

VALOR PROGNÓSTICO DA FIBRONECTINA PLASMÁTICA E DA CLASSIFICAÇÃO DE CHILD-PUGH NA CIRROSE HEPÁTICA ALCOÓLICA . ESTUDO COMPARATIVO

EDISON ROBERTO PARISE*, FLÁVIO HUGO PARISI, MARILISA DE MORAES B. LEITE-MÓR, MARIE DOKI NOGUEIRA

Trabalho realizado na disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP.

RESUMO – OBJETIVOS. Avaliar o valor prognóstico da fibronectina plasmática (FN), comparativamente à classificação numérica de Child-Pugh e os parâmetros bioquímicos que a compõem, no acompanhamento prospectivo de portadores de cirrose alcoólica durante 18 meses.

MÉTODOS. Incluídos 50 pacientes com cirrose alcoólica, diagnosticada por biópsia ou critérios clínico-bioquímicos, excluídos aqueles com hepatocarcinoma ou hemorragia digestiva, infecção ou ingestão alcoólica continuada nos últimos 30 dias. A idade média do grupo foi $51,3 \pm 12,6$ anos, 72% deles do sexo masculino e classificados 17 como Child-Pugh A, 18 como B e 15 como C. Os valores das bilirrubinas foram dosados pelo método automatizado, eletroforese de proteínas em acetato de celulose e o tempo de protrombina pelo método de Quick. A FN plasmática foi dosada por imunodifusão radial, com anticorpos contra FN humana em géis de agarose a 1%.

RESULTADOS. Um paciente foi excluído por óbito de causa

não natural e 12 foram a óbito por doença hepática. Os melhores preditores de óbito foram a pontuação de Child-Pugh [escore > 10, risco relativo (RR) de 11,33] e os valores de bilirrubina ($> 2,5$ mg/dL, RR=9,47). A concentração de FN foi significativamente maior nos sobreviventes que naqueles que foram a óbito (185 ± 66 mg/L x 131 ± 38 mg/L, $p < 0,01$), com RR = 6,59 para FN < 165 mg/L. Valores de FN acima desse valor de corte, entretanto, foram os melhores indicadores de sobrevida desde que 96,5% desses 29 pacientes estavam vivos ao final de 18 meses de seguimento.

CONCLUSÃO. Embora apresente menor acurácia em prever o risco de óbito desses pacientes, valores de FN plasmática > 165 mg/L foram melhores indicadores de sobrevida que a classificação de Child-Pugh e seus parâmetros bioquímicos isolados.

UNITERMOS: Fibronectina plasmática. Classificação Child-Pugh. Cirrose alcoólica. Sobrevida na cirrose.

INTRODUÇÃO

A fibronectina (FN) é uma glicoproteína encontrada no sangue circulante (forma solúvel) ou depositada nos tecidos, inclusive como constituinte da membrana basal (forma insolúvel ou tecidual). Esta glicoproteína tem sido associada a vários processos biológicos como adesão e diferenciação celular; reparação de tecidos e fagocitose de bactérias, complexos antígeno-anticorpos, servindo como substrato para enzimas fibrinolíticas e da coagulação¹⁻⁴.

Vários tipos celulares podem sintetizar fibronectina. No fígado, as células parenquimatosas e, praticamente todas células sinusoidais, como células de Kupffer, células

endoteliais e estelares são capazes de sintetizar essa glicoproteína^{1,5-7}. Entretanto, a maioria dos trabalhos sugerem que a maior parte, senão toda a fibronectina circulante, seja produzida pelos hepatócitos⁵⁻⁹. Essa produção pelas células parenquimatosas seria responsável pela observada correlação entre os níveis de fibronectina circulante e o grau de disfunção hepatocelular, tanto em hepatopatias agudas como crônicas¹⁰⁻¹³. Pelo menos um estudo demonstrou que os valores séricos da fibronectina pode ter valor prognóstico na determinação do risco de óbito ou de sobrevida de portadores de cirrose hepática alcoólica¹⁴. Entretanto, resta saber qual a contribuição efetiva que a dosagem dos níveis circulantes dessa glicoproteína poderia ter para o prognóstico desses pacientes, quando comparadas a outras determinações mais tradicionalmente utilizadas para esse fim. De fato, a atividade de protrombina, a bilirrubina e a classificação de Child-Pugh são avaliações já incorporadas na prática médica,

de fácil execução e longo tempo de uso além de inequívoco valor prognóstico na cirrose hepática¹⁵⁻¹⁷.

