>	Fator de Crescimento do tipo Insulina 1
<b>IGFBP</b>	Proteína de Ligação do Fator de Crescimento do Tipo Insulina
<b>IGFBP-3</b>	Proteína-3 de Ligação do Fator de Crescimento do Tipo Insulina
<b>MELD</b>	<i>Model for End-Stage Liver Disease</i>
<b>OR</b>	Odds Ratio
<b>PBE</b>	Peritonite Bacteriana Espontânea
<b>PCR</b>	Proteína C Reativa
<b>RNI</b>	Relação Normalizada Internacional
<b>SPSS</b>	<i>Statistical Package for the Social</i>
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TTPA</b>	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado



## SUMÁRIO

<b>1. ARTIGO CIENTÍFICO</b>	<b>21</b>
<b>1.1 PÁGINA DE TÍTULO</b>	<b>23</b>
<b>1.2 INTRODUÇÃO</b>	<b>25</b>
<b>1.3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>27</b>
<b>1.4 RESULTADOS</b>	<b>31</b>
<b>1.5 DISCUSSÃO</b>	<b>39</b>
<b>1.6 REFERÊNCIAS</b>	<b>43</b>
<b>2. ANEXO A</b>	
<b>Parecer Consubstanciado Comitê de Ética em Pesquisa</b>	<b>47</b>
<b>3. ANEXO B</b>	
<b>Normas para Publicação na Revista Liver International</b>	<b>49</b>
<b>4. APÊNDICE A</b>	
<b>Instrumento de Coleta de Dados</b>	<b>60</b>
<b>5. APÊNDICE B</b>	
<b>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b>	<b>62</b>
<b>6. APÊNDICE C</b>	
<b>Artigo em Inglês</b>	<b>64</b>



## **ARTIGO CIENTÍFICO**

**TÍTULO: O Significado Prognóstico dos Valores Séricos do Fator de Crescimento do Tipo Insulina 1 em Pacientes Admitidos por Descompensação Aguda da Cirrose**

**Artigo submetido à revista LIVER INTERNATIONAL (Official Journal Of The International Association For The Study Of The Liver)**



## **Página de Título**

### **Título:**

O significado prognóstico dos valores séricos do fator de crescimento do tipo insulina 1 em pacientes admitidos por descompensação aguda da cirrose.

### **Autores:**

Bruno da Silveira Colombo<sup>1</sup>, Marcelo Fernando Ronsoni<sup>1</sup>, Pedro Eduardo Soares e Silva<sup>1</sup>, Leonardo Fayad<sup>1</sup>, Letícia Muraro Wildner<sup>2</sup>, Maria Luiza Bazzo<sup>2</sup>, Esther Buzaglo Dantas-Correa<sup>1</sup>, Janaína Luz Narciso-Schiavon<sup>1</sup>, Leonardo de Lucca Schiavon<sup>1</sup>

### **Afilições:**

<sup>1</sup>Serviço de Gastroenterologia, Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina

### **Auxílio Financeiro:**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)





## INTRODUÇÃO

A cirrose hepática é caracterizada patologicamente pelo desenvolvimento de nódulos regenerativos circundados por faixas fibrosas em resposta à lesão hepática crônica, que levam à hipertensão portal e doença hepática terminal [1]. O curso da cirrose é tipicamente variável, dependendo de vários fatores, incluindo a etiologia da cirrose e a reserva funcional hepática [2]. No geral, a evolução natural da cirrose é caracterizada por uma longa fase assintomática, também conhecida como fase compensada, seguida por uma fase rapidamente progressiva caracterizada por complicações específicas [2]. Esta transição de cirrose compensada para descompensada ocorre em uma taxa de 5-7% ao ano e está associada à diminuição acentuada da expectativa de vida [3, 4].

Mudanças no eixo somatotrófico, observadas como resultado da doença hepática, tem sido relatadas em pacientes cirróticos e podem ser responsáveis, pelo menos em parte, por vários distúrbios metabólicos caracteristicamente observados no curso da doença hepática, entre eles, a desnutrição, resistência insulínica, osteopenia, e hipogonadismo [5-7]. O GH é um hormônio peptídico liberado na hipófise anterior que estimula o crescimento, a reprodução celular e a regeneração. Além disso, exerce efeitos metabólicos sobre o osso, a cartilagem, a gordura, o músculo, o coração, o sistema imunológico e outros [8, 9]. No fígado, o GH estimula receptores específicos, induzi a transcrição do gene do fator de crescimento do tipo insulina 1 (IGF-1) e, conseqüentemente, a síntese e liberação do IGF-1 para o sangue [10].

Embora vários tecidos secretem IGF-1, no período pós-natal, o fígado é a principal fonte de IGF-1 circulante [10]. O IGF-1 exerce efeitos anabólicos sobre o metabolismo de aminoácidos e carboidratos, aumenta a massa muscular, melhora o conteúdo mineral ósseo e a função da barreira intestinal [10]. A maioria do IGF-1 circulante está ligado às proteínas do IGF tipo 3 (IGFBP-3), que, por conseguinte, reduz a biodisponibilidade do IGF-1 e limita o seu acesso ao receptor de IGF-1. As IGFBP's regulam fortemente a atividade biológica do IGF-1 e a atividade é ajustada adicionalmente por meio dos níveis individuais dos subtipos de IGFBP por proteases e moduladores de afinidade [11, 12].

Alterações no eixo GH/IGF/IGFBP já foram previamente bem documentadas na cirrose, e os peptídeos envolvidos tem sido propostos como marcadores de disfunção hepatocelular, desnutrição e prognóstico [8, 9]. Menores níveis de IGF-1 foram relatados em pacientes com cirrose quando comparados com controles saudáveis, o que reflete a diminuição da função de síntese hepática [9, 13]. Além disso, o IGF-1 circulante parece se correlacionar com o grau de disfunção hepática, já que diminuições dos níveis foram relatadas em fases mais avançadas da cirrose [9, 13, 14]. Apesar destes resultados indicarem que os valores de IGF-1 podem ser de relevância clínica em pacientes cirróticos, existem poucos dados sobre o significado prognóstico desse biomarcador neste contexto. Desta forma, os objetivos do presente estudo foram investigar a relação entre os valores séricos de IGF-1 e o prognóstico em curto prazo em pacientes hospitalizados por descompensação aguda da cirrose e compará-los aos níveis séricos no ambulatório.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Pacientes**

Entre dezembro de 2011 e novembro de 2013 foi realizado um estudo de coorte prospectivo que incluiu, consecutivamente, indivíduos admitidos em um hospital terciário brasileiro devido a descompensação aguda (DA) de cirrose hepática. Os pacientes nas seguintes situações foram excluídos: internação para procedimentos eletivos, admissões não relacionadas a complicações da cirrose hepática, carcinoma hepatocelular fora dos critérios de Milão (uma lesão < 5 cm, até três lesões < 3 cm, sem invasão vascular e sem envolvimento extra-hepático) [15] e diagnóstico duvidoso de cirrose hepática. Todos os pacientes foram inicialmente admitidos na emergência do hospital. A decisão de transferir o paciente para a enfermaria ou unidade de terapia intensiva foi feita a critério do médico assistente de acordo com a gravidade da DA.

O diagnóstico de cirrose foi estabelecido histologicamente (quando disponível) ou pela combinação de dados clínicos, de imagem e achados laboratoriais em pacientes com evidências de hipertensão portal. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (ANEXO A).

### **Métodos**

DA foi definida como o desenvolvimento de encefalopatia hepática, ascite volumosa (definida como ascite presente ao exame físico da admissão), hemorragia gastrointestinal, infecção bacteriana ou qualquer combinação destes. Todos os pacientes hospitalizados por DA foram avaliados dentro das primeiras 24 horas da admissão por um dos pesquisadores envolvidos no estudo, e as seguintes variáveis clínicas foram coletadas: idade, sexo, raça, etiologia da cirrose, história de descompensação anterior, complicações atuais da cirrose, alcoolismo ativo e uso regular de propranolol. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação laboratorial na admissão, e os seguintes testes foram realizados para este estudo: leucócitos totais, contagem de plaquetas, sódio sérico, creatinina, relação normalizada internacional (RNI), albumina, proteína C reativa (PCR), bilirrubina total e IGF-1.

Alcoolismo ativo foi definido como um consumo médio

global de 21 ou mais doses por semana para homens e 14 ou mais doses por semana para as mulheres, durante as quatro semanas anteriores à admissão (uma dose padrão equivale a 12 g de álcool absoluto) [16].

Indivíduos com suspeita de infecção bacteriana na admissão hospitalar foram submetidos a exame clínico para confirmar esse diagnóstico e estabelecer a principal fonte primária da infecção. O diagnóstico da infecção foi realizado de acordo com os critérios do Centro de Controle de Doenças [17]. Paracentese diagnóstica foi realizada em todos os pacientes com ascite no momento da internação. Peritonite bacteriana espontânea (PBE) foi diagnosticada quando a contagem de neutrófilos do líquido ascítico foi  $\geq 250$  neutrófilos/mm<sup>3</sup> na ausência de fonte intra-abdominal de infecção, independentemente de cultura negativa [18].

Todos os pacientes com PBE receberam ceftriaxone e albumina endovenosa ajustada ao peso, no primeiro e terceiro dia após o diagnóstico. Encefalopatia hepática foi graduada conforme os critérios de West-Haven [19] e, caso presente, um fator precipitante era investigado. Lactulose era iniciada com doses ajustadas conforme a necessidade. Todos os pacientes com sangramento varicoso agudo receberam octreotida endovenosa, um antibiótico (norfloxacino via oral ou ceftriaxone endovenoso) e foram submetidos à terapêutica endoscópica de urgência após estabilização. A gravidade da doença hepática foi estimada pela classificação de Child-Pugh [20] e pelo *Model for End-Stage Liver Disease* (MELD) [21], calculados com base em testes de laboratório realizados na admissão. *Acute-on-chronic liver failure* (ACLF) foi definido como proposto pelo Consórcio EASL – CLIF [22].

Os pacientes foram acompanhados durante a internação e a mortalidade em trinta e noventa dias foi avaliada por telefonema em caso de alta hospitalar. As taxas de mortalidade em 90 dias não incluíram pacientes que realizaram transplante hepático (pacientes que receberam transplante hepático foram excluídos do acompanhamento).

### **Níveis Séricos de IGF-1**

Os níveis de IGF-1 foram avaliados em amostras de soro colhidas dentro das primeiras 24 horas após a admissão e armazenadas a -80 °C até à sua utilização. Os níveis de IGF-1 foram mensurados por ensaio imunoenzimático (ELISA Quantikine® - IGF-1 Human, R&D Systems, Minneapolis, EUA). A sensibilidade analítica relatada deste ensaio é de

0,026 ng/mL.

### **Análise estatística**

As variáveis contínuas foram descritas como média e desvio padrão e as categóricas em números absolutos e proporções. Aplicou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliação da distribuição das variáveis quanto à normalidade. A correlação entre as variáveis numéricas foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman. As variáveis contínuas foram comparadas pelo teste *t* de Student, no caso de distribuição normal ou teste de Mann-Whitney, nos demais casos. As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme apropriado. A análise de regressão logística múltipla (*forward stepwise*) foi utilizada para investigar os fatores associados de forma independente à mortalidade em 90 dias. Com base na curva ROC, o melhor ponto de corte do IGF-1 para prever a mortalidade em 90 dias foi escolhido. A curva de sobrevida foi calculada usando o método de Kaplan-Meier e diferenças entre os grupos foram comparadas pelo teste de log-rank. Teste *t* pareado ou teste de Wilcoxon foram usados para comparar as variáveis em dois momentos (internação e avaliação ambulatorial). Todos os testes foram realizados pelo software SPSS, versão 17.0 (SPSS , Chicago, IL , EUA). Um valor de P inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.



