

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE – UFCSPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HEPATOLOGIA**

**Sabrina Alves Fernandes**

**O Ângulo de Fase como marcador prognóstico associado  
ao estado nutricional do cirrótico e à gravidade da doença:  
do modelo clínico ao experimental**

**UFCSPA**

**Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre**

**Porto Alegre**

**2013**

**Sabrina Alves Fernandes**

**O Ângulo de Fase como marcador prognóstico associado  
ao estado nutricional do cirrótico e à gravidade da doença:  
do modelo clínico ao experimental**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Hepatologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Doutor.

Orientador: Dr. Cláudio Augusto Marroni  
Coorientadora: Dra. Norma Possa Marroni

**Porto Alegre**

**2013**

F363a Fernandes, Sabrina Alves

O ângulo de fase como marcador prognóstico associado ao estado nutricional do cirrótico e à gravidade da doença: do modelo clínico ao experimental / Sabrina Alves Fernandes. – Porto Alegre, 2013.  
101 f. : il.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Hepatologia –  
Fundação Universidade Federal de Ciências da saúde de Porto Alegre,  
2013.

Orientador: Dr. Cláudio Augusto Marroni  
Coorientador: Dra. Norma Possa Marroni

1. Cirrose. 2. Papilas gustativas. 3. Desnutrição. 4. Zinco. 5. Ângulo de fase. Título. II. Marroni, Cláudio Augusto. III. Marroni, Norma Possa.

CDD 612.35

*Dedico este trabalho para os três maiores amores da minha vida, Marcelo, Maria Luiza e Germano.*

*Ao Marcelo, pelo amor, compreensão, cumplicidade e tanto carinho, me motivando em vários momentos para realização deste trabalho.*

*À Maria Luiza e ao Germano, por todo esse amor incondicional e que, por eles e para eles quero ser motivo de muito orgulho.*

*Meus três amores, quero agradecer de coração por terem me auxiliado a realizar este sonho e dizer que meus momentos de ausência valeram a pena.*

## AGRADECIMENTOS

À **Deus** por ter me conduzido e me auxiliado a superar todos os obstáculos para conclusão deste trabalho.

À minha família, em especial minha mãe **Lili Rolin Alves**, meu exemplo de responsabilidade, determinação e caráter. Ao meu pai, **Ricardo Luiz Fernandes**, por simplesmente também amá-lo.

Aos meus sogros **José Carlos Dahlem** e **Heloisa Dahlem** por todo suporte para me auxiliar nos estudos.

Aos meus grandes amigos **Mariana Teixeira**, **Grace Kelly Campani**, **Georgio da Rosa**, **Carolina Guerini**, **Lilian Bassani**, **Martine Elisabeth Kienzle Hagen**, **Cileide Moulin**, **Cristiano Alves** e **Aline Alves** e meus afilhados **Pedro** e **João Alves** por tantas alegrias, momentos agradáveis e de apoio quando mais precisei.

Às alunas de iniciação científica de Nutrição em Hepatologia **Bianca Pivatto**, **Daniella Miranda**, **Amanda Kropidlofsky**, **Laura Boemeke**, **Danielly Steffen**, **Bruna Siqueira** e **Juliane Santos** pela oportunidade de troca de aprendizado.

À todos os pacientes que fizeram parte da minha pesquisa me proporcionando crescimento técnico e pessoal.

A secretária do Programa de Pós Graduação em Hepatologia, **Luciani Spencer** por suas incansáveis ajudas e a secretária da Patologia **Maristela Pasin**, sempre disponível.

Aos meus **colegas de pós graduação** em Hepatologia.

Ao Professor **Dr. Angelo Alves de Mattos** pelo exemplo de conhecimento e seriedade como conduz a ciência atrelada ao ensino.

À Professora **Dr<sup>a</sup> Cristiane Tovo** pela presteza em auxiliar na realização deste trabalho.

Ao coordenador do Programa de Pós Graduação em Hepatologia, Professor **Dr. Ajácio Brandão**, por sua conduta com este programa, possibilitando a ampliação do conhecimento constantemente.

Às pessoas que fazem parte ou fizeram parte da **equipe do Laboratório de Hepatologia e Gastroenterologia Experimental do Hospital de Clínica de Porto Alegre** durante a realização deste trabalho.

Ao Professor **Dr. Carlos Thadeu Cerski** por dispor de seu tempo e conhecimento auxiliando nas técnicas utilizadas neste trabalho.

À **equipe do Laboratório de Estresse Oxidativo da Universidade Luterana do Brasil** pelo apoio em diversos momentos deste trabalho.

À minha coorientadora Professora **Dr<sup>a</sup> Norma Possa Marroni**, por me proporcionar a oportunidade de vivenciar a pesquisa experimental com tanta experiência e determinação.

Ao meu orientador Professor **Dr. Cláudio Augusto Marroni**, agradeço por todas as oportunidades durante este período. Obrigada por ter tido a chance de crescimento profissional e pessoal. O senhor foi realmente um grande orientador.

E a todos que de uma maneira ou de outra me apoiaram durante este período.

## RESUMO

**Introdução:** Uma das complicações inerentes da cirrose é a desnutrição proteico-calórica (DPC) e avaliá-la de forma fidedigna é um desafio à equipe multidisciplinar, devido às características da doença. O ângulo de fase (AF) medido através da bioimpedância elétrica, dentre diversos métodos de avaliação nutricional, se tornou um bom método prognóstico na associação do estado nutricional à injúria celular da cirrose. Um dos sintomas que potencializa esse déficit nutricional é a alteração de paladar, que contribui para carências nutricionais e assim o processo de dano celular aos hepatócitos, formando-se um ciclo vicioso. **Objetivos:** Identificar, dentre diferentes instrumentos de avaliação nutricional o mais adequado às características físicas e metabólicas do cirrótico associados a DPC e avaliar papilas gustativas na cirrose. **Pacientes e métodos:** Para identificar o instrumento que apresenta maior associação com a evolução da cirrose, foram avaliados 129 cirróticos prospectivamente e de forma seqüencial. Foram realizadas a avaliação antropométrica, a avaliação subjetiva global, a Força do Aperto de Mão através da dinamometria e a bioimpedância elétrica. Para análise de índice prognóstico através do ângulo de fase, foram avaliados em outro momento, 195 cirróticos de diferentes etiologias e associou-se o valor do AF com o estadiamento da doença. Todos os pacientes alocados para o estudo estavam em acompanhamento ambulatorial no Complexo Hospitalar da Santa Casa de Porto Alegre, RS, Brasil. Por não ser possível biópsia de língua de pacientes cirróticos para análise de papilas gustativas, foi realizado um estudo experimental com ratos cirróticos, induzidos por tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>). **Resultados:** No primeiro estudo clínico, o método que acompanhou o estadiamento da doença pelo score Child-Pugh foi o ângulo de fase através da bioimpedância elétrica. No segundo trabalho, o ângulo de fase mostra-se um importante índice prognóstico, indicando o gênero masculino, ascite e Child Pugh C como mau prognóstico. No terceiro estudo, animais cirróticos apresentaram deficiência de zinco, diminuição do AF e piora das provas de integridade hepática de igual forma que os pacientes cirróticos. Em ambos os grupos, observou-se imunorreatividade para células neurotransmissoras do gosto (tipo II e III), além de receptores T1R2. Os animais cirróticos não apresentaram imunorreatividade para receptores T1R3, não podendo ser possível a reação química do gosto doce. Pela

MEV, o grupo cirrótico apresentou afilamento das papilas gustativas. Os botões gustativos apresentaram alteração estrutural entre os grupos. Houve redução do número de botões gustativos no grupo cirrose. **Conclusão:** Realizada avaliação nutricional por diferentes métodos, identifica-se o AF como um bom parâmetro diagnóstico e por sua associação com a piora da cirrose e suas comorbidades, mostra-se um importante índice prognóstico, podendo auxiliar na terapia nutricional. O modelo de cirrose experimental por CCl<sub>4</sub> viabilizou o estudo nas papilas e botões gustativos, além da avaliação da funcionalidade celular pela bioimpedância elétrica, agregado a uma possível desnutrição protéico calórica e deficiência de zinco, mostrando o mesmo comprometimento do estado nutricional visto em humanos cirróticos. Podendo sugerir que as alterações observadas na língua do animal cirrótico possa explicar a disgeusia reportada pelos pacientes.