Nesse trabalho comparamos o valor prognóstico da fibronectina plasmática com parâmetros clínicos e bioquímicos freqüentemente utilizados na clínica médica para prever o óbito em portadores de cirrose hepática de etiologia alcoólica, acompanhados prospectivamente por período mínimo de 18 meses.

MÉTODOS

Foram estudados 50 pacientes do ambulatório de doenças hepáticas da disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, com idade média de $51,3 \pm 12,6$ anos (média \pm desvio padrão). Os pacientes foram selecionados a partir do diagnóstico de cirrose hepática de etiologia alcoólica pela ingestão de pelo menos 80g de etanol ao dia, por tempo mínimo de 10 anos. O diagnóstico de cirrose hepática foi feito

*Correspondência:

Disciplina de Gastroenterologia
Universidade Federal de São Paulo
Rua Botucatu, 740 – 2º andar – Cep: 04023-090
São Paulo – SP – Fax-Fone (11) 5549.1711
E-mail: parise@gastro.epm.br

por biópsia hepática em 62% dos casos e nos demais através dos dados clínicos e laboratoriais¹⁸, além de exame endoscópico e ultra-sonográfico. Foram excluídos pacientes com idade superior a 65 anos; com infecção sistêmica ou localizada; apresentando hepatocarcinoma ou outras doenças crônicas associadas. Todos os pacientes apresentavam varizes esofagogástricas à endoscopia digestiva e negavam a ingestão de bebidas alcoólicas nos 30 dias que antecederam a realização dos exames de base. De acordo com os critérios de Child, modificados por Pugh et al.¹⁹, os pacientes foram classificados funcionalmente em três grupos distintos: Child A = 17 pacientes com idade média de 51,8 anos; Child B = 18 pacientes com idade média de 52,3 anos e Child C = 15 pacientes com idade média de 59,5 anos. Desses pacientes, 20 foram classificados como compensados e 30 como descompensados, de acordo com a presença ou não de ascite, icterícia e/ou encefalopatia. Os pacientes assim selecionados foram submetidos à determinação de provas bioquímicas rotineiramente efetuadas, como: bilirrubinas, fosfatase alcalina, gama-glutamil transpeptidase (GGT), AST, ALT, por método automatizado, eletroforese de proteínas em acetato de celulose e tempo e atividade de protrombina (TAP) pelo método de Quick. Marcadores virais para hepatite B (HBsAg, anti-HBc) e C (anti-HCV) foram determinados pelo método de ELISA, com kits da Abbott Laboratórios. A dosagem de fibronectina no plasma foi feita pela técnica de imunodifusão radial simples usando anticorpos contra fibronectina humana (Sigma Chemical Co., Mo, USA) em geis de agarose a 1%. As placas de agarose foram preparadas utilizando o anticorpo anti-fibronectina na concentração de 1/100. Diluições de um padrão de proteínas plasmáticas humanas contendo concentração conhecida de fibronectina (250mg/dl, Behring, Marburg, Germany) foram utilizadas para obtenção da curva de referência. O sangue para determinação da fibronectina foi colhido em veia periférica com paciente em jejum de pelo menos 8 horas, em frasco contendo citrato de sódio a 3,8%.

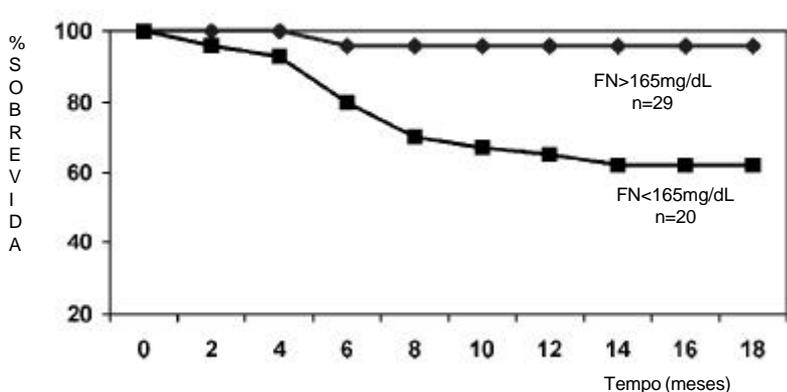
Os pacientes foram acompanhados em regime ambulatorial por período médio de 18 meses, com retornos regulares mensais nos