### 3. RESULTADOS

#### Características da Amostra

Cento e três pacientes foram incluídos entre dezembro de 2011 e novembro de 2013. A Tabela 1 apresenta as características dos pacientes incluídos.

A idade média foi de  $54,18 \pm 11,26$  anos, 62,7% eram caucasianos e uma predominância do sexo masculino foi observada (69,9%). História prévia de descompensação por cirrose foi identificada em 61,2% da amostra e 34,0% dos indivíduos relataram alcoolismo ativo durante o mês anterior. A etiologia mais comum de cirrose foi o vírus da hepatite C (40,8%) seguida pelo abuso de álcool (17,5%), criptogênica (8,7%) e o vírus da hepatite B (3,9%). O uso de propranolol foi relatado por 41,7% dos pacientes. Na admissão, hemorragia digestiva alta foi observada em 51,5% dos casos, ascite em 44,7%, encefalopatia hepática em 55,3% e infecção bacteriana em 20,4%. Quando avaliados de acordo com a classificação de Child-Pugh, 14,6% foram classificados como estágio A, 48,5% estágio B e 36,9% estágio C. Na admissão, 19 pacientes (18,4%) preenchiam os critérios para ACLF. ACLF foi classificada como grau 1 em 15 pacientes (14,6%), grau 2 em 3 (2,9%) e grau 3 em 1 indivíduo (1%).

**Tabela 1.** Características da Casuística

	Total (n = 103)
Idade; anos, média $\pm$ DP	54,18 $\pm$ 11,26
Sexo Masculino, n (%)	72 (69,9)
Etnia (caucasianos), n (%)	65 (62,7)
Etiologia da Cirrose, n (%)	
Álcool	18 (17,5)
Hepatite C	42 (40,8)
Hepatite B	4 (3,9)
Criptogênica	9 (8,7)
Outras	30 (29,1)
Descompensação Prévia, n (%)	63 (61,2)
Alcoolismo Ativo, n (%)	35 (34,0)

Propranolol*, n (%)	43 (41,7)
Complicações na Admissão, n (%)	
Ascite	46 (44,7)
Encefalopatia Hepática	58 (55,3)
Sangramento Gastrointestinal	53 (51,5)
Infecção Bacteriana	21 (20,4)
Dados Laboratoriais	
Contagem Leucócitos ( $\times 10^9$ ), mediana	6,97
Contagem Plaquetas ( $\times 10^9$ ), mediana	84,00
Sódio (meq/L), mediana	137,00
Creatinina (mg/dL), mediana	1,10
RNI, mediana	1,37
Albumina (g/dL), média $\pm$ DP	2,41 $\pm$ 0,66
PCR (mg/L), mediana	9,32
Bilirrubina Total (mg/dL), mediana	2,10
IGF-1 (ng/mL), mediana	9,00
Classificação Child-Pugh, n (%)	
A	15 (14,6)
B	50 (48,5)
C	38 (36,9)
ACLF na admissão, n (%)	19 (18,4)
MELD score, média $\pm$ DP	15,7 $\pm$ 6,14

DP = Desvio Padrão; RNI = Relação Normalizada Internacional; PCR = Proteína C reativa; IGF-1 = Fator de Crescimento do Tipo Insulina 1; ACFL = *Acute-on-chronic liver failure*; MELD = *Model for End-stage Liver Disease*

\* Pré-internação

## Relação entre os níveis de IGF-1 e as variáveis estudadas

Os níveis médios de IGF-1 foram  $11,99 \pm 13,56$  ng/mL (mediana de 9,00 ng/mL). Quando avaliada a correlação entre os níveis de IGF-1 no momento da admissão e as outras variáveis numéricas, observou-se uma correlação positiva entre os níveis desse marcador e a albumina ( $r = 0,298$ ;  $P = 0,003$ ). Observou-se também uma correlação negativa entre os níveis de IGF-1 e RNI ( $r = -0,202$ ;  $P = 0,042$ ), bilirrubina total ( $r = -0,195$ ;  $P = 0,049$ ), MELD ( $r = -0,272$ ;  $P = 0,005$ ) e Child-Pugh ( $r = -0,269$ ;  $P = 0,006$ ). Não foram observadas correlações significativas entre



os níveis de IGF-1 e idade, contagem de leucócitos, contagem de plaquetas, PCR, sódio ou creatinina.

Quando os níveis de IGF-1 foram avaliados de acordo com as complicações específicas da cirrose observadas no momento da admissão, não foram encontradas associações com a presença de ascite, encefalopatia hepática e infecção bacteriana ( $P > 0,05$ ). Aqueles indivíduos com hemorragia digestiva alta na admissão apresentaram menores níveis de IGF-1 em comparação com os demais pacientes (6,30 ng/mL vs. 11,60 ng/mL,  $P = 0,038$ ). Pacientes Child-Pugh C também apresentaram menores níveis de IGF-1 do que os com Child-Pugh A/B (5,80 ng/mL vs. 11,60 ng/mL,  $P < 0,001$ ). Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de IGF-1 entre aqueles com ou sem ACLF na admissão (7,10 ng/mL vs. 10,80 ng/mL,  $P = 0,222$ ).

### **Significado Prognóstico do IGF-1 em Pacientes Cirróticos Hospitalizados**

A mortalidade global em 90 dias foi de 26,2% e associou-se na análise bivariada (tabela 2) com idade mais avançada ( $58,74 \pm 11,44$  anos vs.  $52,57 \pm 10,82$  anos;  $P = 0,014$ ), ascite (85,2% vs. 30,3%;  $P < 0,001$ ), encefalopatia hepática (74,1% vs. 50,0%;  $P = 0,030$ ), infecção bacteriana (37,0% vs. 14,5%;  $P = 0,012$ ), Child-Pugh C (77,8% vs. 22,4%;  $P < 0,001$ ), maior pontuação no MELD ( $21,44 \pm 6,31$  vs.  $13,66 \pm 4,63$ ;  $P < 0,001$ ) e ACLF na admissão (51,0% vs. 6,6%;  $P < 0,001$ ). A mortalidade em noventa dias também foi relacionada a maior mediana de creatinina (1,50 mg/dL vs. 1,00 mg/dL;  $P < 0,001$ ), RNI (1,56 vs. 1,35;  $P = 0,003$ ), PCR (23,40 mg/L vs. 7,80 mg/L;  $P = 0,004$ ), bilirrubina total (3,60 mg/dL vs. 1,40 mg/dL;  $P < 0,001$ ) e menor média de albumina ( $1,99 \pm 0,51$  g/dL vs.  $2,56 \pm 0,65$  g/dL;  $P < 0,001$ ), menor mediana de sódio (133,00 mEq/L vs. 137,00 mEq/L;  $P = 0,002$ ), e menores níveis de IGF-1 (5,50 ng/mL vs. 11,60 ng/mL,  $P = 0,003$ ). Análise de regressão logística múltipla (tabela 3), incluindo variáveis com  $P < 0,010$  na análise bivariada mostrou que o escore MELD (OR 1,220; IC 95% 1,097-1,356;  $P < 0,001$ ), ascite no momento da internação (OR 10,706; IC 95% 2,526-45,384;  $P = 0,001$ ) e níveis de IGF-1 (OR 0,907; IC 95% 0,833-0,988;  $P = 0,026$ ), foram independentemente associados à mortalidade em 90 dias. Com base na curva ROC, um melhor ponto de corte do IGF-1 (13 ng/mL) foi

escolhido para prever a mortalidade de 90 dias.

**Tabela 2.** Fatores associados com a mortalidade em 90 dias nos pacientes hospitalizados por descompensação aguda da cirrose

	Sobreviventes: (n = 76)	Óbitos (n = 27)	P
Idade (anos), média ± DP	52,57 ± 10,82	58,74 ± 11,44	0,014
Sexo Masculino, n (%)	53 (69,7)	19 (70,4)	0,951
Etiologia da Cirrose, n (%)			
Álcool	11 (14,5)	7 (25,9)	0,237
Hepatite C	33 (43,4)	9 (33,3)	0,360
Hepatite B	3 (3,9)	1 (3,7)	1,000
Criptogênica	7 (9,2)	2 (7,4)	1,000
Descompensação Prévia, n (%)	46 (60,5)	17 (63,0)	0,82
Alcoolismo Ativo, n (%)	11 (14,5)	7 (25,9)	0,237
Propranolol*, n (%)	36 (47,4)	7 (25,9)	0,052
Complicação na Admissão, n (%)			
Ascite	23 (30,3)	23 (85,2)	< 0,001
Encefalopatia Hepática	38 (50,0)	20 (74,1)	0,030
Sangramento Gastrointestinal	47 (61,8)	6 (22,2)	< 0,001
Infecção Bacteriana	11 (14,5)	10 (37,0)	0,012
Dados laboratoriais			
Contagem Leucócitos (x 10 <sup>9</sup> ), mediana	6,63	7,25	0,680
Contagem Plaquetas (x 10 <sup>9</sup> ), mediana	84,00	94,00	0,406
Sódio (meq/L), mediana	137,00	133,00	0,002
Creatinina (mg/dL), mediana	1,00	1,50	< 0,001
RNI, mediana	1,35	1,56	0,003
Albumina (g/dL), média ± DP	2,56 ± 0,65	1,99 ± 0,51	< 0,001
PCR (mg/L), mediana	7,80	23,40	0,004
Bilirrubina Total (mg/dL), mediana	1,40	3,60	< 0,001

IGF-1 (ng/mL), mediana	11,60	5,50	0,003
Child-Pugh C, n (%)	17 (22,4)	21 (77,8)	< 0,001
MELD score, média ± DP	13,66 ± 4,63	21,44 ± 6,31	< 0,001
ACLF, n (%)	5 (6,6)	14 (51,0)	< 0,001

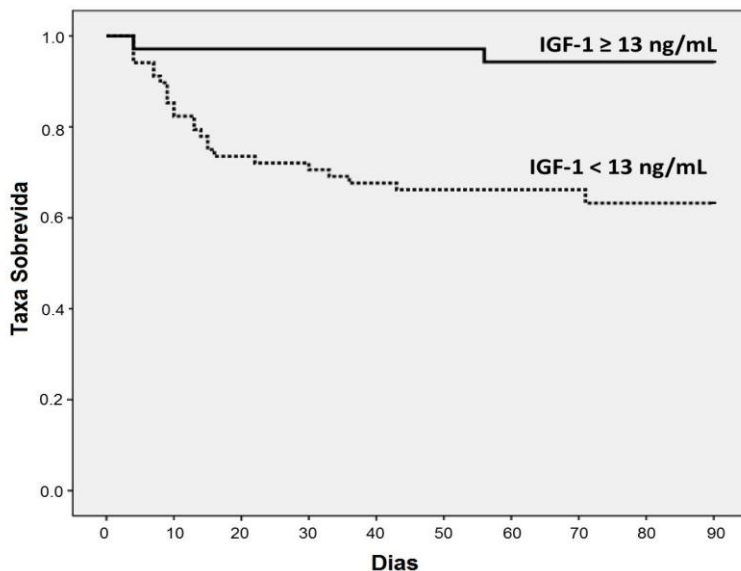
DP = Desvio Padrão; Relação Normalizada Internacional; PCR = Proteína C reativa; IGF-1 = Fator de Crescimento do Tipo Insulina 1; MELD = *Model for End-stage Liver Disease*; ACLF = *Acute-on-chronic liver failure*  
\* Pré-internação

**Tabela 3.** Análise de regressão logística dos fatores associados com A mortalidade em 90 dias (variáveis com  $p < 0,01$  na análise bivariada foram incluídas)

Fatores	Odds Ratio	IC 95%	P
MELD Score	1,220	1,097 – 1,356	< 0,001
Ascite	10,706	2,526 – 45,384	0,001
Níveis IFG-1	0,907	0,833 – 0,988	0,026

IGF-1 = Fator de Crescimento do Tipo Insulina 1; MELD = *Model for End-stage Liver Disease*; IC = Intervalo de Confiança

A Figura 1 mostra as curvas de Kaplan-Meier para a mortalidade durante o período de acompanhamento de acordo com as categorias de IGF-1. A probabilidade de sobrevida de Kaplan-Meier em 90 dias foi de 94,3% em pacientes com IGF-1  $\geq 13$  ng/mL e 63,2% para aqueles com IGF-1  $< 13$  ng/mL ( $P = 0,001$ ). Para prever mortalidade em 90 dias, o IGF-1 em um ponto de corte de 13 ng/mL mostrou sensibilidade de 93% e especificidade de 43%, com valor preditivo negativo de 94%, mas um valor preditivo positivo de apenas 37%. A razão de verossimilhança positiva foi de 1,637 e a razão de verossimilhança negativa foi de 0,171.