**Palavras-chave:** Cirrose. Papilas gustativas. Desnutrição. Zinco. Ângulo de fase

## ABSTRACT

**Introduction:** One of the inherent complications of cirrhosis is protein-energy malnutrition (PEM) and evaluate it reliably is a challenge to the multidisciplinary team, due to the characteristics of the disease. The phase angle (PA) measured by bioelectrical impedance analysis, among many methods of nutritional assessment, has become a good prognosis method in the association of nutritional status on cellular injury of cirrhosis. One of the symptoms that enhances this nutritional deficit is the change of taste, which contributes to nutritional deficiencies and so the process of cell damage to hepatocytes, forming a vicious cycle. **Objectives:** To identify, among different nutritional assessment tools the most appropriate to the physical characteristics and metabolic cirrhotic associated with CPD and evaluating the taste buds cirrhosis. **Patients and Methods:** To identify the instrument that has the highest association with the development of cirrhosis, 129 cirrhotic patients were evaluated prospectively and sequentially. Anthropometric evaluation were performed, the subjective global assessment, the strength of the Handshake by dynamometry and bioelectrical impedance, at another time were evaluated 195 cirrhosis of different etiologies and joined the value of AF with the staging of the disease. All patients selected for the study were in attendance at the Santa Casa de Porto Alegre, RS, Brazil Hospital Complex. Since we are unable tongue biopsy of cirrhotic patients for analysis of taste buds, an experimental study in rats with cirrhosis induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) was performed. **Results:** In the first clinical study, the method that accompanied the disease staging by Child-Pugh score was the phase angle by bioelectrical impedance. In the second study, the phase angle shows itself an important prognostic index, indicating the male gender, ascites, and Child Pugh C as bad prognosis. In the third study, cirrhotic animals showed zinc deficiency, decreased PA and worsens of hepatic integrity evidence. In both groups, was observed immunoreactivity of neurotransmitters taste cells (type II and III) as well as T1R2 receptor. The cirrhotic animals did not show immunoreactivity for T1R3 receptors can not be possible the chemical reaction of

sweet taste. By SEM, the cirrhotic group showed thinning of the taste buds. The taste buds showed structural change between groups. There was a decrease in the number of taste buds in the group cirrhosis. Conclusion: Performed the nutritional assessment by different methods, identifies the PA as a good diagnostic parameter and for its association with worsening of cirrhosis and its comorbidities, it shows an important prognostic index, assisting in nutritional therapy. The experimental model of cirrhosis by CCl<sub>4</sub> enabled the study in papillae and taste buds to the assessment of cellular functionality by bioelectrical impedance, added to a possible protein calorie malnutrition and zinc deficiency, showing the same nutritional status impairment seen in human cirrhosis. Being able to suggest that the observed changes in the tongue of cirrhotic animals may explain dysgeusia reported by patients.

Keywords: Cirrhosis. Taste buds. Malnutrition. Zinc. Phase angle

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura tridimensional do lóbulo hepático e a tríade portal.....	14
Figura 2: Estrutura morfológica hepática.....	15
Figura 3: Representação do hepatócito normal e suas sucessivas etapas na progressão da cirrose.....	18
Figura 4: Ativação das células estreladas no processo de dano hepático. ....	18
Figura 5: Arquitetura hepática com injúria crônica. ....	20
Figura 6: Geração de radicais livres e a injúria hepática pela ação do CCl <sub>4</sub> . ...	26
Figura 7: Modelos multicompartimentados de composição corporal.....	28
Figura 8: Aparelho de Bioimpedância Elétrica tetrapolar. ....	28
Figura 9: Passagem da corrente elétrica pelo corpo. ....	29
Figura 10: Princípios do método de BIA.....	30
Figura 11: Paciente cirrótico sendo avaliado pela bioimpedância elétrica. ....	31
Figura 12: Animal cirrótico sendo avaliado pela Bioimpedância elétrica. ....	32
Figura 13: Estrutura anatômica da língua humana.....	40
Figura 14: Diagrama da língua humana e de ratos .....	41
Figura 15: Células do botão gustativo e suas funções.....	46
Figura 16: Reações químicas do gosto doce .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\mu\text{A}$  - Microampere

ALT - Alanina aminotransferase

AF - Ângulo de fase

ASG – Avaliação subjetiva global

AST - Aspartato aminotransferase

ATP – Trifosfato de adenosina

BIA - Bioimpedância elétrica

●CCl<sub>3</sub> – Triclorometil

Ca – Cálcio

CCl<sub>4</sub> – Tetracloroeto de carbono

CEHs - Células estreladas hepáticas

DPC - Desnutrição proteico-calórica

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ERO - espécies reativas de oxigênio

FA - Fosfatase alcalina

FAM – Força do aperto de mão não dominante

$\alpha$ -GT – Gama glutamil-transferase

GPCRs – Receptores acoplados a proteína G

HPP – Hipertensão porto pulmonar

K<sup>+</sup> – Potássio

kHz – Quilohertz

LPO – Lipoperoxidação

MEC – Matriz extracelular

MELD – Modelo de tradução do estágio final da doença hepática

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

Na<sup>+</sup> – Sódio

●OCCl – Triclorometil peroxil

R – Resistência

RNI – Relação normalizada internacional

SHP – Síndrome hepatopulmonar

SBH – Sociedade Brasileira de Hepatologia

SOD – Superóxido dismutase

T1R – Receptor de paladar hétero-oligomérico

TNF $\alpha$  – Fator de necrose tumoral  $\alpha$

Xc – Reatância

Zn – Zinco

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1 FÍGADO.....	14
1.2 CIRROSE.....	16
1.3 ALTERAÇÕES METABÓLICAS NA CIRROSE E DESNUTRIÇÃO PROTEICO-CALÓRICA.....	20
1.4 MODELO EXPERIMENTAL DE CIRROSE HEPÁTICA .....	24
<b>1.4.1 Tetracloreto de carbono</b> .....	24
1.5 BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA (BIA) .....	27
1.6 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL.....	32
<b>1.6.1 Avaliação antropométrica</b> .....	34
<b>1.6.2 Avaliação subjetiva global</b> .....	35
<b>1.6.3 Avaliação da força do aperto de mão não dominante</b> .....	36
1.7 ZINCO .....	37
1.8 SISTEMA GUSTATÓRIO .....	38
<b>1.8.1 Língua humana</b> .....	38
<b>1.8.2 Língua de ratos</b> .....	40
<b>1.8.3 Paladar</b> .....	41
1.8.3.1 Células tipo I.....	43
1.8.3.2 Células tipo II.....	43
1.8.3.3 Células tipo III.....	44
1.8.3.4 Células tipo IV .....	45
1.8.3.5 Fibras nervosas.....	46
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	49
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	61
<b>3 HIPÓTESE</b> .....	62
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	63
4.1 OBJETIVO GERAL .....	63
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	63
<b>4.2.1 Artigo 1:</b> Nutritional assessment in patients with cirrhosis.....	63
<b>4.2.2 Artigo 2:</b> Is the phase angle as a prognostic indicator of nutritional status in cirrhotic patients? .....	64

<b>4.2.3 Artigo 3: An assessment of rat tongues in na experimental cirrhosis model</b>	
.....	64
<b>5 CONCLUSÕES GERAIS</b>	94
<b>ANEXO 1 – Consentimento Livre e Esclarecido</b>	95
<b>ANEXO 2 – Certificado de Tradução para Língua Inglesa (Artigo 3)</b>	97
<b>ANEXO 3 – Carta de Aprovação - Trabalho 3</b>	98
<b>ANEXO 4 – Orçamento Disponibilizado pelo FIPE - Trabalho 3</b>	99

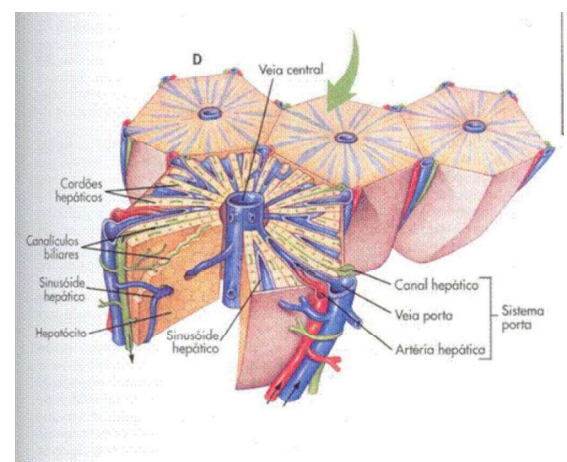
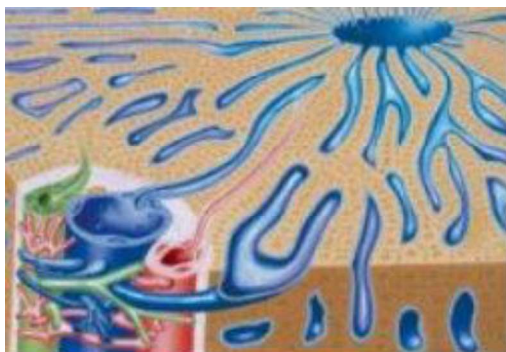
# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 FÍGADO

O fígado é um dos maiores órgãos do corpo humano, representa de 2,5 a 3% do peso corporal, está localizado no quadrante superior direito da cavidade abdominal, entre o hipocôndrio direito e o hipocôndrio esquerdo<sup>(1)</sup>.