Tabela 1 – Estudo comparativo entre as médias de idade e valores sanguíneos para albumina, bilirrubinas, atividade de protrombina e fibronectina em portadores de cirrose hepática que foram a óbito ou sobreviveram após período de acompanhamento de 18 meses

	Óbitos (n=12)	Sobreviventes (n=37)	p
Idade	44,1±16	50,7±11,7	0,10
Albumina	3,12±1,20*	3,38±1,67	<0,05
AP (%)	36±19*	68±20	<0,01
Bilirrubinas (mg/dL)	6,4±2,0*	1,7±1,1	<0,01
Fibronectina (mg/dL)	131±38*	185±66	<0,01

(*) valores estatisticamente significantes em relação aos pacientes que sobreviveram. AP=atividade de protrombina(*) p<0,05, teste "t" de Student

Figura 1 – Sobrevida acumulada em portadores de cirrose hepática alcoólica em 18 meses de seguimento, subdivididos de acordo com concentração inicial da fibronectina plasmática



primeiros três meses e, depois, a cada três meses, observando-se a ocorrência ou não de óbito por descompensação ou complicação decorrente da doença hepática ou de complicação paralela.

Método Estatístico

Para comparação das médias das variáveis estudadas empregou-se o teste "t" de Student. A avaliação do poder discriminativo de cada variável considerada foi feita a partir de indicadores de sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Para o cálculo do risco relativo empregou-se o teste do Qui-quadrado. Os cálculos foram feitos por microcomputador, utilizando-se os programas estatísticos Epiinfo. Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com um asterisco (*) os valores significantes do cálculo estatístico^{20,21}.

RESULTADOS

Todos os pacientes foram acompanhados até completar 18 meses. Nesse período, 13 pacientes foram a óbito, sendo um por causa não natural e os 12 restantes em decorrência de complicações da doença hepática, perfazendo um total de 24,5% (12/49) dos pacientes acompanhados. Os pacientes que foram a óbito apresentavam função hepática significativamente mais comprometida do que os pacientes que sobreviveram ao período de acompanhamento, conforme pode ser visto pelos valores séricos de albumina, bilirrubinas totais e tempo de protrombina (Tabela 1). A média dos valores de fibronectina foi estatisticamente menor no grupo que foi a óbito que no grupo de sobreviventes ao final do período de seguimento (Tabela 1).

Quando os pacientes foram separados em dois grupos, de acordo com a concentração

Tabela 2 – Avaliação do risco relativo de óbito do paciente para os parâmetros avaliados, em intervalo de confiança de 95%, ao final de 18 meses de seguimento

	Pacientes que foram a óbito	Pacientes que sobreviveram	Risco relativo
Child-Pugh > 10 pontos	10/12 (83%)	05/37 (13,5%)	11,33
Bilirrubinas > 2,5mg%	10/12 (83%)	07/37 (18,9%)	9,47
Fibronectina < 165mg/L	11/12 (92%)	09/37 (24,3%)	6,59
AP < 50%	09/12 (75%)	07/37 (18,9%)	6,19
Ascite Presente	07/12 (58%)	07/37 (18,9%)	3,32

Tabela 3 – Poder discriminativo (em percentual) dos valores de fibronectina plasmática em comparação com a bilirrubina sérica e a classificação de Child-Pugh, expressa em pontos

	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Acurácia
Child-Pugh	83	86,5	66,7	94	85,7
Bilirrubinas	83	81	59	93,7	81,6
Fibronectina	92	76	55	96,5	79,6

VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo

sérica de fibronectina (> ou < de 165 mg/L), observa-se evidente pior sobrevida nos pacientes com valores mais abaixo do limite de corte preconizado pela literatura¹⁴.

Para o estudo comparativo entre o valor prognóstico da fibronectina e os parâmetros clínicos e bioquímicos preditivos de sobrevida nesses portadores de cirrose hepática, avaliamos o risco relativo de óbito do paciente em função dos valores de cada uma das variáveis estudadas, empregando o teste do Qui-quadrado (Tabela 2). Nessa tabela observa-se que para um intervalo de confiança de 95%, os valores séricos das bilirrubinas e, principalmente, a classificação de Child-Turcotte modificada por Pugh foram superiores à dosagem da concentração de fibronectina como fator de risco para óbito nesses pacientes. Assim, pacientes com Child-Pugh superior a 10 pontos apresentavam risco relativo de óbito mais de 11 vezes superior aos pacientes com Child numérico inferior a esse limite de corte, enquanto para a fibronectina plasmática, esse risco relativo foi de 6,5 vezes para o limite de corte preconizado na literatura de 165 mg/L¹⁴.