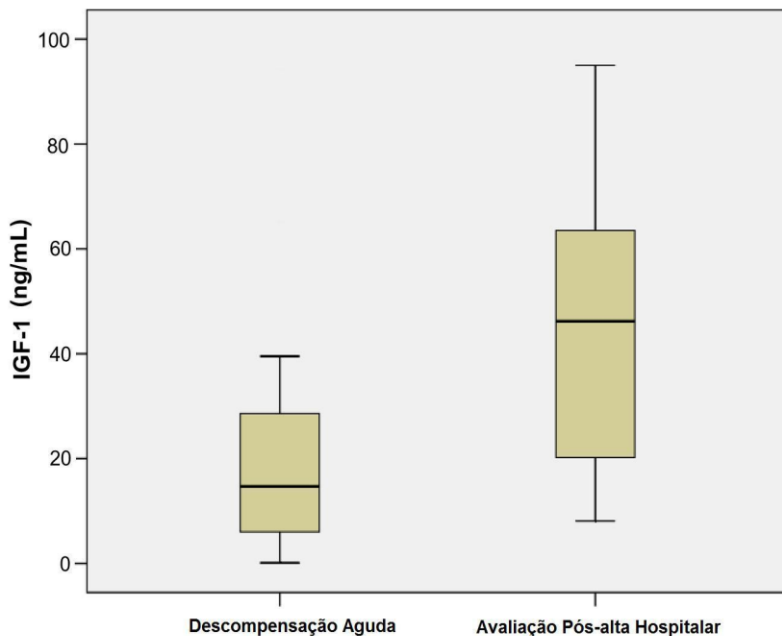


**Fig. 1.** Taxa cumulativa de sobrevivência em 90 dias de pacientes cirróticos de acordo com as categorias de IGF-1. A sobrevivência foi significativamente menor nos pacientes com IGF-1 < 13 ng/mL, em comparação com aqueles com valores  $\geq 13$  ng/mL ( $P = 0,001$ , teste de *long-rank*).

### Níveis de IGF-1 Após a Alta Hospitalar

Um subgrupo de vinte e um pacientes que haviam sido estudados durante a internação hospitalar foram submetidos à avaliação laboratorial em uma mediana de seguimento de 105 dias após a alta, e foram comparados em dois momentos para investigar o impacto da descompensação aguda sobre os níveis de IGF-1. Na avaliação ambulatorial, nove pacientes foram classificados como Child-Pugh A e 12 como Child-Pugh B, com uma mediana de MELD de 10,19. Quando comparados à avaliação durante a hospitalização, valores significativamente mais elevados de níveis de IGF-1 foram observados no momento da avaliação ambulatorial ( $21,9 \pm 23,3$  ng/mL vs.  $49,3 \pm 33,3$  ng/mL;  $P < 0,001$ ) (Figura 2). Um incremento dos níveis de IGF-1 na avaliação ambulatorial foi observado em 17 dos 21 pacientes incluídos nesta análise (81%). Como esperado, a avaliação ambulatorial

também foi associada com menores valores de MELD ( $10,59 \pm 2,26$  vs.  $13,58 \pm 2,99$ ;  $P < 0,001$ ), RNI ( $1,27 \pm 0,14$  vs.  $1,44 \pm 0,19$ ;  $P < 0,001$ ), bilirrubina total ( $1,28 \pm 0,74$  mg/dL vs.  $1,75 \pm 1,29$  mg/dL;  $P = 0,058$ ), mediana de PCR ( $3,50$  mg/L vs.  $6,31$  mg/L;  $P = 0,016$ ) e maior valores de albumina ( $3,27 \pm 0,49$  g/dL vs.  $2,62 \pm 0,56$  g/dL;  $P < 0,001$ ).



**Fig. 2.** Box plot de IGF-1 de acordo com o momento de avaliação (hospitalar ou ambulatorial). Os níveis de IGF-1 foram significativamente mais elevados na avaliação ambulatorial ( $P < 0,001$ ).



## 4. DISCUSSÃO

Complicações agudas da cirrose são causas comuns de internação hospitalar e estão associadas com significativa morbidade e mortalidade. Apesar dos grandes avanços alcançados ao longo dos últimos anos, ainda existe uma necessidade de se identificar novos marcadores prognósticos em pacientes com descompensação aguda da cirrose. Previamente, demonstrou-se que os níveis de IGF-1 na cirrose estão relacionados com a gravidade da disfunção hepática e que sofrem pouca influência de outros fatores não relacionados com a capacidade de síntese hepática, o que representa, assim, uma ferramenta promissora como um marcador de prognóstico na cirrose [9, 13, 14].

No presente estudo, os níveis de IGF-1 correlacionaram-se com outras variáveis, direta ou indiretamente associadas à intensidade da disfunção hepática, tais como albumina, RNI, bilirrubina e MELD. Além disso, os pacientes Child-Pugh C apresentaram menores níveis de IGF-1 do que os Child-Pugh A/B. Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores que demonstraram uma associação entre níveis mais baixos de IGF-1 e a gravidade da doença hepática [9, 13, 14, 23, 24]. Em um estudo recente, que também incluiu pacientes internados por descompensação aguda da cirrose, encontramos menores níveis de IGF-1 em pacientes Child-Pugh B/C e uma correlação do IGF-1 com diversas variáveis relacionadas à gravidade da cirrose, sem interferência de outros parâmetros como sexo, etiologia da cirrose e comorbidades [14]. Além disso, dados anteriores indicam que os níveis baixos de IGF-1, observados em pacientes com cirrose avançada, são prontamente corrigidos após um transplante hepático bem sucedido. Estes dados apoiam a investigação do IGF-1 como um biomarcador potencial para a avaliação da função hepática [25, 27].

Neste estudo, a mortalidade em 90 dias foi de 26,2% e associou-se na análise de regressão logística com maior pontuação MELD, com a presença de ascite e com níveis mais baixos de IGF-1. Se por um lado, o escore MELD e a presença de ascite são fatores prognósticos clássicos na cirrose [28, 29]; por outro lado, existem ainda poucos dados sobre o significado dos níveis de IGF-1 em pacientes com doenças hepáticas crônicas. Um pequeno estudo que envolveu 36 pacientes com cirrose alcoólica relatou taxas de sobrevida significativamente menores entre os pacientes com IGF-1 inferior a 3 nmol/L (equivalente a 22,9 ng/mL) [30]. Um estudo posterior do mesmo grupo avaliou os níveis de IGF-1

em 354 pacientes com doença hepática induzida pelo álcool a partir de um grande estudo multicêntrico sobre o efeito do malotilato na sobrevida [31]. O período médio de acompanhamento foi de 569 dias e os baixos níveis de IGF-1 foram associados com pior prognóstico, especialmente em um ponto de corte de 56 ng/mL [31]. É importante notar que este estudo incluiu pacientes com e sem cirrose e nenhuma análise detalhada daqueles com apenas cirrose foi fornecida [31]. No entanto, os autores observaram uma relação significativa entre os níveis de IGF-1 e a intensidade da disfunção hepática e também indicaram o potencial dos seus níveis como um marcador de prognóstico em doenças hepáticas.

A probabilidade de sobrevida de Kaplan-Meier em 90 dias foi de 94,3% em pacientes com IGF-1  $\geq$  13 ng/mL e 63,2% para aqueles com IGF-1  $<$  13 ng/mL. Embora o ponto de corte proposto tenha mostrado boa sensibilidade (93%) e valor preditivo negativo (94%), resultados menos expressivos foram observados em relação a especificidade e o valor preditivo positivo. Isso indica que o IGF-1 pode ser um bom biomarcador para identificar os pacientes cirróticos com baixo risco de morte, mas provavelmente é menos útil para prever mortalidade. Esta hipótese é reforçada pela expressivamente baixa razão de verossimilhança negativa observada (0,171) em relação à modesta razão de verossimilhança positiva (1,637). O corte de 13 ng/mL sugerido aqui é significativamente mais baixo do que os valores relatados nos outros dois estudos mencionados [30, 31]. De fato, os níveis médios de IGF-1 em pacientes com cirrose são consideravelmente diferentes entre os estudos, variando de 25 ng/mL a 152 ng/mL [9, 13, 14, 23, 24]. Esta discrepância pode ser explicada por diferenças metodológicas usadas na medição do IGF-1 ou pelos distintos contextos clínicos e critérios de inclusão dos estudos. Como no presente estudo foram incluídos apenas os pacientes internados por complicações da cirrose, é possível que os fatores relacionados com o insulto agudo ou, mais importante ainda, uma rápida diminuição da função hepática, possam justificar os baixos níveis de IGF-1 observados.

Quando os indivíduos com descompensação aguda foram avaliados após a alta, foi observado um aumento significativo nos níveis de IGF-1 em 17 dos 21 pacientes. Os níveis médios de IGF-1 neste subgrupo de indivíduos foram de  $21,9 \pm 23,3$  ng/mL durante a internação hospitalar e  $49,3 \pm 33,3$  ng/mL na avaliação ambulatorial. Este incremento no IGF-1 circulante após a estabilização clínica foi acompanhado pela melhoria em vários outros parâmetros relacionados com a gravidade da doença hepática, tais como MELD, RNI, bilirrubina total e albumina. Embora os



dados em relação a mudanças dinâmicas no IGF-1 sejam escassos, o já mencionado pequeno estudo dinamarquês avaliou o IGF-1 logo antes da alta hospitalar em 18 dos 36 pacientes incluídos [30]. Em conformidade com os nossos resultados, os autores relataram um aumento de 23,7 ng/mL para 48,8 ng/mL nos níveis de IGF-1 após a melhora clínica [30]. Estes resultados sugerem que os baixos níveis de IGF-1 na cirrose podem se tornar ainda mais suprimidos durante as complicações agudas, provavelmente refletindo uma piora na função hepática. No entanto, uma vez que o insulto agudo é removido e disfunção hepática melhora, os níveis de IGF-1 tendem a voltar para os seus valores basais. Esta hipótese é corroborada pela rápida recuperação dos níveis de IGF-1 observada após o transplante hepático, como mencionado anteriormente [25, 27].