Para realizar suas funções, o fígado apresenta uma estrutura complexa, caracterizada como uma unidade estrutural e funcional, composta por uma veia hepática central e seus hepatócitos circundantes delimitados nas extremidades pelo espaço que contém a tríade portal (região formada pela veia porta, artéria hepática e ducto biliar)<sup>(2)</sup>.

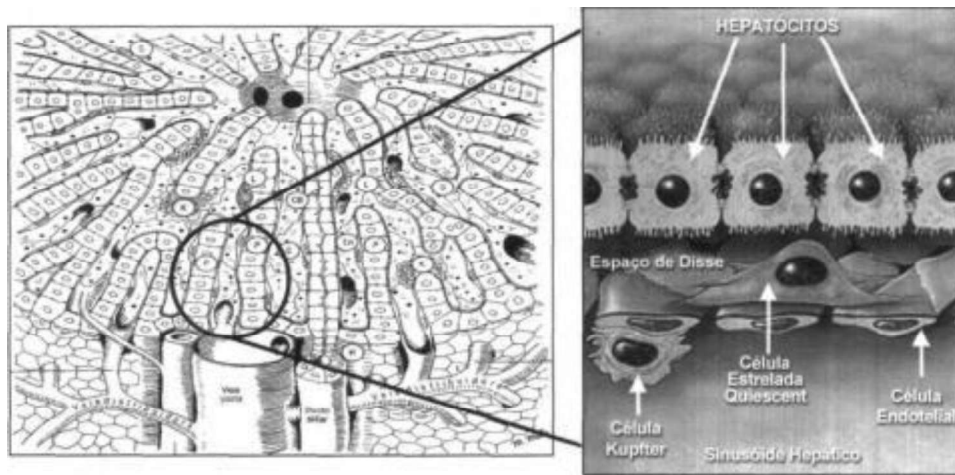
Funcionalmente, o fígado é constituído por ácinos hepáticos, que são uma massa de parênquima hepático disposta ao redor de um eixo, o espaço porta (Figura1). Cada ácino é dividido em três zonas: zona 1, junto à tríade portal, sendo os hepatócitos desta região denominados periportais e caracterizam-se por receber sangue com mais oxigênio e solutos; zona 2 é a zona intermediária; zona 3, junto à veia hepática terminal, os hepatócitos são denominados perivenosos e são os que mais sofrem com as agressões, sejam tóxicas, virais ou anóxicas<sup>(3)</sup>. A regeneração das células hepáticas depende da localização acinar do dano<sup>(4,5)</sup>.



**Figura 1:** Estrutura tridimensional do lóbulo hepático e a tríade portal. <sup>(6,7)</sup>

Fonte: Seeley; Stephens; Tate, 2001; Cirrose..., 2009.

Em seus lóbulos, as células hepáticas ou hepatócitos dispõem-se em placas orientadas radialmente a partir de uma veia central e entrelaçadas de forma ordenada por sinusóides. Os sinusóides são condutos de sangue, que não possuem parede estruturada e são revestidos por dois tipos celulares: células endoteliais típicas dos capilares sanguíneos e os macrófagos que no fígado são denominados como células de Kupffer. Entre os hepatócitos e os sinusóides, encontra-se um espaço estreito, denominado espaço de Disse, onde se localizam as células estreladas hepáticas (CEHs) <sup>(8, 9, 10)</sup>, (Figura 2).



**Figura 2:** Estrutura morfológica hepática.  
Fonte: Friedmann, 2008.

A posição ocupada pelo fígado, na cavidade abdominal, entre o sistema porta e a cava, favorece a captura, transformação, acúmulo e neutralização de substâncias absorvidas no intestino <sup>(11)</sup>.

O fígado possui diversas funções importantes para o organismo, tais como: síntese de várias substâncias (proteínas, açúcares); secreção de sais e ácidos biliares; armazenamento (lipídios, vitaminas); biotransformação (substâncias tóxicas, drogas, hormônios, medicamentos) e metabolismo (lipídios, proteínas, carboidratos). As funções ainda incluem filtragem e armazenamento de sangue, ferro e produção de fatores de coagulação <sup>(1)</sup>.

O fígado é um órgão hematopoiético com capacidade regenerativa e que possui microambientes imunológicos exclusivos <sup>(12)</sup>.

Sendo o fígado um órgão altamente ativo na regulação metabólica de carboidratos, lipídios e aminoácidos, seu consumo de oxigênio se eleva em 20% no indivíduo em repouso, apresentando um gasto calórico maior que qualquer tecido ou órgão isolado, exceto a musculatura esquelética na prática de atividade física. Entretanto, a importância do fígado no metabolismo de energia é como um órgão regulador, controlando a captação e a liberação de compostos para manutenção da homeostase corporal <sup>(13)</sup>.

No fígado, vias metabólicas proteicas, como a transaminação e desaminação oxidativa, convertem os aminoácidos em substratos que são utilizados na produção de energia, de glicose e na síntese de aminoácidos não essenciais <sup>(13, 14)</sup>.

Este órgão está envolvido no armazenamento, ativação e transporte de muitas vitaminas e minerais. Como as vitaminas lipossolúveis (A D E K) e a vitamina B12 e os minerais como o zinco, ferro, cobre e magnésio <sup>(14)</sup>.

O fígado garante a homeostase corporal, via manutenção da musculatura esquelética humana, associada à regulação metabólica de macro e micronutrientes <sup>(14)</sup>.

## 1.2 CIRROSE

Desde a antiguidade, os gregos e os romanos já verificavam o endurecimento e a deformidade do fígado em certas doenças, chamando esta patologia de “kippós”, termo que deu origem à palavra cirrose <sup>(15)</sup>.

Embora a caracterização da cirrose atribua-se à Laennec, a primeira descrição histológica detalhada do fígado cirrótico foi realizada em 1838 por Carswell, sendo que, em 1842, Rokitansky sugeriu que a cirrose é o resultado de uma resposta ativa do tecido conjuntivo aos distúrbios circulatórios e à reação inflamatória. A definição aceita atualmente para cirrose foi proposta em 1930 por Rossle <sup>(15)</sup>.

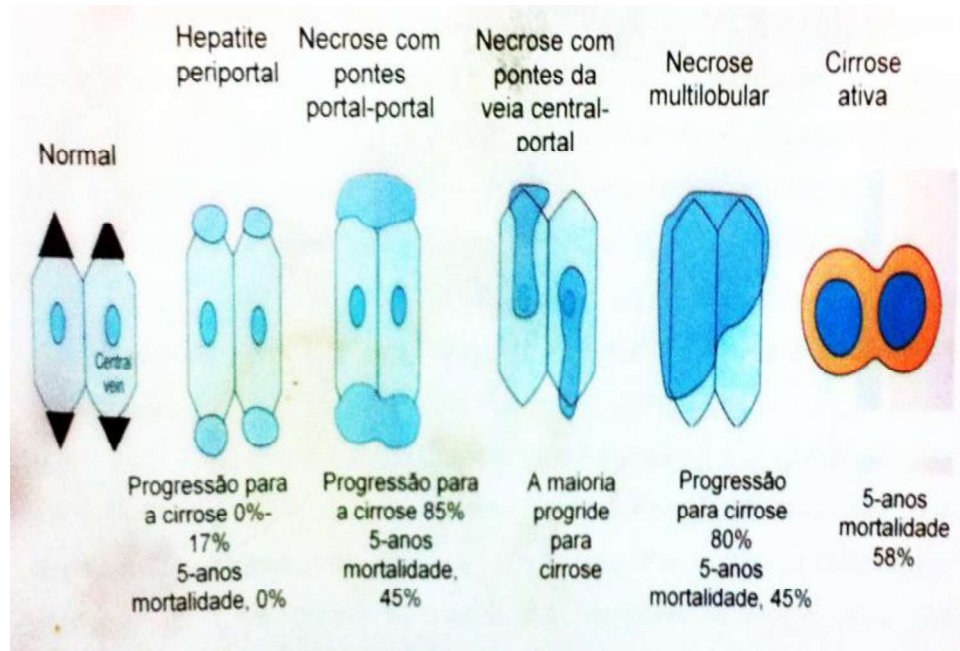
A cirrose é uma doença hepática crônica, decorrente da destruição e regeneração das células hepáticas, ocasionando, do ponto de vista histológico, presença de fibrose e formação nodular difusa, com conseqüente desorganização da arquitetura lobular e vascular do órgão, e representa a via final comum da lesão

hepática crônica independentemente do agente etiológico que produza a lesão (8, 10, 16).