Comparando-se a acurácia diagnóstica da fibronectina em relação apenas à classificação de Child-Pugh expressa em pontos e aos valores de bilirrubinas, observa-se (Tabela 3) que a fibronectina teve sensibilidade e valor preditivo negativo superiores aos observados para os outros dois parâmetros.

DISCUSSÃO

Modificações da concentração plasmática da fibronectina têm sido observadas em várias condições clínicas, como septicemias, coagulação intra-vascular disseminada, hepatites fulminantes, neoplasias e hepatopatas crônicas^{2,10,13,23}.

A relação entre concentração sérica dessa glicoproteína e doença hepática crônica tem sido creditada à sua síntese preferencial pelas células hepáticas⁷⁻⁹. Embora alguns autores tenham sugerido uma relação com o grau de hipertensão portal e de hiperesplenismo^{22,23}, a maioria das evidências indica que a redução nos níveis plasmáticos da fibronectina nos pacientes com hepatopatia crônica esteja mais diretamente relacionada à função hepática desses pacientes^{2,11,14,24}. Entretanto, deve-se salientar que a função hepática não deve ser o único fator a alterar os níveis circulantes da glicoproteína nesses pacientes, uma vez que essa correlação é claramente observada somente em cirróticos com comprometimento funcional mais acentuado^{2,13}.

A busca de parâmetros que possam prever a evolução dos hepatopatas crônicos tornou-se ainda mais crucial com o advento do transplante hepático, uma vez que sua indicação precoce melhora o resultado e reduz os custos do procedimento. Apesar dos inúmeros testes funcionais, dosagens bioquímicas e marcadores teciduais

propostos, a classificação de Child-Pugh tem se mantido como padrão ouro na avaliação prognóstica desses pacientes. Mesmo incluindo indicadores clínicos sujeitos à subjetividade e parâmetros laboratoriais sem especificidade absoluta, expressa com boa acurácia o grau de comprometimento funcional hepático existente¹³. É considerado um método simples e confiável, sendo acessível a qualquer centro de investigação clínica²⁵. Além disso, a classificação funcional de Child-Pugh, especialmente quando expressa em sua forma de pontuação, é considerada um indicador de grande valor prognóstico em relação à expectativa de sobrevida de pacientes hepatopatas crônicos^{15,17,26}. Mesmo com a proposta de um novo índice prognóstico denominado de modelo para doença hepática crônica em estágio final (MELD, na língua inglesa), a classificação de Child-Pugh ainda persiste como importante índice prognóstico^{27,28}.

Assim, para testar o valor prognóstico da fibronectina resolvemos confrontar seus resultados com os valores numéricos dessa classificação ou mesmo com os seus parâmetros isoladamente, desde que tanto os níveis de bilirrubinas, albumina e a atividade de protrombina, como a presença ou ausência de encefalopatia e ascite, são considerados parâmetros de grande sensibilidade prognóstica na cirrose hepática^{15,17,26}.

No período de acompanhamento observaram-se 12 óbitos decorrentes de complicações da doença hepática, especialmente hemorragia digestiva e infecções. Quase a totalidade dos óbitos ocorreram dentro de 12 meses de seguimento, sendo maior nos três primeiros meses. Conforme demonstrado nos resultados, o risco relativo de óbito para a determinação da fibronectina plasmática foi inferior à classificação de Child-Pugh e à dosagem das bilirrubinas plasmáticas. Além disso, a dosagem da glicoproteína tem contra si o fato de não ser uma técnica encontrada na rotina dos laboratórios e, assim, representa uma metodologia mais trabalhosa e onerosa que a dosagem da albumina, bilirrubinas e o tempo de protrombina.

Entretanto, ao analisarmos com maior cuidado a acurácia diagnóstica da fibronectina, observamos que ela apresenta sensibilidade e valor preditivo negativo superiores às demais determinações. Entretanto, embora 92% dos

pacientes que foram a óbito apresentassem valores inferiores a 165 mg/L, eles perfaziam apenas 55% dos pacientes abaixo desse valor. Isso reduziu o valor da glicoproteína como índice de risco para óbito. Por outro lado, 28 dos 29 pacientes (96,5%) que apresentaram valores iniciais de fibronectina acima desse valor de corte de 165mg/L, sobreviveram. Esses números caracterizaram esse parâmetro como o melhor índice de sobrevida entre os pacientes estudados, confirmando o trabalho de Naveau et al.¹⁴ que também demonstraram ter sido a fibronectina sérica a variável de maior valor prognóstico numa análise multivariada.