Algumas limitações do presente estudo merecem ser discutidas. Primeiro, o número relativamente pequeno de pacientes avaliados poderia limitar a capacidade de generalizar estes resultados para outras populações. De fato, existe ainda uma necessidade de validação dos resultados aqui apresentados em coortes maiores antes da incorporação desse biomarcador na prática clínica. No entanto, este estudo pode representar um importante ponto de partida para pesquisas que visam avaliar IGF-1 em diferentes cenários clínicos, como cirróticos ambulatoriais em lista de espera para transplante de fígado e na insuficiência hepática aguda. Em segundo lugar, os pacientes foram admitidos no serviço de emergência de um hospital geral e, apesar do serviço seguir protocolos gerais para complicações da cirrose, estas orientações não foram criadas especificamente para este estudo e variações na abordagem de casos específicos são esperadas. No entanto, este problema é comum a quase todos os estudos que investigam biomarcadores em cenários clínicos, especialmente em pacientes que necessitam de atendimento de urgência. A heterogeneidade dos pacientes incluídos foi antecipada e, provavelmente, reflete as características dos pacientes com cirrose que buscam atendimento médico em situações de emergência.

É possível concluir que, em pacientes admitidos por descompensação aguda da cirrose, níveis circulantes de IGF-1 estão relacionados com a gravidade da doença hepática e foram associados de forma independente ao prognóstico em curto prazo. O IGF-1 circulante aumenta após a estabilização da doença, sugerindo um impacto da piora transitória da função hepática em seus níveis. Estes resultados reforçam o potencial papel do IGF-1 na avaliação da gravidade da disfunção

hepática e indicam que esse marcador pode ser utilizado como uma ferramenta para avaliação do prognóstico de pacientes com cirrose admitidos com as complicações agudas da doença.

## REFERÊNCIAS

1. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* 2008;371:838-851.
2. Durand F, Valla D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008;28:110-122.
3. 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.
4. Asrani SK, Kamath PS. Natural history of cirrhosis. *Curr Gastroenterol Rep* 2013;15:308.
5. Huisman EJ, Trip EJ, Siersema PD, van Hoek B, van Erpecum KJ. Protein energy malnutrition predicts complications in liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011;23:982-989.
6. Berzigotti A, Abraldes JG. Impact of obesity and insulin-resistance on cirrhosis and portal hypertension. *Gastroenterol Hepatol* 2013;36:527-533.
7. Luxon BA. Bone disorders in chronic liver diseases. *Curr Gastroenterol Rep* 2011;13:40-48.
8. Perrini S, Laviola L, Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *J Endocrinol* 2010;205:201-210.
9. Colakoglu O, Taskiran B, Colakoglu G, Kizildag S, Ari Ozcan F, Unsal B. Serum insulin like growth factor-1 (IGF-1) and insulin like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) levels in liver cirrhosis. *Turk J Gastroenterol* 2007;18:245-249.
10. 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.
11. Ferry RJ, Jr., Cerri RW, Cohen P. Insulin-like growth factor binding proteins: new proteins, new functions. *Horm Res* 1999;51:53-67.
12. Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr Rev* 1999;20:761-787.
13. Wu YL, Ye J, Zhang S, Zhong J, Xi RP. Clinical significance of serum IGF-I, IGF-II and IGFBP-3 in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2004;10:2740-2743.
14. Ronsoni MF, Lazzarotto C, Fayad L, Silva MC, Nogueira CL, Bazzo ML, Narciso-Schiavon JL, et al. IGF-I and IGFBP-3 serum levels

in patients hospitalized for complications of liver cirrhosis. *Ann Hepatol* 2013;12:456-463.

15. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334:693.

16. Addolorato G, Leggio L, Ferrulli A, Cardone S, Vonghia L, Mirijello A, Abenavoli L, 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;370:1915-1922.

17. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-140.

18. Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009;49:2087-2107.

19. Bajaj JS. Review article: the modern management of hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:537-547.

20. Angermayr B, Cejna M, Karnel F, Gschwantler M, Koenig F, Pidlich J, Mendel H, et al. Child-Pugh versus MELD score in predicting survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Gut* 2003;52:879-885.

21. 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.

22. Moreau R, Jalan R, Gines P, Pavesi M, Angeli P, Cordoba J, Durand F, et al. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis. *Gastroenterology* 2013;144:1426-1437, 1437 e1421-1429.

23. Donaghy A, Ross R, Gimson A, Hughes SC, Holly J, Williams R. Growth hormone, insulinlike growth factor-1, and insulinlike growth factor binding proteins 1 and 3 in chronic liver disease. *Hepatology* 1995;21:680-688.

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

25. Castro GR, Coelho JC, Parolin MB, Matias JE, de Freitas AC. Insulin-like growth factor I correlates with MELD and returns to normal level after liver transplantation. *Ann Transplant* 2013;18:57-62.

26. Weber MM, Auernhammer CJ, Lee PD, Engelhardt D, Zachoval R. Insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins

in adult patients with severe liver disease before and after orthotopic liver transplantation. *Horm Res* 2002;57:105-112.

27. Bassanello M, De Palo EF, Lancerin F, Vitale A, Gatti R, Montin U, Ciarleglio FA, et al. Growth hormone/insulin-like growth factor 1 axis recovery after liver transplantation: a preliminary prospective study. *Liver Transpl* 2004;10:692-698.

28. Silva PE, Fayad L, Lazzarotto C, Ronsoni MF, Bazzo ML, Colombo BS, Dantas-Correa EB, et al. Single-centre validation of the EASL-CLIF Consortium definition of acute-on-chronic liver failure and CLIF-SOFA for prediction of mortality in cirrhosis. *Liver Int* 2014.

29. Kamath PS, Kim WR. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* 2007;45:797-805.

30. Moller S, Gronbaek M, Main K, Becker U, Skakkebaek NE. Urinary growth hormone (U-GH) excretion and serum insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in patients with alcoholic cirrhosis. *J Hepatol* 1993;17:315-320.

31. Moller S, Becker U, Juul A, Skakkebaek NE, Christensen E. Prognostic value of insulinlike growth factor I and its binding protein in patients with alcohol-induced liver disease. EMALD group. *Hepatology* 1996;23:1073-1078.



## ANEXO A - Parecer Consubstanciado do CEP



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

### CERTIFICADO Nº 1822

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

**APROVADO**

**PROCESSO:** 1822

**FR:** 402205

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

**AUTOR:** Leonardo de Luca Schiavon, Esther Buzaglio Dantas Correa, Janaina Luz Narciso Schiavon, Maria Luiza Bazzo, Marcelo Ronsoni, César Lazzarotto

FLORIANÓPOLIS, 28 de Fevereiro de 2011.

\_\_\_\_\_  
Coordenador do CEPSH/UFSC





## **ANEXO B – Normas para Publicação na Revista Liver International**

### Author Guidelines

Updated 23 October 2014 From 2015 Liver International will be published in an online-only format.

### TYPES OF MANUSCRIPTS

Original Manuscripts: Liver International publishes both clinical and experimental research in all areas of normal and abnormal liver function and disease. Purely descriptive research or methodology papers will not be considered for publication. Basic science manuscripts will be considered for publication only if they have translational significance. Manuscript length should not exceed 5,000 words including tables, figures and references. Manuscripts should contain no more than 5 figures or tables. Each figure should have a maximum of 4 panels.

Additional supporting information can be submitted along with the original manuscript. Authors preparing supporting information for publication should carefully read the guidelines at: <https://authorservices.wiley.com/bauthor/suppinfo.asp>.

### Abstract:

- The abstract must not exceed 250 words.
- The title must not exceed 130 characters.
- Key points must be organized in a box with 4 bullet points which highlight your paper's originality. Must not exceed 100 words.
- The abstract must be organized as follows:
  - Background & Aims
  - Methods
  - Results
  - Conclusions

Do not use abbreviations, footnotes or references in the abstract. An electronic word count of the abstract must be included. 3-5 key words at the end of the abstract must be provided.

The manuscript must be arranged as follows:

- Title page
- Abstract in the Liver International format
- Key points box
- Introduction
- Materials and methods (or Patients and methods)
- Results
- Discussion
- Acknowledgements
- References
- Tables
- Figure legends

As a rule, original manuscripts will be evaluated by two independent reviewers and by the Editors. The Editors reserve the right of early rejection without further external review if the manuscript is judged unlikely to be accepted. Manuscripts requiring extensive revision will be at a disadvantage for publication and will be rejected. Authors shall be responsible for the quality of language and style and are strongly advised against submitting a manuscript which is not written in grammatically correct English. The Editors reserve the right to reject poorly written manuscripts even if their scientific content is qualitatively suitable for publication. Manuscripts are submitted with the understanding that they are original contributions and do not contain data that have been published elsewhere or are under consideration by another journal. Meeting abstracts do not constitute prior publication. Revised manuscripts should be accompanied by a point-by-point reply to the critiques, specifying the changes made in the revised version, which should be highlighted.

Rapid Communications: will be considered for important and timely scientific contributions; authors should explain in their accompanying letter why they wish to submit their paper as a rapid communication. Rapid communications will undergo regular peer-review as original manuscripts but will be granted fast-track processing. Such papers should not exceed 3,000 words, including no more than 2 tables or figures and 20 references. Additional supporting information can be submitted along with the original manuscript. Authors preparing supporting information for publication should carefully read the guidelines at: <https://authorservices.wiley.com/bauthor/suppinfo.asp>.

## MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscripts, including tables and figures, should be submitted online at: ScholarOne Manuscripts: <http://mc.manuscriptcentral.com/liverint>.

Authors are kindly asked NOT to send their manuscripts by fax or mail to the Editorial Office.

Ithenticate Liver International employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published material. Copyright - If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions [http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-\\_301.html](http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-_301.html)

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

- Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA.
- Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA.

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services [http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-\\_301.html](http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-_301.html) and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>. See the OnlineOpen section for more information.

If you select the OnlineOpen option and your research is

funded by certain funders [e.g. The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF)] you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying your Funder requirements . For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

For RCUK, Wellcome Trust, FWF authors click on the link below to preview the terms and conditions of this license:

- Creative Commons Attribution License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services [http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-\\_301.html](http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-_301.html) and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

OnlineOpen - OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive.

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services [http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs\\_copyright.asp](http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp) and visit

<http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

## ORGANIZATION OF THE MANUSCRIPT

Submitted manuscripts must be typed double-spaced throughout, preferably using a "standard" font (we prefer Times/Arial 12). Tables and figures must be numbered. For mathematical symbols, Greek letters, and other special characters, use normal text. The references must be in

accordance with Liver International reference style (see References).

Approved nomenclature for gene and protein names and symbols should be used, including appropriate use of italics (all gene symbols and loci should be in italics) and capitalization as it applies for each organism's standard nomenclature format, in text, tables, and figures. Full gene names are generally not in italics and Greek symbols are not used. Proteins should not be italicized.

Improperly prepared manuscripts will not be entered into the peer review process and will be sent back to the author for correction. A letter of submission must be uploaded with all manuscripts. The letter may be used to outline the strengths of the manuscript. All commercial relationships (i.e. consultancies, patent-licensing agreements) that might pose a conflict of interest in connection with the submitted manuscript must be included in the letter. In case of possible conflicts of interest, the letter must include a detailed description of the nature of the conflict of interest, the full name of the entity with which there is a conflict, as well as address, telephone number, webpage address, a detailed financial disclosure, and any other important, relevant details.