A cirrose apresenta distribuição global, independente de raça, idade e gênero. Com uma prevalência estimada, que varia de 4,5% a 9,5%, de acordo com estudos de necropsia o que poderia corresponder a cerca de 100 milhões de pessoas acometidas em todo o mundo (17).

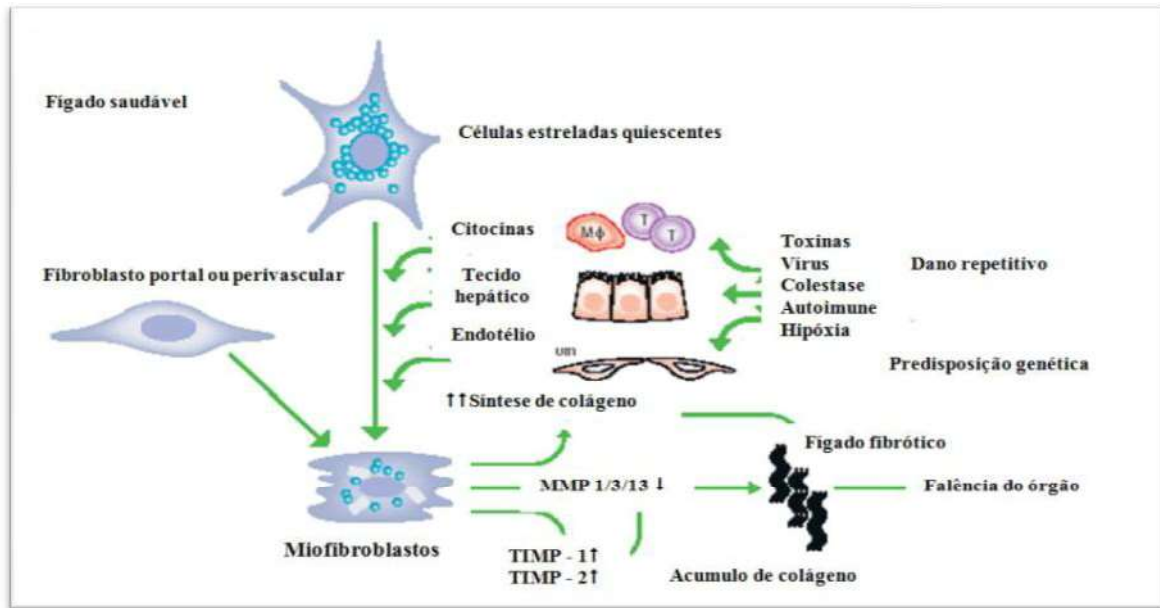
A hepatite viral, especialmente do tipo B, constitui a principal causa de cirrose em países da Ásia, ao passo que, em países desenvolvidos, os principais agentes são o álcool, o vírus C e, mais recentemente, a esteato-hepatite não alcoólica. Em ambulatorios institucionais, o álcool representa a principal causa de hepatopatia crônica. Entretanto, em levantamento da Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH), quando são avaliados pacientes da clínica privada, o uso excessivo de etanol é bem menos frequente, sendo a hepatite C a principal causa de hepatopatia crônica nessa população (8,16).

A caracterização histológica de cirrose é a mesma, independentemente de sua etiologia, com a presença de nódulos formados a partir dos septos de fibrose, condição essencial da cirrose. Os septos de fibrose podem envolver um lóbulo único, formando pontes de uma veia porta à outra, podem também atravessar o lóbulo, unindo a veia central à veia porta, para criar nódulos menores, ou ainda cercar muitos lóbulos para criar um nódulo maior (Figura 3). Na cirrose, são reconhecidas três categorias morfológicas básicas, baseadas no tamanho dos nódulos. Um tipo micronodular, em que os nódulos apresentam um diâmetro menor que 3 mm; um tipo macronodular, em que os nódulos apresentam tamanho maior que 3 mm de diâmetro e normalmente mostram variações no tamanho; e um terceiro tipo, que é formado por uma mistura padrão, do tipo micronodular e macronodular (18).



**Figura 3:** Representação do hepatócito normal e suas sucessivas etapas na progressão da cirrose. Citado e adaptado por Amália PM e col. <sup>(19)</sup>  
 Fonte: Amália et al., 2004.

As células estreladas hepáticas são importantes no processo de fibrose da cirrose, pois estimulam a produção da matriz extracelular e regulam, pelas suas longas extensões citoplasmáticas, o fluxo sanguíneo intrahepático que poderá determinar o grau de hipertensão portal <sup>(9)</sup>. As células estreladas hepáticas apresentam-se com dois fenótipos: quiescente e ativado <sup>(9, 10)</sup>. As CEHs, quando ativadas, independentemente da etiologia da cirrose, apresentam maior capacidade de proliferação, motilidade, contratilidade, síntese de colágeno e de componentes da matriz extracelular (Figura 4) <sup>(8, 20)</sup>.

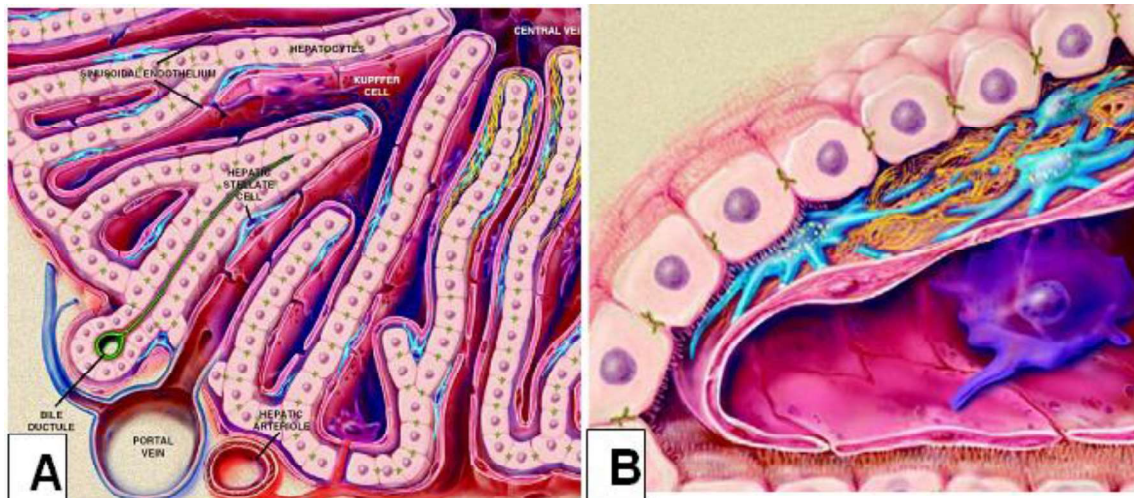


**Figura 4:** Ativação das células esteladas no processo de dano hepático.<sup>(20)</sup>  
 Fonte: Schuppan, 2008.

Na lesão hepática crônica, uma matriz fibrilar, produzida pela ativação das células esteladas, acumula-se no espaço de Disse e resulta em perda das microvilosidades dos hepatócitos, reduz o tamanho e o número das fenestrações sinusoidais. A colagenização do espaço de Disse resulta em menor acesso de substâncias ligadas às proteínas e aos hepatócitos. Essas alterações podem ser acompanhadas pela ativação das células de Kupffer nos sinusóides (Figura 5)<sup>(9,10)</sup>. Esse contexto determina a disfunção dos hepatócitos desencadeando o processo de hipertensão portal, relacionado diretamente ao grau de fibrose do fígado.

O desarranjo na arquitetura lobular, com disfunção hepatocitária leva a um quadro de hipertensão portal, tal situação implica diretamente na alteração do funcionamento hepático. As consequências, parte da hipertensão portal, refletem-se em múltiplos órgãos e sistemas, principalmente no cardiocirculatório, renal, pulmonar, neurológico e metabólico, e suas principais consequências são: cardiomiopatia cirrótica, varizes de esôfago e gastroparesia da hipertensão portal, ascite, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar (SHP), hipertensão porto pulmonar (HPP), encefalopatia hepática e alteração do metabolismo<sup>(5, 20)</sup>.

Indivíduos que apresentam cirrose, independentemente de sua etiologia, desenvolvem progressivamente um quadro constitutivo de desnutrição proteico-calórica (DPC).