SUMMARY

PROGNOSTIC VALUE OF PLASMATIC FIBRONECTIN AND CHILD-PUGH CLASSIFICATION IN ALCOHOLIC CIRRHOTIC PATIENTS. A COMPARATIVE STUDY.

BACKGROUND. To assess the prognostic value of plasmatic fibronectin (FN), compared to numeric Child-Pugh classification and its biochemical parameters in patients with alcoholic cirrhosis followed prospectively during a 18 months-period.

METHODS. Fifty patients with the diagnosis of cirrhosis by hepatic biopsy or clinical and biochemical criteria, were included in the study after the exclusion of hepatocarcinoma and GI bleeding, infection or continuous alcohol ingestion in the last 30 days. The mean age was 51.3±12.6 years, being 72% males and 17 of

them were classified as Child-Pugh A, 18 as B and 15 as C. Serum bilirubin concentration was measured in autoanalyzer, protein electrophoresis was performed on cellulose acetate and prothrombin time by the Quick test. Plasmatic FN was assessed by radial immunodiffusion with anti-human FN in 1% agarose gel slabs.

RESULTS. One patient was excluded because no natural death and 12 died owing to hepatic disease. The numeric Child-Pugh [score>10, Relative Risk (RR) = 11.33] and total bilirubins (> 2.5mg/dL, RR=9.47) were the best predictors of death. Mean plasmatic FN concentration was significantly higher among those who survived when compared with those who died (185±66 mg/L x 131±38mg/L, p<0,01), with a RR=6.59, for FN<165mg/L. Higher levels of FN, on the other hand, were the best variable to predict survival, since 96% of these 29 patients were alive at the end of follow-up.

CONCLUSION. Although having less accuracy in predicting the risk of death of these patients, plasmatic FN >165mg/L was better predictor of survival than Child-Pugh score or any one of its biochemical parameters. [Rev Assoc Med Bras 2004; 50(1): 37-40]

KEY WORDS: Plasmatic fibronectin. Child-Pugh classification. Alcoholic cirrhosis and survival in cirrhosis.

REFERÊNCIAS

1. Alitalo K, Hovi T, Vaeheri A. Fibronectin is produced by human macrophages. J Exp Med 1980; 151:602-13.

2. Matsuda A. A distribution of fibronectin in plasma and liver disease. Clin Chim Acta 1982; 118:191-9.

3. Mosesson MW, Amrani DL. The structure and biologic activities of plasma fibronectin. Blood 1980; 56:145-58.

4. Stenman S, Vaeheri A. Distribution of a major connective tissue fibronectin, in normal human tissues. J Exp Med 1978; 147:1054-64.

5. Neubauer K, Kruger M, Quondamatteo F, Knittel T, Saile B, Ramadori G. Transforming growth factor-beta 1 stimulates the synthesis of basement membrane proteins laminin, collagen type IV and entactin in rat liver sinusoidal cells. J Hepatol 1999, 31: 692-702.

6. Parise ER, Summerfield JÁ, Wiedmann KH, Hahn E, Doenhoff MJ. Basement membrane proteins and type III procollagen in murine schistosomiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1985; 79: 663-70.

7. Voss B, Allam S, Rauterberg J, Ullrich K, Gieselmann V, Von Figura K. Primary cultures of rat hepatocytes synthesize fibronectin. Biochem Biophys Res Commun. 1979, 90:1348-54.

8. Tamkun JW, Hynes RO. Plasma fibronectin is synthesized by hepatocytes. J Biol Chem 1983, 258: 4641-7.

9. Xu G, Niki T, Virtanen I, Rogiers V, Debleser P, Geerts A. Gene expression and synthesis of fibronectin isoforms in rat hepatic stellate cells. Comparison with liver parenchymal cells and skin fibroblasts. J Pathol 1997, 183: 90-8.

10. Anand AC, Irshad M, Acharya SK, Gandhi SM, Joshi YK, Tandon BN. Fibronectin in acute and subacute hepatic failure. J Clin Gastroenterol 1989; 11:314-9.

Artigo recebido: 21/05/02
 Aceito para publicação: 31/07/03