The Title page must contain:

- a. A title of no more than 130 characters.
- b. Names of the Authors including the first names of all the Authors in full.
- c. Names of department(s) and institution(s) where the work was done.
- d. Name, address, telephone and fax numbers, and electronic mail address of the corresponding Author.
- e. Electronic word count for main body of manuscript.
- f. Number of figures and tables.
- g. List of abbreviations in the order of appearance.
- h. Conflict of interest.
- i. Financial support.
- j. Trial registration number, if applicable (see below).

Animal trials – Manuscripts reporting experiments using animals must include a statement giving assurance that all animals received human care and that study protocols comply with the institution's guidelines. Statistical methods used should be outlined.

Human trials – Manuscripts reporting data from research conducted on humans must include a statement of assurance in the methods section of the manuscript reading that: (1) informed consent was obtained from each patient included in the study and (2) the study protocol conforms to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a priori approval by the institution's human research committee.

Randomised controlled trials – Any paper that is a randomised control trial should adhere to the guidelines that can be found at the following web-site: [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). The checklist should be downloaded, completed and uploaded with your submission. The trial registration number must be included on the title page of the manuscript reporting a registered clinical trial. Failure to do so will prevent entry to the peer review process.

Registration of clinical trials – Liver International endorses the policy of the WHO and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) on the registration of clinical trials. Any trial that starts recruiting on or after July 1, 2005 should be registered in a publicly owned, publicly accessible registry and should satisfy a minimal standard dataset. Trials that started recruiting before that date will be considered for publication if registered before September 13, 2005. More detailed information regarding the definition of clinical trial, the minimal registration data set, and the requirements for an acceptable trial registry can be found in *New Engl J Med* 2004, 351:1250-1251 and *New Engl J Med* 2005, 352:2437-2438.

Drugs and chemicals – Drugs and chemicals should be used by generic name. If trademarks are mentioned, the manufacturer's name and city should be given. All funding sources supporting the work, either public or private, especially those from pharmaceutical companies, must be provided.

Genetic Sequence data – In papers reporting a novel DNA or amino sequence, verification that the data have been or will be submitted either to Gen-Bank or EMBL is required. Please provide this verification and the accession number in the covering letter.

References – References must be in accordance with the Liver International reference style. References are ordered as they appear in the text and citation numbers for references are placed between "brackets" ("[ ]") in the text as well as in the reference list.

Authors should be listed surname first, followed by the initials of given names (e.g. Bolognesi M). If there are more than six authors, the names of the first six authors followed by et al. should appear. Titles of all cited articles are required. Titles of articles cited in reference list should be in upright, not italic text; the first word of the title is capitalized, the title written exactly as it appears in the work cited, ending with a full stop. Journal titles are abbreviated according to common usage, followed by Journal years, semicolon (;) before volume and colon (:) before full page range (see examples below).

All articles in the list of references should be cited in the text and, conversely, all references cited in the text must be included in the list. Personal communications and unpublished data should be cited directly in the text by the first Author, without being numbered.

An example of how references should look within the text: HVPG was measured by hepatic vein catheterization using a balloon catheter according to a procedure described elsewhere [14, 15] and used as an index of portal hypertension [16].

An example of how the reference list should look:

[14] Merkel C, Bolognesi M, Bellon S, Zuin R, Noventa F, Finucci G, et al. Prognostic usefulness of hepatic vein catheterization in patients with cirrhosis and esophageal varices. *Gastroenterology* 1992;102:973-979.

[15] Groszmann RJ, Wongcharatrawee S. The hepatic venous pressure gradient: anything worth doing should be done right. *Hepatology* 2004;39:280-282.

Abbreviations, symbols and nomenclature - should be standardised and in accordance with ELLIS G (ed.). *Units, symbols and abbreviations*. The Royal Society of Medicine, 1 Wimpole Street, London W1M 8AE, 1975.

Tables – Tables should be provided as Word files (\*.doc), Excel (.xls) or Illustrator (\*.eps) compatible files. TIFF and JPG files are not acceptable for table submission. Tables should contain a maximum of 10 columns. Tables submitted in landscape orientation will not be accepted. Tables should include a title, table legend.

Figures –All graphics submitted to Liver International should be sent at their actual size, which is 100% of their print dimension and in portrait orientation.

Two standard widths are used and figures should fit in one (8.5 x 23.5 cm) or two (17.5 x 23.5 cm) columns (see Figure and Table Guidelines).

Figure files should be provided in high resolution .eps format, minimum 800dpi (for graphs and charts) or .tiff format, minimum 300dpi (for photographs or a combination of images and text). Figures with multiple parts (A, B, C) should be provided as separate files. Panel lettering should be in Arial bold 16 pt, capitalized and no full stop (A) while lettering in figures (axes, conditions) should be in Arial 14 pt, lower case type with the first letter capitalized and no full stop. Do not copy and paste figure files into the manuscript word document.

Figures can be in grayscale or CMYK. All photomicrographs should have a scale on the photograph. Photographs of identifiable patients should be accompanied by written permission to publish from patient(s).

If you no longer have the original data to improve/recreate graphs, charts or combination figures to high resolution, please crop the graph portion in Microsoft PowerPoint and re-type any text in Arial/Times New Roman in minimum 14pts. This will ensure that at least the text is clear. Any lines in the figures must be at least 1.5 or 2pts thick. We will accept the revised .ppt file. For more information on file requirements, please refer to [http://authorservices.wiley.com/prep\\_illustr.asp](http://authorservices.wiley.com/prep_illustr.asp).

## ENGLISH

Authors may be asked to contact professionals regarding the correction of the English content of manuscripts either before or after acceptance. We recommend the Wiley English Language Editing Services: go to [www.wileyeditingservices.com](http://www.wileyeditingservices.com). The expense will be the responsibility of the Authors.

## REVIEW PROCESS

Authors should be aware that manuscripts will be screened upon submission. Only the manuscripts which fully comply with the



submission requirements outlined and in which the level of English is of an acceptable standard will enter the peer review process.

First submission – Once successful submission of a manuscript has taken place, an acknowledgement will be sent by e-mail to the Corresponding Author on the manuscript, with a copy to all named co-authors. All subsequent correspondence will be with the designated Corresponding Author. The reference number of the manuscript should be used by the Authors in all communications with the Editorial Office. All the manuscripts will be reviewed by the Editors and, in some cases, by external expert reviewers. After review, the Corresponding Author will be notified by email of the decision taken by the Editor(s). This email will be accompanied by the comments of the reviewers, where a paper has been sent for external review.

Resubmission of manuscripts – In some cases, Authors will be invited to submit a revised version of the manuscript for further review. This invitation does not imply, in any case, that the revised version will be accepted for publication. In general, revised manuscripts must be received in the Editorial Office within four months of the date of the first decision. Authors should submit the resubmitted manuscript with all changes underlined. The resubmitted manuscript should be accompanied by a cover letter stating that the manuscript has been revised according to the comments made by the Editor and the Reviewers. Figures and tables must be uploaded. Please ensure that a separate point by point response to the reviewers is included with the covering letter. Please do not send revised manuscripts to the Editorial Office via e-mail. Revised manuscripts should be uploaded on the ScholarOne website.

## PROOFS

When proofs are ready for checking, the corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following web site: <http://get.adobe.com/reader/>. This will enable the file to be opened, read and corrected on screen. Further instructions will be sent with the proof.

Offprints - A PDF offprint of the online published article will be provided via Author Services. Additional paper offprints may be

ordered online at <http://offprint.cosprinters.com/blackwell>.

If you have queries about offprints please email [offprint@cosprinters.com](mailto:offprint@cosprinters.com).

Accepted Articles – ‘Accepted Articles’ have been accepted for publication and undergone full peer review but have not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance, appear in PDF format only, are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked, and are indexed by PubMed. A completed copyright form is required before a manuscript can be processed as an Accepted Article.

Early View - Liver International is covered by Wiley Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles mean that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

Author material archive policy - Please note that unless specifically requested, Wiley Blackwell will dispose of all hardcopy or electronic material submitted 2 months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

Disclaimer - The Publisher, the International Association for the Study of the Liver and the Editors cannot be held responsible for errors or any consequences arising from the use of information contained in this journal; the views and opinions expressed do not necessarily reflect those of the Publisher, the International Association for the Study of the Liver and the Editors; neither does the publication of advertisements constitute any endorsement by the Publisher, the International Association for the Study of the Liver and the Editors of the products advertised.

Author Services - Author Services enables authors to track their article – once it has been accepted – through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

#### Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see [www.wiley.com/go/nihmandate](http://www.wiley.com/go/nihmandate).

## APÊNDICE A - INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

### AVALIAÇÃO DE MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA DESCOMPENSADA

Dados identificação:

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

Dados da doença de base:

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

Antecedentes:

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

Descompensação atual:

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

Dados exame físico (exame físico realizado pelo PESQUISADOR)

Peso: _____ kg	Altura: _____ m	PAS: _____	PAD: _____	FC: _____ bpm	FR: _____ irpm	SaO2: _____ % FIO2 _____ %
Temperatura: _____ °C	Febre (controles enfermagem): <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim			Hipotensão (controles enfermagem): <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim		
Icterícia: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Eritema palmar: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Telangiectasias: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim		Ginecomastia: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim		
Flapping: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim	Circulação colateral: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim		Edema MMII: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim			

Ascite (preencher se **ASCITE** presente)

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

Hemorragia digestiva alta (preencher se paciente com **HDA**)

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

Encefalopatia hepática (preencher para **TODOS**)

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

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

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

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

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

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **AVALIAÇÃO DE MARCADORES PROGNÓSTICOS EM PORTADORES DE CIRROSE HEPÁTICA DESCOMPENSADA**

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

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

Não existem riscos importantes relacionados a tal procedimento, podendo ocorrer, como consequência da coleta de sangue, dor no local da punção e/ou formação de hematoma local. Não há benefício direto para o participante. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores envolvidos são o Dr. Bruno da Silveira Colombo, o Dr. Pedro Silva e o Dr. Leonardo de Lucca Schiavon que podem ser encontrados no endereço: Departamento de Clínica Médica, Hospital Universitário/Campus Universitário – Trindade - Cep 88040-970 - Florianópolis – SC Fone (48) 37219149/37219014; e-mail: [bruno.dsc@gmail.com](mailto:bruno.dsc@gmail.com) ou [pedrou@terra.com.br](mailto:pedrou@terra.com.br). Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Universidade Federal de Santa Catarina; Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão - Campus Universitário –

Trindade - Florianópolis/SC; Tel: (48) 3721-9206.