**Figura 5:** Arquitetura hepática com injúria crônica.

Em (A) mostra o sinusóide hepático e a presença de cordões de hepatócitos e o acúmulo de MEC, em (B) desenho de alta resolução do espaço subendotelial com a ativação das CEHs e células de Kupffer e perda das fenestrações.<sup>(21)</sup>

Fonte: Friedmann, 2004.

### 1.3 ALTERAÇÕES METABÓLICAS NA CIRROSE E DESNUTRIÇÃO PROTEÍO CALÓRICA (DPC)

A característica clínica de DPC é derivativa de uma série de modificações metabólicas clássicas na cirrose. Tais alterações geram diminuição nas reservas de glicogênio, advindas da queda da gliconeogênese, aumento do processo oxidativo de carboidratos potencializando a lipoperoxidação<sup>(22,23)</sup>. Ocorre resistência insulínica que afeta de forma significativa a estrutura músculo esquelética, mesmo em presença de gliconeogênese normal, seguindo a cronologia do desenvolvimento do diabetes melitos, o qual tem sido reportado em 15% a 30% desses pacientes<sup>(22,24)</sup>.

Em geral, a hipoglicemia é observada na doença hepática aguda e grave, e a intolerância à glicose mais tipicamente na doença hepática crônica e cirrose<sup>(25)</sup>. O grau de intolerância à glicose na doença hepática crônica, é variável de 57% a 80%<sup>(26, 27, 28)</sup>, assim como a incidência de diabetes melitos de 10 a 40%<sup>(26, 27, 28)</sup>. A falha desses mecanismos homeostáticos na doença hepática pode resultar em hipoglicemia ou intolerância à glicose. A resistência insulínica é referida, nesses

pacientes, isoladamente após a refeição<sup>(29)</sup> ou associada ao aumento dos hormônios contra reguladores como glucagon, hormônio de crescimento<sup>(30)</sup> e catecolaminas<sup>(31)</sup>.

São inúmeros os fatores que contribuem para a DPC e alterações metabólicas na cirrose, onde os sintomas digestivos como anorexia, náuseas, vômitos, saciedade precoce, podem ser desencadeados por alterações da leptina endógena, déficit de minerais, ascite refratária, que diminuem a capacidade de expansão gástrica<sup>(32, 33)</sup>.

Outros fatores seriam as possíveis deficiências de zinco e magnésio<sup>(34)</sup>, provocando disgeusia, ação hipotalâmica dos níveis elevados de serotonina e a elevação das citocinas, particularmente do fator de necrose tumoral (FNT) e interleucina 1 (IL-1)<sup>(35)</sup>.

A dieta desses pacientes torna-se muito restritiva: hipoproteica, hipolipídica, hipossódica, dificultando a aderência<sup>(36)</sup>. Além disso, o jejum prolongado em pacientes com encefalopatia ou sangramento digestivo, também contribui com a menor ingestão energética do paciente hepatopata<sup>(37)</sup>. Alterações do comportamento provenientes da própria encefalopatia ou alterações neurológicas, também impedem rotinas alimentares<sup>(26)</sup>. A má absorção foi descrita em 26% dos pacientes, em função do aumento na excreção de nitrogênio e gordura nas fezes<sup>(38)</sup>. Quanto ao hipermetabolismo, como causa da DPC, ainda não há consenso na literatura<sup>(39)</sup>. Alguns autores observaram aumento na taxa metabólica de repouso de pacientes cirróticos, verificado, principalmente, por alteração de massa livre de gordura e um gasto energético de massa magra acima do normal<sup>(40)</sup>.

Um fator contribuinte para a redução da ingestão alimentar diária é a disgeusia, queixa comumente reportada pelos pacientes na clínica, mas não documentada em ensaios clínicos.

Referente ao metabolismo proteico na cirrose há alterações adaptativas, pois a demanda proteica se eleva, porém, em contrapartida, sua absorção e síntese estão diminuídas, instalando-se um processo de degradação proteica corporal, também conhecida como sarcopenia. Tal processo ocorre tanto em estado de jejum ou período pós-prandial e resulta em um aumento na produção hepática de ureia e excreção de nitrogênio. No jejum de curta duração, as necessidades energéticas provenientes da gordura são de 70%, isto é, 30% superiores às dos indivíduos normais. Isso sugere a pouca adaptabilidade do cirrótico ao jejum, passando

rapidamente à oxidação lipídica em função da brevidade da fase glicogenolítica (41,42).

Agregada à degeneração proteica, há níveis plasmáticos elevados de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano livre), que são fatores de identificação de degradação proteica e aumentam os níveis de ureia circulante, o que determina, consecutivamente, aumento de amônia (22,43).

O agravamento da insuficiência hepática é caracterizado por uma menor metabolização dos aminoácidos aromáticos e sulfurados, cujo produto (neurotransmissores e mercaptanos), precipitariam os sintomas neurológicos da encefalopatia hepática. Os mercaptanos são produtos da metabolização da metionina pelas bactérias intestinais (44), enquanto o acúmulo, no cérebro, de neurotransmissores verdadeiros (serotonina) ou falsos (tiramina e octopamina), é consequência da maior passagem de seus precursores (triptofano e fenilalanina) pela barreira hematoencefálica.

Contribui para esse transporte a diminuição dos níveis plasmáticos dos aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), provocada tanto pela subnutrição proteica (45), como pelo hiperinsulinismo, comum nos pacientes cirróticos, que promove maior captação dos aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) pelo músculo, reduzindo suas concentrações plasmáticas. Com isso, há menor competição dos AACR com o triptofano para entrada no cérebro, aumentando a produção de serotonina cerebral(35). Ao contrário, níveis aumentados de corticosteróides, por promoverem a proteólise, aumentam a concentração plasmática dos aminoácidos aromáticos, cuja captação cerebral vai depender da gravidade da doença (46).

Em pacientes cirróticos, a alteração no metabolismo lipídico é bastante significativa, com o aumento da lipólise, diminuição da concentração de triglicerídeos, fosfolipídeos, colesterol, ácidos graxos poliinsaturados, assim como os níveis de apolipoproteínas (47).

As provas de integridade hepática auxiliam na detecção e avaliação de gravidade de doença. A aspartato aminotransferase (AST), uma enzima encontrada nas mitocôndrias e no citosol, e a alanina aminotransferase (ALT), uma enzima citosólica encontrada nos hepatócitos. Quando elevadas, estão relacionadas à lesão ou destruição de tecidos ricos em ALT e AST ou à alteração da permeabilidade celular. A fosfatase alcalina (FA) representa um grupo de isoenzimas que catalizam

a mesma reação. Sua elevação no soro é evidenciada em doenças hepatobiliares.<sup>(16)</sup>

A desnutrição proteico calórica (DPC) é uma condição clínica clássica da cirrose, desde seu estágio inicial, entretanto, sua constatação ocorre em estadiamento catabólico avançado por não haver, até o momento, uma forma de mensuração precoce.

Identificar o estado nutricional em cirróticos é fator prognóstico de grande importância, tanto que em 1973 fazia parte do escore de Child-Turcotte Pugh<sup>(48,49)</sup>. O controle e a manutenção do estado nutricional do cirrótico estão associados às condições de compensação do mesmo. A intervenção nutricional precoce pode agir diretamente na melhoria clínica e conduzir a um bom prognóstico. O mau estado nutricional se associa a um pior prognóstico, ocasionando complicações, gerando uma má qualidade de vida com baixa sobrevivência<sup>(50)</sup>.

Atualmente, para classificar a condição clínica do cirrótico, utilizam-se dois escores: Child-Pugh<sup>(51)</sup> e MELD (*The Model for End Stage Liver Disease*)<sup>(52)</sup>. Estudo realizado com 177 pacientes cirróticos, para avaliar a validade prognóstica do escore Child-Pugh, concluiu que a taxa de sobrevida de um ano é de 100 % para pacientes Child A, 80% para B e 45% para C<sup>(53)</sup>.

Sabidamente, até o momento, ainda não está estabelecido um padrão áureo para predizer o estadiamento nutricional de pacientes cirróticos, principalmente em sua fase inicial.

Para o estudo da cirrose e de todos os seus mecanismos envolvidos, existem modelos experimentais que mimetizam a lesão hepática de humanos, entre eles o exemplo clássico do tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>)<sup>(19, 54, 55, 56)</sup>.