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, assim que os mesmos forem de conhecimento dos pesquisadores. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

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

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

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

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

## APÊNDICE C – ARTIGO EM INGLÊS

### TITLE PAGE

#### **Manuscript title:**

Prognostic significance of Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) serum levels in patients admitted for acute decompensation of cirrhosis

#### **Running Head:**

IGF-1 in acute decompensation of cirrhosis

#### **Author's names:**

Bruno da Silveira Colombo<sup>1</sup>, Marcelo Fernando Ronsoni<sup>1</sup>, Pedro Eduardo Soares e Silva<sup>1</sup>, Leonardo Fayad<sup>1</sup>, Letícia Muraro Wildner<sup>2</sup>, Maria Luiza Bazzo<sup>2</sup>, Esther Buzaglo Dantas-Correa<sup>1</sup>, Janaína Luz Narciso-Schiavon<sup>1</sup>, Leonardo de Lucca Schiavon<sup>1</sup>

#### **Affiliations:**

<sup>1</sup>Division of Gastroenterology, Federal University of Santa Catarina

<sup>2</sup>Department of Clinical Analysis, Federal University of Santa Catarina

#### **Financial support:**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)



## Abstract

**Background & Aims:** Decreased IGF-1 serum levels have been reported in patients with cirrhosis and seem to correlate with the intensity of hepatic dysfunction. However, data about the prognostic significance of decreased IGF-1 serum levels are still lacking. We investigated the relationship between serum IGF-1 levels and short-term prognosis in patients admitted for acute decompensation of cirrhosis. **Methods:** Patients were followed during their hospital stay and 90-day mortality was evaluated. All subjects underwent a laboratory evaluation at admission and IGF-1 was measured by ELISA. Twenty-one patients were also evaluated in the outpatient clinic after discharge and were compared at two time points. **Results:** Between December 2011 and November 2013, 103 patients were included, with a mean age of  $54.2 \pm 11.3$  years. IGF-1 was positively correlated with albumin and negatively correlated with international normalized ratio, C-reactive protein, total bilirubin and the Model for End-Stage Liver Disease (MELD). Ninety-day mortality was 26.2% and it was independently associated with MELD, ascites and IGF-1 levels in multivariate analysis. The Kaplan-Meier survival probability at 90 days was 94.3% in patients with  $\text{IGF-1} \geq 13$  ng/mL and 63.2% for patients with  $\text{IGF-1} < 13$  ng/mL ( $P = 0.001$ ). In the outpatient evaluation, significantly higher levels of IGF-1 were found compared with acute decompensation. **Conclusions:** IGF-1 levels decrease during acute decompensation of cirrhosis and were independently associated with short-term mortality. These findings suggest that this biomarker can be used as a prognostic tool in patients with cirrhosis admitted for acute complications of the disease.

**Key words:** liver cirrhosis; acute decompensation; insulin-like growth factor 1

### Key points

- IGF-1 levels are decreased in cirrhosis and seem to correlate with the intensity of hepatic dysfunction
- In this article, IGF-1 levels, measured at admission in patients with acute decompensation, were correlated with variables associated with the intensity of liver dysfunction and were associated with 90-day mortality in multivariate analysis
- Patients with  $\text{IGF-1} \geq 13$  ng/mL at admission exhibited

- excellent survival (94.3%) in comparison to those with levels below this limit (63.2%)
- A significant increase in circulating IGF-1 was observed in a subset of patients evaluated after discharge, suggesting an impact of transient worsening in liver function on this biomarker

## **Introduction**

Liver cirrhosis is a pathologically defined entity characterized by the development of regenerative nodules surrounded by fibrous bands in response to chronic liver injury, which leads to portal hypertension and end-stage liver disease [1]. The course of cirrhosis is typically variable, and depends on several factors, including the etiology of cirrhosis and the hepatic synthetic function [2]. In general, the natural course of cirrhosis is characterized by a longstanding asymptomatic phase, also known as the compensated phase, followed by a rapidly progressive phase characterized by specific complications [2]. This transition from compensated to decompensated cirrhosis occurs at a rate 5–7% per year and is associated with a marked decrease in life expectancy [3, 4].

Changes in the growth hormone-insulin-like growth factor (GH-IGF) axis observed as a result of liver disease has been reported in cirrhosis and may be responsible, at least in part, for several metabolic disorders characteristically observed in the course of the disease, including malnutrition, insulin resistance, osteopenia and hypogonadism [5-7]. GH is a peptide hormone released from the anterior pituitary that stimulates growth, cell reproduction and regeneration, exerting metabolic effects on bone, cartilage, fat, muscles, the heart, the immune system and other organs [8, 9]. In the liver, GH activation of GH receptors induces IGF-1 gene transcription, and subsequently the synthesis and release of IGF-1 to the plasma [10]. Even though various tissues secrete IGF-1, in the post-natal period the liver is the main source of circulating IGF-1 [10]. IGF-1 exerts anabolic effects on amino acid and carbohydrate metabolism, increases muscle mass and improves bone mineral content and intestinal barrier function [10]. The majority of circulating IGF-1 is bound to IGF binding protein-3 (IGFBP-3), which, therefore, lowers the bioavailability of IGF-1 and limits its access to IGF-1 receptor. The IGFBPs strongly regulate the biological activity of IGF-1, which is additionally adjusted via individual levels of the IGFBP subtypes and by affinity-modulating

proteases [11, 12].

Changes in the GH/IGF/IGFBP axis are well documented in cirrhosis, and the peptides involved have been proposed as markers of hepatocellular dysfunction, malnutrition and survival [8, 9]. Lower IGF-1 serum levels have been reported in patients with cirrhosis compared with healthy controls, likely reflecting decreased hepatic synthetic function [9, 13]. In addition, circulating IGF-1 appears to correlate with the degree of hepatic dysfunction as decreased levels were reported in more advanced stages of cirrhosis [9, 13, 14]. Although these results indicate that determining IGF-1 serum levels may be of clinical relevance in patients with cirrhosis, there are very few data on the prognostic significance of this biomarker in this context. Therefore, we sought to investigate the relationship between serum levels of IGF-1 and short-term prognosis in patients hospitalized for acute decompensation (AD) of cirrhosis.

## **Materials and Methods**

### **Patients**

This is a cohort study that included consecutive subjects admitted to the emergency room of a Brazilian tertiary hospital due to AD of liver cirrhosis between December 2011 and November 2013. The following exclusion criteria were adopted: hospitalization for elective procedures, admissions not related to complications of liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma outside Milan criteria (defined as single lesion  $\leq 5$  cm, up to three separate lesions, none larger than 3 cm, no evidence of gross vascular invasion, and no regional nodal or distant metastases) [15] and a doubtful diagnosis of liver cirrhosis. All patients were initially admitted in the emergency room. The decision to transfer the patient to the ward or the intensive care unit was made at the discretion of the attending physician according to the severity of the AD.

The diagnosis of cirrhosis was established either histologically (when available) or by the combination of clinical, imaging and laboratory findings in patients with evidence of portal hypertension.

The study protocol complies with the ethical principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee on Human Research of the Federal University of Santa Catarina.

## Methods

All patients admitted for AD, as defined by the acute development of hepatic encephalopathy, large ascites, gastrointestinal bleeding, bacterial infection or any combination of these, were screened. Patients were evaluated within 24 hours of admission by one of the researchers involved in the study, and the following clinical variables were collected: age, gender, race, etiology of cirrhosis, history of previous decompensation, current complications of cirrhosis, active alcoholism and regular propranolol use. All subjects underwent laboratory evaluation at admission, and the following tests were performed for this study: total leukocytes, platelet count, serum sodium, creatinine, international normalized ratio (INR), albumin, C-reactive protein (CRP) and total bilirubin.

Active alcoholism 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 enrollment (one standard drink is equal to 12 g absolute alcohol) [16]. Patients were followed during their hospital stay and 30- and 90-day mortality was evaluated by phone call, in case of hospital discharge. Ninety-day mortality rates were estimated as transplant-free mortality (patients who received a liver transplant were considered lost to follow-up).

Individuals with a suspected infection at hospital admission received a clinical examination to confirm this diagnosis and to establish the primary source of infection. The diagnosis of infection was made according to the criteria of the Center for Disease Control [17]. A diagnostic paracentesis was performed in all patients with ascites at admission. Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) was diagnosed when the neutrophil count of the ascitic fluid was  $\geq 250$  neutrophils/mm<sup>3</sup> in the absence of intra-abdominal source of infection, regardless of negative culture [18]. All patients with SBP received ceftriaxone plus weight-based intravenous albumin in the first and third day after the diagnosis. Hepatic encephalopathy was graded according to the West-Haven criteria [19] and, if it was present, a precipitant event was actively investigated and lactulose was initiated and the dose was adjusted as needed. All subjects with acute variceal bleeding received intravenous octreotide, an antibiotic (either oral quinolone or intravenous ceftriaxone), and underwent urgent therapeutic endoscopy after stabilization. The severity

of liver disease was estimated by the Child-Pugh classification system [20] and Model for End-Stage Liver Disease (MELD) [21] calculated based on laboratory tests performed at admission. Acute-on-chronic liver failure (ACLF) was defined as proposed by the EASL-CLIF Consortium [22].

### **IGF-1 serum levels**

IGF-1 levels were measured in serum samples collected within 24 hours of admission and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until use. IGF-1 levels were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay (Quantikine<sup>®</sup> ELISA – Human IGF-1, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). The reported analytic sensitivity of this assay was 0.026 ng/mL.

### **Statistical analysis**

The normality of the variable distribution was determined using the Kolmogorov-Smirnov test. The correlation between the numerical variables was evaluated using Spearman's correlation coefficient. Continuous variables were compared using the Student's *t*-test in the case of a normal distribution or the Mann-Whitney test in remaining cases. Categorical variables were evaluated by chi-square test or Fisher's exact test, as appropriate. Multiple logistic regression analysis (forward stepwise regression) was used to investigate the factors independently associated with 90-day mortality. Based on the receiver operating characteristics (ROC) curve, the best cutoff point for IGF-1 to predict 90-day mortality was chosen. The survival curve was calculated using the Kaplan-Meier method and survival differences between groups were compared using the log-rank test. Paired samples *t*-test or Wilcoxon signed rank-test were used for comparing variables at two times (hospitalization and outpatient assessment). All tests were performed using SPSS software, version 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). A *P* value of less than 0.05 was considered statistically significant.

## Results

### *Characteristics of the sample*

One hundred and three patients were included between December 2011 and November 2013. Table 1 lists the characteristics of the included patients. The mean age was  $54.2 \pm 11.3$  years, 62.7% were caucasians, and a male predominance was observed (69.9%). A previous history of cirrhosis decompensation was observed in 61.2% of the sample and 34.0% of the subjects reported active alcoholism during the past month. The most common etiology of cirrhosis was hepatitis C (40.8%), followed by alcohol abuse (17.5%), cryptogenic (8.7%) and hepatitis B (3.9%). Regular propranolol use was reported by 41.7% of the patients. Upon admission, upper gastrointestinal bleeding was observed in 51.5% of cases, ascites in 44.7%, hepatic encephalopathy in 55.3% and bacterial infections in 20.4%.

When evaluated according to the Child-Pugh classification, 14.6% of patients were classified as stage A, 48.5% were classified as stage B and 36.9% were classified as stage C. At admission, 19 patients (18.4%) fulfilled the criteria for ACLF. ACLF was classified as grade 1 in 15 patients (14.6%), grade 2 in 3 patients (2.9%) and grade 3 in 1 patient (1.0%).

### *Relationship between IGF-1 levels and the studied variables*

Mean IGF-1 levels were  $11.99 \pm 13.56$  ng/mL (median: 9.00 ng/mL). IGF-1 levels positively correlated with albumin ( $r = 0.298$ ,  $P = 0.003$ ). A negative correlation was observed between IGF-1 levels and INR ( $r = -0.202$ ,  $P = 0.042$ ), total bilirubin ( $r = -0.195$ ,  $P = 0.049$ ), MELD ( $r = -0.272$ ,  $P = 0.005$ ) and Child-Pugh score ( $r = -0.269$ ,  $P = 0.006$ ). No significant correlations were observed between IGF-1 levels and age, leukocyte count, platelet count, CRP, sodium or creatinine.

When IGF-1 levels were evaluated according to specific complications of cirrhosis observed at admission, no associations with the presence of ascites, hepatic encephalopathy or bacterial infection were observed ( $P > 0.05$ ). Those individuals with upper gastrointestinal bleeding at admission had lower IGF-1 levels compared to the other patients (6.30 ng/mL vs. 11.60 ng/mL,  $P = 0.038$ ). Child-Pugh C patients also exhibited lower IGF-1 levels than Child-Pugh A or B patients (5.80

ng/mL vs. 11.60 ng/mL,  $P < 0.001$ ). No significant differences in IGF-1 levels were observed between subjects with or without ACLF at admission (7.10 ng/mL vs. 10.80 ng/mL,  $P = 0.222$ ).

### ***Prognostic significance of IGF-1 in hospitalized patients with cirrhosis***

The overall 90-day mortality was 26.2% and it was associated in the bivariate analysis (Table 2) with older age ( $58.74 \pm 11.44$  years vs.  $52.57 \pm 10.82$  years,  $P = 0.014$ ), ascites (85.2% vs. 30.3%,  $P < 0.001$ ), hepatic encephalopathy (74.1% vs. 50.0%,  $P = 0.030$ ), bacterial infection (37.0% vs. 14.5%,  $P = 0.012$ ), Child-Pugh C (77.8% vs. 22.4%,  $P < 0.001$ ), higher MELD scores ( $21.44 \pm 6.31$  vs.  $13.66 \pm 4.63$ ,  $P < 0.001$ ) and ACLF at admission (51.0% vs. 6.6%,  $P < 0.001$ ). Ninety-day mortality was also related to higher median creatinine (1.50 mg/dL vs. 1.00 mg/dL,  $P < 0.001$ ), INR (1.56 vs. 1.35,  $P = 0.003$ ), CRP (23.40 mg/L vs. 7.80 mg/L,  $P = 0.004$ ), total bilirubin (3.60 mg/dL vs. 1.40 mg/dL,  $P < 0.001$ ) and lower mean albumin ( $1.99 \pm 0.51$  g/dL vs.  $2.56 \pm 0.65$  g/dL,  $P < 0.001$ ), lower median sodium (133.00 mEq/L vs. 137.00 mEq/L,  $P = 0.002$ ), and IGF-1 levels (5.50 ng/mL vs. 11.60 ng/mL,  $P = 0.003$ ).

A stepwise forward logistic regression analysis (Table 3) including variables with  $P < 0.010$  in the bivariate analysis showed that MELD score (OR 1.220, 95% CI 1.097–1.356,  $P < 0.001$ ), ascites at admission (OR 10.706, 95% CI 2.526–45.384,  $P = 0.001$ ) and IGF-1 levels (OR 0.907, 95% CI 0.833–0.988,  $P = 0.026$ ) were independently associated with 90-day mortality. Based on the ROC curve, the best IGF-1 cutoff (13 ng/mL) was chosen to predict 90-day mortality. Figure 1 shows the Kaplan-Meier curves for mortality during the follow-up period, according to the IGF-1 categories. The Kaplan-Meier survival probability at 90 days was 94.3% for patients with  $\text{IGF-1} \geq 13$  ng/mL and 63.2% for those with  $\text{IGF-1} < 13$  ng/mL ( $P = 0.001$ ). For the prediction of 90-day mortality, IGF-1 at a cutoff of 13 ng/mL showed a sensitivity of 93% and a specificity of 43%, and a negative predictive value of 94% but a positive predictive value of only 37%. The positive likelihood ratio was 1.637 and the negative likelihood ratio was 0.171.

### ***IGF-1 levels after hospital discharge***

Twenty-one patients that had been included in the above analysis underwent laboratory evaluation within a median 105 days after discharge and were compared at two time points to investigate the impact of AD on IGF-1 levels. At outpatient evaluation, 9 patients were classified as Child-Pugh A and 12 subjects as Child-Pugh B, with a median MELD score of 10.19. As compared to inpatient assessment, significantly higher IGF-1 levels were observed at outpatient evaluation ( $21.9 \pm 23.3$  ng/mL vs.  $49.3 \pm 33.3$  ng/mL,  $P < 0.001$ ) (Figure 2). Likewise, an increase in IGF-1 levels at outpatient evaluation was observed in 17 out of 21 patients included in this analysis (81%). As expected, outpatient assessment was also associated with lower MELD ( $10.59 \pm 2.26$  vs.  $13.58 \pm 2.99$ ,  $P < 0.001$ ), INR ( $1.27 \pm 0.14$  vs.  $1.44 \pm 0.19$ ,  $P < 0.001$ ), total bilirubin ( $1.28 \pm 0.74$  mg/dL vs.  $1.75 \pm 1.29$  mg/dL,  $P = 0.058$ ), CRP median ( $3.50$  mg/L vs.  $6.31$  mg/L,  $P = 0.016$ ) and higher albumin levels ( $3.27 \pm 0.49$  g/dL vs.  $2.62 \pm 0.56$  g/dL,  $P < 0.001$ ).

### **Discussion**

Acute complications of cirrhosis are common causes of hospital admission and are associated with significant morbidity and mortality. Although major advances in the knowledge of natural history of cirrhosis were achieved over the last few years, there is still a need for new markers of prognosis in cirrhotics with AD. It was previously shown that IGF-1 levels in cirrhosis are related to the severity of liver dysfunction and that this marker undergoes little influence from other factors not related to liver synthesis capacity. As a result, IGF-1 levels represent a promising tool as a prognostic marker in liver cirrhosis [9, 13, 14].

In the present study, IGF-1 levels were correlated with other variables directly or indirectly associated with the intensity of liver dysfunction, including albumin, INR, bilirubin and MELD score. In addition, Child-Pugh C patients exhibited lower IGF-1 than Child-Pugh A or B ones. These findings are in agreement with previous studies that demonstrated an association between lower IGF-1 levels and the severity of liver disease [9, 13, 14, 23, 24]. In a recent study, also including patients admitted for AD of cirrhosis, we found lower IGF-1 in Child-Pugh B or C patients and a correlation of IGF-1 with several variables related to severity of cirrhosis, with no interference of other parameters such as



gender, etiology of cirrhosis and comorbidities [14]. In addition, previous data indicate that the low levels of IGF-1 observed in patients with advanced cirrhosis are promptly corrected by successful orthotopic liver transplantation, supporting the investigation of IGF-1 as a potential biomarker for the assessment of liver function [25-27].

In this study, 90-day mortality was 26.2% and was associated in the logistic regression analysis with higher MELD scores, the presence of ascites and lower IGF-1 levels. On the one hand, the MELD score and the presence of ascites are classical prognostic factors in cirrhosis [28, 29]; on the other hand, there are very few data about the significance of circulating IGF-1 in patients with chronic liver diseases. A small study of 36 patients with alcoholic cirrhosis reported significantly lower survival among subjects with IGF-1 below 3 nmol/L (equivalent to 22.9 ng/mL) [30]. A subsequent study from the same group evaluated IGF-1 levels in 354 patients with alcohol-induced liver disease from a large multicenter trial of the effect of malotilate on survival [31]. The mean follow-up period was 569 days and low IGF-1 levels were associated with poor prognosis, especially at a cutoff of 56 ng/mL [31]. It is important to note that this study included both patients with and without cirrhosis and no detailed analysis of those with only cirrhosis was provided [31]. Nevertheless, the authors found a significant relationship between IGF-1 and the intensity of liver dysfunction and also indicated the potential of its levels as a prognostic marker on liver diseases.

The Kaplan-Meier survival probability at 90 days was 94.3% in patients with IGF-1  $\geq$  13 ng/mL and 63.2% in those with IGF-1 < 13 ng/mL. Although the proposed cutoff showed a good sensitivity (93%) and negative predictive value (94%), less impressive results were observed regarding specificity and positive predictive values. This fact indicates that IGF-1 may be a good biomarker to identify those cirrhotics with low risk of death, but it is likely less useful for predicting mortality. This hypothesis is reinforced by the significantly low negative likelihood ratio observed (0.171) in relation to a modest positive likelihood ratio (1.637). The cutoff of 13 ng/mL suggested here is significantly lower than the values reported in the two other studies discussed above [30, 31]. In fact, mean IGF-1 levels in patients with cirrhosis vary significantly across studies, ranging from 25 ng/mL to 152 ng/mL [9, 13, 14, 23, 24]. This discrepancy may be explained by methodological differences in IGF-1 measurement or by the distinct clinical contexts and inclusion criteria across the studies. Since we included only patients hospitalized for

complications of cirrhosis, it is possible that factors related the acute insult or, more importantly, a rapid decrease in hepatic function might justify the lower IGF-1 levels observed.

When patients with AD were evaluated after discharge, a significant increase was observed in IGF-1 levels in 17 out of 21 patients. The mean IGF-1 levels in this subgroup of subjects were  $21.9 \pm 23.3$  ng/mL during hospitalization and  $49.3 \pm 33.3$  ng/mL at outpatient evaluation. This increase of IGF-1 after stabilization was accompanied by an improvement in various other parameters related to the severity of liver disease, such as MELD, INR, total bilirubin and albumin. Although data regarding dynamic changes in IGF-1 are scarce, a previously discussed small Danish study evaluated IGF-1 just before discharge in 18 out of 36 patients included [30]. In agreement with our results, the authors reported a significant increase in IGF-1 levels, from 23.7 ng/mL to 48.8 ng/mL [30]. These findings suggest that the initially low circulating IGF-1 levels in cirrhosis can become even more suppressed during acute complications, likely reflecting a worsening in liver function. However, once the acute insult is removed and liver dysfunction improves, IGF-1 levels tend to return to their basal values. This hypothesis is corroborated by the rapid recovery of IGF-1 levels observed after liver transplantation, as discussed above [25-27].

We acknowledge some limitations to our analysis. First, the relatively small number of patients evaluated could limit our ability to generalize these findings to other populations. In fact, there is still a need for validation of our results in larger cohorts before this biomarker is incorporated into clinical practice. However, we believe that our study may represent an important starting point for research aimed at evaluating IGF-1 in different clinical scenarios, such as acute liver failure and outpatient cirrhotics on waiting list for liver transplant. Secondly, patients were admitted to the emergency department of a general hospital and, although we followed protocols for specific complications of cirrhosis, these guidelines were not specifically created for the purpose of this study and some variation in the approach of specific cases is to be expected. Nevertheless, this issue is common to almost all studies investigating biomarkers in clinical settings, especially in acutely ill patients. The heterogeneity of the included subjects was anticipated and likely reflects the characteristics of patients with cirrhosis that seek medical care in emergency situations.

In conclusion, in patients admitted for AD of cirrhosis, circulating IGF-1 is related to the severity of liver disease and is independently associated with short-term prognosis. IGF-1 increases after stabilization of liver disease, suggesting an impact of transient worsening in liver function on its levels. These findings reinforce the potential role of IGF-1 in assessing the severity of liver dysfunction and indicate that this marker can be used as a prognostic tool for patients with cirrhosis admitted for acute complications of the disease.