## 1.4 MODELO EXPERIMENTAL DE CIRROSE HEPÁTICA

Existem inúmeros estudos experimentais utilizados para avaliar e acompanhar o desenvolvimento fisiopatológico de cirrose, dentre eles podemos citar:

### a) Obstrução do ducto biliar:

Modelo experimental que se caracteriza pela obstrução das vias biliares extra-hepáticas de maior calibre, ocasionando dificuldade para eliminação da bile, destruição do parênquima hepático e fibrose progressiva. Este modelo é desenvolvido em 28 dias <sup>(57, 58)</sup>.

### b) Administração de drogas:

- etanol produz infiltração adiposa, hepatite e cirrose <sup>(59)</sup>.
- a tiocetamida é metabolizada pelo sistema oxidase de função mista em um hepatotóxico denominado tiocetamida-S-oxidase, que contribui para peroxidação lipídica, levando à formação de fibrose e cirrose <sup>(60)</sup>.
- a dimetilnitrosamina é um bom indutor de fibrose hepática, sendo considerada um modelo que reproduz alterações bioquímicas e patofisiológicas de fibrose e cirrose de humanos <sup>(61, 62)</sup>.
- o uso de tetracloreto de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) é empregado amplamente para avaliação da cirrose experimentalmente, reproduzindo anormalidades hemodinâmicas, com o aumento da resistência vascular hepática, isso pode acarretar a hipertensão portal e também o impedimento nas trocas entre os sinusóides e os hepatócitos, representando o maior dano hepático na cirrose. <sup>(56, 63)</sup>.

### 1.4.1 Tetracloreto de carbono

A primeira investigação de cirrose induzida por  $\text{CCl}_4$  foi realizada em 1936 <sup>(64)</sup>. Após esse estudo, o  $\text{CCl}_4$  tem sido extensivamente usado para induzir cirrose em

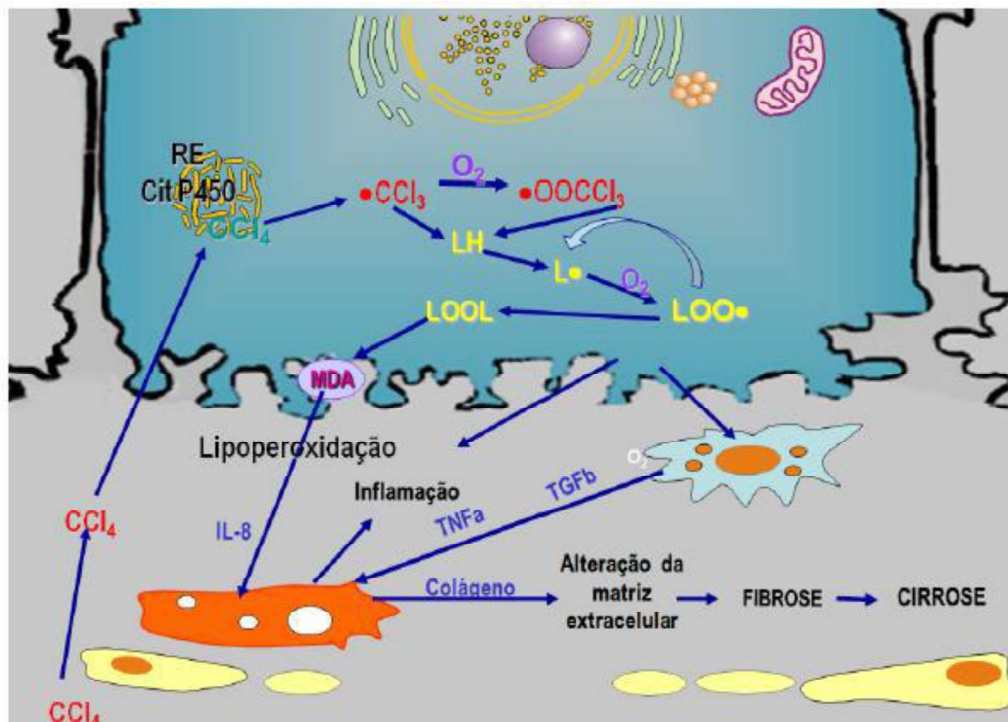
ratos, camundongos, porcos, porcos-da-índia, hamsters, babuínos e cães. O tempo necessário para desenvolver cirrose por  $\text{CCl}_4$  varia de animal para animal. Segundo Perez-Tamayo (1983), o intervalo entre as administrações de cada dose de  $\text{CCl}_4$  não deve ser longo, para que as células danificadas não se recuperem, sendo recomendadas, normalmente, duas doses por semana, o que pode variar com o modelo estudado <sup>(55)</sup>.

O  $\text{CCl}_4$  pode ser absorvido através dos pulmões, sendo administrado por inalação <sup>(65)</sup>, absorvido através do trato gastrointestinal, sendo administrado por via intragástrica <sup>(65)</sup>, pode também ser administrado por via intraperitoneal <sup>(66)</sup>, via subcutânea <sup>(67)</sup> e via intramuscular <sup>(68)</sup>.

A cirrose induzida por injeção intraperitoneal de  $\text{CCl}_4$  é um modelo experimental clássico que simula as complicações das doenças crônicas do fígado de humanos, reproduzindo fielmente alterações histológicas, bioquímicas, hemodinâmicas, renais e neurohumorais <sup>(56)</sup>, como icterícia, ascite, encefalopatia, hipertensão portal entre outras, sendo esse modelo utilizado amplamente para o estudo de cirrose e de substâncias que possam reverter a fibrose.

Essa droga é utilizada como modelo clássico de hepatotoxicidade por xenobióticos, produzindo nos modelos experimentais de animais alterações na zona 3 do ácino, como necrose, esteatose e fibrose, que se assemelham aos danos produzidos em humanos. O mecanismo de injúria produz dano sobre as membranas dos hepatócitos e sobre as organelas intracelulares <sup>(69)</sup>.

O  $\text{CCl}_4$  é uma hepatotoxina que causa lesão ao fígado, mediada pelo aumento de radicais livres <sup>(70, 71)</sup>. Sua hepatotoxicidade envolve sua metabolização pelo citocromo P450 nos hepatócitos, dando origem ao radical triclorometil ( $\bullet\text{CCl}_3$ ) e triclorometil peroxil ( $\bullet\text{OCCl}_3$ ) (Figura 6). Estes radicais livres são instáveis e imediatamente reagem com os componentes da membrana, iniciando uma reação em cadeia que leva à lipoperoxidação (LPO) <sup>(72)</sup>.



**Figura 6:** Geração de radicais livres e a injúria hepática pela ação do  $\text{CCl}_4$ .<sup>(73)</sup>

Fonte: Pavanato, 2004.

A formação destes radicais livres relaciona-se a uma resposta inflamatória, com a ativação de células hepáticas, incluindo as células de Kupffer, CEHs e sinusoidais, que, quando ativadas, secretam citocinas que irão mediar a fibrogênese e conseqüentemente a cirrose hepática<sup>(67)</sup>.

Os radicais livres e as espécies reativas de oxigênio (ERO) formadas causam oxidação de proteínas celulares, incluindo as presentes no retículo endoplasmático rugoso e nas mitocôndrias, e dano extenso ao ácido desoxirribonucleico (DNA) mitocondrial prejudicando a síntese mitocondrial pelo fígado.

Existem na literatura diferentes métodos de avaliação corporal sendo testados com o intuito de avaliar a associação entre a condição clínica e o estado nutricional na cirrose, além de aferir de forma indireta alterações metabólicas ocorridas no processo da doença como o desfecho ocorrido nos estudos por tetracloreto de carbono. Um dos métodos sendo amplamente utilizado no momento é o ângulo de fase, mensurado através da Bioimpedância elétrica.

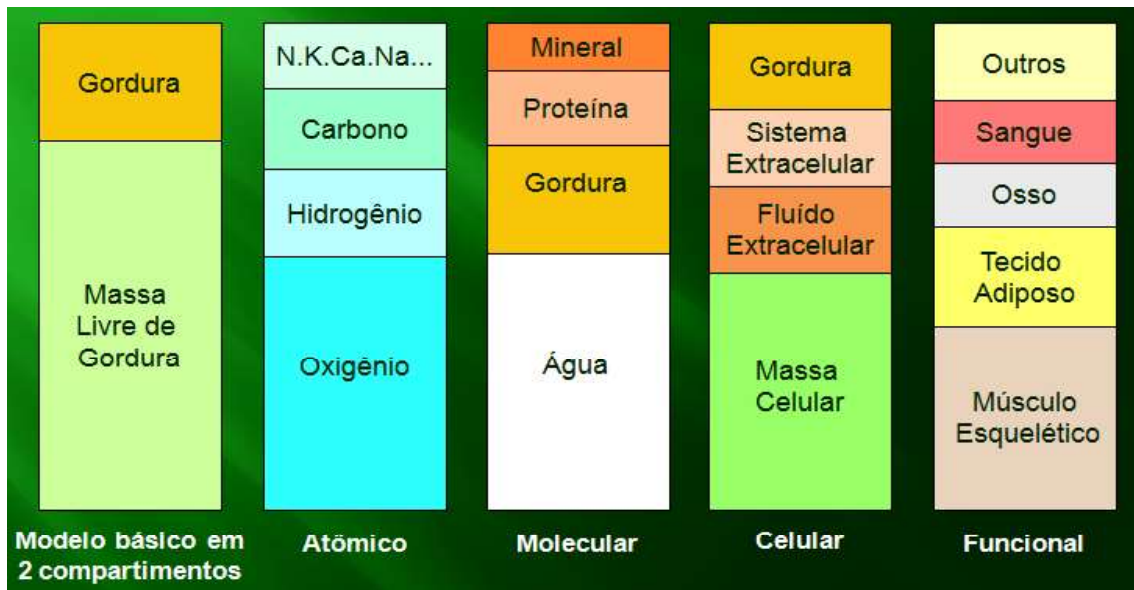
## 1.5 BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA (BIA)

A impedância elétrica é a oposição que um sistema oferece à passagem de uma corrente elétrica. Quando a diferença de potencial é aplicada a este sistema, a passagem dessa corrente será mensurada conforme a oposição encontrada <sup>(74)</sup>.

Aplicando esta definição para a área da biologia, temos a bioimpedância elétrica (BIA), que apresenta, como opositor à sua corrente elétrica, substratos biológicos, cuja unidade funcional é a célula <sup>(74)</sup>.

A BIA nos fornece dados sobre o substrato avaliado em relação às suas dimensões físicas ou mudanças em suas propriedades condutivas, onde essas propriedades podem sofrer alteração por modificação de processos eletroquímicos, temperatura, pH, estado de hidratação e viscosidade do fluido ou do tecido biológico analisado. De posse dessas informações, é factível acompanhar possíveis alterações fisiológicas de diferentes seres vivos <sup>(74)</sup>.

Compartimentalizando o corpo humano, não apenas no modelo clássico usualmente utilizado, ou seja, divisão de massa gorda e massa livre de gordura, mas de forma quantitativa, a distribuição funcional, celular, molecular e, dependendo do modelo do aparelho, pode fornecer dados de composição atômica, conforme Figura 7.



**Figura 7:** Modelos multicompartmentados de composição corporal. <sup>(75)</sup>  
 Fonte: Ellis, 2000.

Independente da doença de base, o compartimento que apresenta bons resultados, como índice prognóstico, é o celular. Observam-se estudos em pacientes com câncer, sidéticos, cardiopatas e pacientes cirúrgicos, que demonstraram um bom índice prognóstico <sup>(76, 77)</sup>. Caracterizar a condição nutricional e a condição clínica do cirrótico, precocemente, significa intervenção nutricional precoce e atuação positiva no prognóstico geral do paciente.

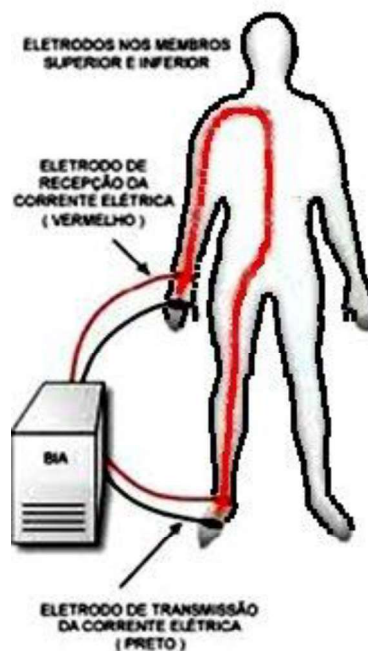
A BIA se caracteriza por ser um método rápido, não invasivo, de baixo custo e portátil (Figura 8), não apresentando qualquer risco ao paciente.



**Figura 8:** Aparelho de Bioimpedância Elétrica tetrapolar.  
 Fonte: Autor

Sua corrente elétrica é imperceptível, pois de baixa amplitude ( $800\mu\text{A}$ ) e alta frequência ( $50\text{KHz}$ ), o suficiente para gerar resistência aos tecidos não condutores de energia e ao mesmo tempo avaliar a viabilidade celular (Figura 9). Nessa avaliação corporal, constam dois parâmetros de grande importância: a resistência corporal ( $R$ ) e a reatância ( $X_c$ ). A  $R$  é a oposição oferecida pelo corpo à passagem da corrente elétrica, sendo inversamente relacionada à água e aos eletrólitos contidos nos tecidos corporais. A  $X_c$  é a capacitância (viabilidade) das propriedades da membrana celular, podendo variar em decorrência de sua integridade, função e composição <sup>(78)</sup>.

**Figura 9:** Passagem da corrente elétrica pelo corpo

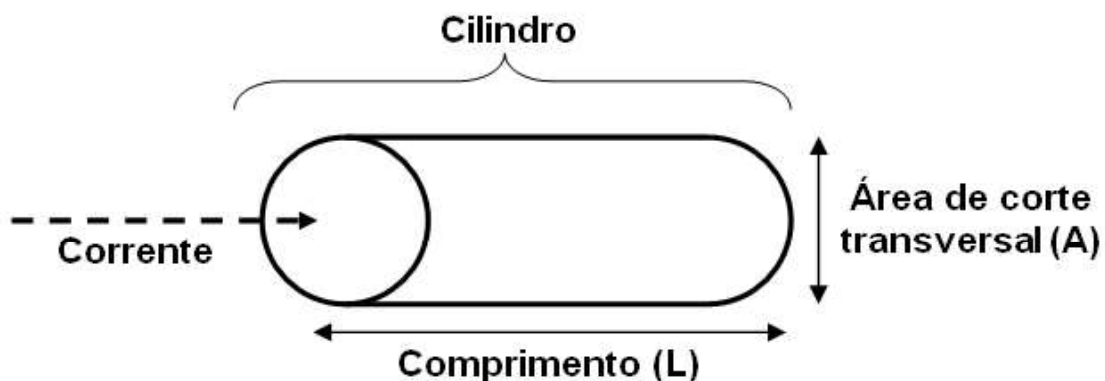


**Figura 9:** Passagem da corrente elétrica pelo corpo  
Fonte: Barbosa-Silva, 2005.

No passado, havia restrições no uso da BIA para indivíduos com assimetria corporal, ou seja, amputações, distúrbios hidroeletrolítico (edema e ascite), obesidade, distrofias e gestações, pois o método BIA parte do pressuposto que o

formato do corpo humano assemelha-se a um cilindro de hidratação constante, de massa magra invariável, com comprimento e área de secção transversal uniformes (Figura 10) <sup>(79, 80)</sup>.

Tecidos de composição hídrica e eletrolítica aumentadas como o fluido cérebro-espinhal, sangue, músculos, são altos condutores elétricos. Já tecidos gordurosos, ossos e o ar que preenche alguns espaços do corpo, como os pulmões, são de alta resistência à corrente elétrica <sup>(81)</sup>. A condutibilidade dos tecidos biológicos é praticamente iônica, ou seja, as cargas elétricas são transferidas pela ionização dos sais, bases, ácidos dissolvidos no fluido corporal. Portanto, a condutibilidade biológica é diretamente proporcional à quantidade do volume do fluido corporal. Por este fato, no paciente que se encontra em estado de hiperhidratação, o valor da massa magra fica superestimado, apresentando alteração no resultado da avaliação corporal, sendo uma das limitações deste método <sup>(80)</sup>.



**Figura 10:** Princípios do método de BIA. <sup>(80)</sup>  
Fonte: Kyle et al., 2004.

O uso da BIA tem demonstrado eficiência na aferição dos compartimentos corporais em diversas situações clínicas como desnutrição, traumas, pré e pós-operatório, doenças hepáticas compensadas, insuficiência renal dialítica e câncer <sup>(80)</sup>.

Alterações no formato do corpo podem influenciar os resultados do exame. Nessas situações, pode ser mais aconselhável o uso de BIA de forma segmentar para obtenção de melhores resultados. Lembrando que a BIA baseia-se na teoria na simetria corporal, onde o nível de hidratação e o percentual de gordura são

constantes, quando nos deparamos com realidades diferentes, com faixa etária, grupo étnico, forma do corpo ou condições clínicas diversas, não se dispõe de equações "universais", utilizadas em todas as situações, sendo necessário outro parâmetro como ponto de referência <sup>(78, 82)</sup>.