**Table 1.** Demographic, clinical and biochemical features of included patients

	All patients (n = 103)
Age; years, mean $\pm$ SD	54.2 $\pm$ 11.3
Male gender, n (%)	72 (69.9)
Ethnicity (Caucasians), n (%)	65 (62.7)
Etiology of cirrhosis, n (%)	
Alcohol	18 (17.5)
Hepatitis C	42 (40.8)
Hepatitis B	4 (3.9)
Cryptogenic	9 (8.7)
Other	30 (29.1)
Previous decompensation, n (%)	63 (61.2)
Active alcoholism, n (%)	35 (34.0)
Propranolol*, n (%)	43 (41.7)
Complication at admission, n (%)	
Ascites	46 (44.7)
Hepatic encephalopathy	58 (55.3)
Gastrointestinal bleeding	53 (51.5)
Bacterial infection	21 (20.4)
Laboratory data	
Leucocyte count ( $\times 10^9$ ), median	6.97
Platelet count ( $\times 10^9$ ), median	84.00
Sodium (meq/L), median	137.00
Creatinine (mg/dl), median	1.10
INR, median	1.37
Albumin (g/dL), mean $\pm$ SD	2.41 $\pm$ 0.66
CRP (mg/L), median	9.32
Total bilirubin (mg/dl), median	2.10
IFG-1 (ng/mL), median	9.00
Child-Pugh Classification, n (%)	
A	15 (14.6)
B	50 (48.5)
C	38 (36.9)
ACLF at admission, n (%)	19 (18.4)
MELD score, mean $\pm$ SD	15.7 $\pm$ 6.14

SD = Standard deviation; INR = international normalised ratio; CRP = C-reactive protein; IGF-1 = Insulin-like growth factor-1; MELD = Model for End-stage Liver Disease \* Prior to hospitalization

**Table 2.** Factors associated with 90-day mortality among patients hospitalized for acute decompensation of cirrhosis

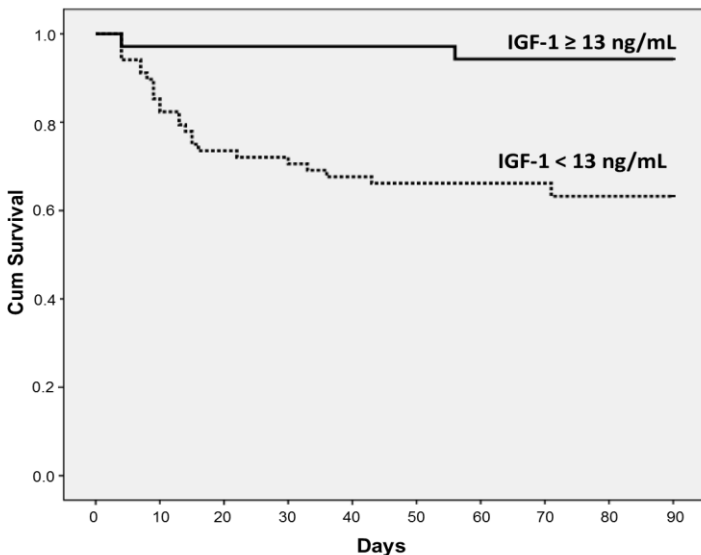
	Survivors (n = 76)	Deaths (n = 27)	P
Age (years), mean ± SD	52.57 ± 10.82	8.74 ± 11.44	0.014
Male gender, n (%)	53 (69.7)	19 (70.4)	0.951
Etiology of cirrhosis, n (%)			
Alcohol	11 (14.5)	7 (25.9)	0.237
Hepatitis C	33 (43.4)	9 (33.3)	0.360
Hepatitis B	3 (3.9)	1 (3.7)	1.000
Cryptogenic	7 (9.2)	2 (7.4)	1.000
Previous decompensation, n (%)	46 (60.5)	17 (63.0)	0.823
Active alcoholism, n (%)	11 (14.5)	7 (25.9)	0.237
Propranolol*, n (%)	36 (47.4)	7 (25.9)	0.052
Complication at admission, n (%)			
Ascites	23 (30.3)	23 (85.2)	< 0.001
Hepatic encephalopathy	38 (50.0)	20 (74.1)	0.030
Gastrointestinal bleeding	47 (61.8)	6 (22.2)	< 0.001
Bacterial infection	11 (14.5)	10 (37.0)	0.012
Laboratory data			
Leucocyte count (x 10 <sup>9</sup> ), median	6.63	7.25	0.680
Platelet count (x 10 <sup>9</sup> ), median	84.00	94.00	0.406
Sodium (meq/L), median	137.00	133.00	0.002
Creatinine (mg/dl), median	1.00	1.50	< 0.001
INR, median	1.35	1.56	0.003
Albumin (g/dL), mean ± SD	2.56 ± 0.65	1.99 ± 0.51	< 0.001
CRP (mg/L), median	7.80	23.40	0.004
Total bilirubin (mg/dL), median	1.40	3.60	< 0.001
IGF-1 (ng/mL), median	11.60	5.50	0.003
Child-Pugh C, n (%)	17 (22.4)	21 (77.8)	< 0.001
MELD score, mean ± SD	13.66 ± 4.63	14.44 ± 6.31	< 0.001
ACLF, n (%)	5 (6.6)	14 (51.0)	< 0.001

SD = Standard deviation; MAP = Mean arterial pressure; INR = international normalised ratio; CRP = C-reactive protein; IGF-1 = Insulin-like Growth Factor MELD = Model for End-stage Liver Disease; ACFL = Acute-on-chronic liver failure \* Prior to hospitalization

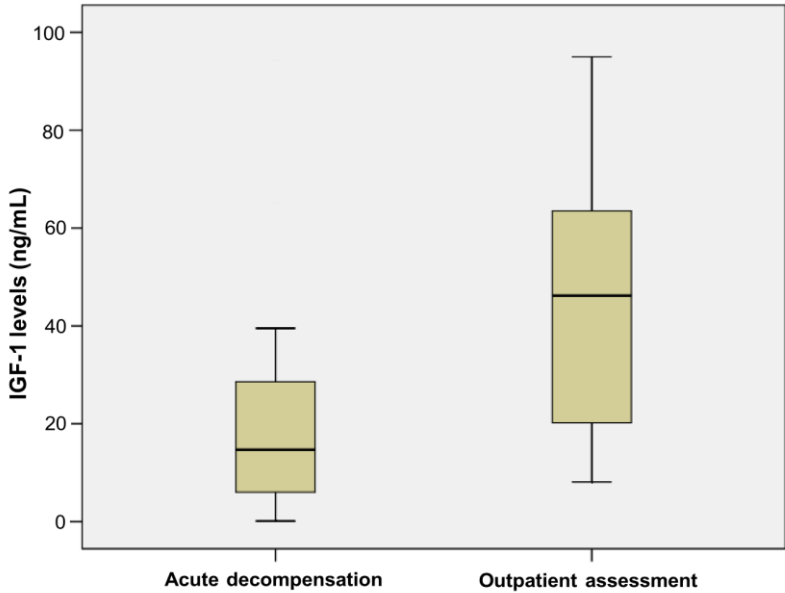
**Table 3.** Stepwise forward logistic regression analysis of factors associated with 90-day mortality (variables with  $P < 0.010$  in bivariate analysis were included).

Factors	Odds Ratio	CI 95%	P
MELD Score	1.220	1.097 – 1.356	< 0.001
Ascites	10.706	2.526 – 45.384	0.001
IGF-1 levels	0.907	0.833 – 0.988	26

CI = Confidence interval; IGF-1 = Insulin-like Growth Factor 1; MELD = Model for End-stage Liver Disease



**Fig. 1.** Cumulative 90-day survival of patients with cirrhosis according to the IGF-1 categories. Survival was significantly lower in patients with IGF-1 < 13 ng/mL as compared to those with values  $\geq 13$  ng/mL ( $P = 0.001$ , long-rank test).



**Fig. 2.** Box plot of IGF-1 according to the moment of evaluation (inpatient or outpatient). The line across the box indicates the median value; the box contains the 25% to 75% interquartile range; and the whiskers represent the highest and the lower values. IGF-1 levels were significantly higher at outpatient assessment ( $P < 0.001$ ).

## References

1. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* 2008;371:838-851.
2. Durand F, Valla D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008;28:110-122.
3. 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.
4. Asrani SK, Kamath PS. Natural history of cirrhosis. *Curr Gastroenterol Rep* 2013;15:308.
5. Huisman EJ, Trip EJ, Siersema PD, van Hoek B, van Erpecum KJ. Protein energy malnutrition predicts complications in liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011;23:982-989.
6. Berzigotti A, Abraldes JG. Impact of obesity and insulin-resistance on cirrhosis and portal hypertension. *Gastroenterol Hepatol* 2013;36:527-533.
7. Luxon BA. Bone disorders in chronic liver diseases. *Curr Gastroenterol Rep* 2011;13:40-48.
8. Perrini S, Laviola L, Carreira MC, Cignarelli A, Natalicchio A, Giorgino F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *J Endocrinol* 2010;205:201-210.
9. Colakoglu O, Taskiran B, Colakoglu G, Kizildag S, Ari Ozcan F, Unsal B. Serum insulin like growth factor-1 (IGF-1) and insulin like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) levels in liver cirrhosis. *Turk J Gastroenterol* 2007;18:245-249.
10. 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.
11. Ferry RJ, Jr., Cerri RW, Cohen P. Insulin-like growth factor binding proteins: new proteins, new functions. *Horm Res* 1999;51:53-67.
12. Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr Rev* 1999;20:761-787.
13. Wu YL, Ye J, Zhang S, Zhong J, Xi RP. Clinical significance of serum IGF-I, IGF-II and IGFBP-3 in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2004;10:2740-2743.
14. Ronsoni MF, Lazzarotto C, Fayad L, Silva MC, Nogueira CL, Bazzo ML, et al. IGF-I and IGFBP-3 serum levels in patients hospitalized for complications of liver cirrhosis. *Ann Hepatol* 2013;12:456-463.



15. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334:693.
16. 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;370:1915-1922.
17. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-140.
18. Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009;49:2087-2107.
19. Bajaj JS. Review article: the modern management of hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:537-547.
20. Angermayr B, Cejna M, Karnel F, Gschwantler M, Koenig F, Pidlich J, et al. Child-Pugh versus MELD score in predicting survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Gut* 2003;52:879-885.
21. 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;33:464-470.
22. Moreau R, Jalan R, Gines P, Pavesi M, Angeli P, Cordoba J, et al. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis. *Gastroenterology* 2013;144:1426-1437, 1437 e1421-1429.
23. Donaghy A, Ross R, Gimson A, Hughes SC, Holly J, Williams R. Growth hormone, insulinlike growth factor-1, and insulinlike growth factor binding proteins 1 and 3 in chronic liver disease. *Hepatology* 1995;21:680-688.
24. Assy N, Pruzansky Y, Gaitini D, Shen Orr Z, Hochberg Z, Baruch Y. Growth hormone-stimulated IGF-1 generation in cirrhosis reflects hepatocellular dysfunction. *J Hepatol* 2008;49:34-42.
25. Castro GR, Coelho JC, Parolin MB, Matias JE, de Freitas AC. Insulin-like growth factor I correlates with MELD and returns to normal level after liver transplantation. *Ann Transplant* 2013;18:57-62.
26. Weber MM, Auernhammer CJ, Lee PD, Engelhardt D, Zachoval R. Insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in adult patients with severe liver disease before and after orthotopic liver transplantation. *Horm Res* 2002;57:105-112.

27. Bassanello M, De Palo EF, Lancerin F, Vitale A, Gatti R, Montin U, et al. Growth hormone/insulin-like growth factor 1 axis recovery after liver transplantation: a preliminary prospective study. *Liver Transpl* 2004;10:692-698.
28. Silva PE, Fayad L, Lazzarotto C, Ronsoni MF, Bazzo ML, Colombo BS, et al. Single-centre validation of the EASL-CLIF Consortium definition of acute-on-chronic liver failure and CLIF-SOFA for prediction of mortality in cirrhosis. *Liver Int* 2014.
29. Kamath PS, Kim WR. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* 2007;45:797-805.
30. Moller S, Gronbaek M, Main K, Becker U, Skakkebaek NE. Urinary growth hormone (U-GH) excretion and serum insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in patients with alcoholic cirrhosis. *J Hepatol* 1993;17:315-320.
31. Moller S, Becker U, Juul A, Skakkebaek NE, Christensen E. Prognostic value of insulinlike growth factor I and its binding protein in patients with alcohol-induced liver disease. EMALD group. *Hepatology* 1996;23:1073-1078