Frente a estas diversidades, o parâmetro de bioimpedância clinicamente estabelecido é o ângulo de fase (AF). O ângulo de Fase é calculado a partir da fórmula que considera a Resistência ( $R$ ) e Reatância ( $X_c$ ):

$$\text{AF} = \text{arco tangente}(X_c/R) \times 180/\pi$$

O AF ganhou popularidade nos últimos anos, pois mostra ser altamente preditivo de evolução clínica em uma variedade de doenças. Estudos mais recentes reportam que os valores do AF apresentam boa correlação com parâmetros de evolução clínica da doença estudada <sup>(80)</sup>.

O ângulo de fase é um método rápido, aplicável na clínica (Figura 11), e reflete a vitalidade e integralidade celular, onde os valores mais elevados indicam a atividade celular preservada <sup>(83, 84)</sup>. Em indivíduos saudáveis, o AF pode variar entre  $6^\circ$  e  $7^\circ$  <sup>(85)</sup>, em valores abaixo de  $5.4^\circ$  é indicativo de mau prognóstico para cirróticos <sup>(86)</sup>.



**Figura 11:** Paciente cirrótico sendo avaliado pela bioimpedância elétrica.

Fonte: Autor

O conhecimento do AF associado às características clínicas da cirrose possibilitou transpor a experiência clínica em humanos para a bancada experimental, utilizando o modelo de indução de cirrose por tetracloreto de carbono, que mimetiza as características clínicas de cirrose humana, inclusive a desnutrição proteico calórica, e assim avaliar, funcional e estruturalmente, as células hepáticas de ratos cirróticos (Figura 12).



**Figura 12:** Animal cirrótico sendo avaliado pela Bioimpedância elétrica.  
Fonte: Autor

Há estudos que comparam o AF com demais métodos de avaliação nutricional.

## 1.6 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

A avaliação do estado nutricional nos pacientes cirróticos representa um desafio para a equipe multidisciplinar, pela presença de alterações decorrentes da própria doença, que aumentam a limitação dos métodos usuais utilizados e requerem uma atenção redobrada do profissional nutricionista, que deve utilizar o maior número possível de parâmetros para sustentar a confiabilidade dos resultados.

A avaliação do estado nutricional tem como objetivo identificar os distúrbios nutricionais, possibilitando uma intervenção terapêutica para auxiliar na recuperação e/ou manutenção do estado de saúde do paciente. Essa avaliação deve ser realizada periodicamente e pode se tornar um indicador de sobrevida do doente com hepatopatia crônica <sup>(87)</sup>.

Um dos componentes da avaliação nutricional é a verificação da composição corporal, que quantifica os principais componentes estruturais do corpo humano. O tamanho e a forma corporais são determinados pela carga genética e formam a base sobre a qual são dispostos, em proporções variadas, os três maiores componentes estruturais do corpo humano: osso, músculo e gordura. Esses componentes são também as maiores causas da variação da massa corporal <sup>(88)</sup>.

Conforme descrição de Heryward e Stolarczyc <sup>(89)</sup>, a composição corporal compreende a Massa de Gordura (MG), que se refere a todos os lipídios extraídos do tecido adiposo e outros tecidos do corpo, e a Massa Livre de Gordura (MLG) ou Massa Corporal Livre de Gordura (MCLG), que são todos os tecidos e resíduos livres de lipídeos, incluindo água, músculos, ossos, tecidos conjuntivos e órgãos internos. Outro compartimento corporal é a Massa Corporal Magra (MCM) composta de lipídeos essenciais (fosfolipídios), necessários para a formação da membrana celular (~ 10% dos lipídeos corporais totais).

Compartimentalizando as gorduras temos a Gordura Subcutânea, que se caracteriza como tecido adiposo acumulado sob a pele. A Gordura Visceral é o tecido acumulado dentro e ao redor dos órgãos das cavidades torácica (coração, pulmões) e abdominal (fígado, rins e outros). A Gordura Intra Abdominal é a gordura visceral da cavidade abdominal, a Gordura Abdominal é a gordura subcutânea e visceral da região abdominal <sup>(89)</sup>.

Os padrões de referência de massa gorda, segundo Lohman <sup>(90)</sup>, estão dispostos conforme o gênero masculino e feminino, e, em percentuais dos níveis de gordura, o qual indica fator de risco para doenças associadas com a massa gorda como anorexia, câncer, cardiopatia ou obesidade.

O padrão de normalidade de massa gorda para o gênero masculino é de 15% e o feminino é de 23% <sup>(90)</sup>. Para o gênero masculino, valores entre 6-14% de gordura podem representar risco moderado quando associados a alguma doença; para o gênero feminino, temos valores maiores de 9-22%. Risco elevado para baixo percentual de gordura está determinado para o gênero masculino  $\leq 5\%$  e, para o

feminino,  $\leq 8\%$ . O mesmo risco também ocorre com valores acima da média, quando associado às diferentes doenças, onde 16-24% representa médio risco para o gênero masculino, enquanto para o gênero feminino é de 24-31%. Existe também risco elevado quando se obtêm valores  $\geq 25\%$  para o gênero masculino e para o feminino  $\geq 32\%$  <sup>(91)</sup>.

A observação desses dados permite identificar que parâmetros isolados não caracterizam a condição nutricional dos cirróticos, pois sua estrutura corporal é modificada pela da doença. Portanto, é interessante empregar uma associação de métodos para melhorar a precisão e a acurácia da avaliação corporal e o diagnóstico nutricional, razão pela qual a avaliação deve consistir de métodos variados como o antropométrico, a dinamometria, a bioimpedância e avaliações clínica e bioquímica <sup>(92)</sup>.

### **1.6.1 Avaliação antropométrica**

A avaliação antropométrica é a medida do tamanho corporal e de suas proporções de maneira estática. As medidas mais utilizadas na prática diária de avaliação nutricional nos indivíduos são o peso, a estatura, a prega cutânea tricipital (PCT), a circunferência do braço (CB) e a circunferência muscular do braço (CMB), o Índice de Massa Corporal (IMC) e circunferência do pulso (CP). A análise e classificação do conjunto dos dados coletados devem ser comparados com parâmetros de referência <sup>(93, 94)</sup>.

O peso e a altura devem ser aferidos de acordo com técnicas padronizadas <sup>(89)</sup>. A relação peso-altura foi proposta por Quetelet em 1853 e é conhecida como IMC ou índice de Quetelet. Sua classificação mais difundida segue a proposta do comitê Organização Mundial da Saúde (FAO/OMS -1995) <sup>(94)</sup>.

Os pacientes hepatopatas apresentam, na evolução da doença, alterações corpóreas significativas, principalmente quanto ao peso corporal pela presença de edema e ascite, razão pela qual o IMC não parece um método adequado para o diagnóstico nutricional, pois nos fornece um resultado alterado devido às distorções corporais do cirrótico <sup>(95, 96, 97)</sup>.

A medida da PCT estima indiretamente a massa de gordura, através da medida da espessura de duas camadas de pele e a gordura subcutânea adjacente, estimando assim a espessura do tecido adiposo subcutâneo. É um bom método de avaliação de cirróticos, embora alguns estudos tenham encontrado uma baixa prevalência de desnutridos, quando comparado a outros métodos <sup>(98, 99)</sup>.

Para determinar a quantidade de massa muscular, o parâmetro antropométrico utilizado é a CMB <sup>(100)</sup>. A CMB é derivada da CB e a da PCT. Sua classificação é feita em percentis <sup>(93)</sup>.

### **1.6.2 Avaliação subjetiva global**

Durante anos a Avaliação Subjetiva Global (ASG) tem sido amplamente utilizada nas diferentes populações. É um método clínico com questões de fácil reprodutibilidade sobre a história, sinais, sintomas e condições físicas do indivíduo focadas no aspecto nutricional <sup>(101)</sup>. A história clínica avalia elementos como perda de peso nos últimos seis meses, modificação quantitativa da dieta, presença de sintomas gastrointestinais, avaliação da capacidade funcional e alterações metabólicas. No exame físico, são avaliados dados como perda de gordura subcutânea, perda de massa muscular e presença de líquido no espaço extracelular. Após análise de todos esses aspectos, cada item é numerado, é feito o somatório destes pontos e obtido um escore que fornece o diagnóstico nutricional. De posse deste dado, o paciente é classificado em categoria A (bem nutrido), B (moderadamente nutrido ou suspeita de risco nutricional), ou C (gravemente mal nutrido) <sup>(102, 103, 104)</sup>.

Detsky e col. <sup>(104)</sup> demonstraram uma boa concordância ( $\kappa=0,72$ ) quando os autores avaliando pacientes hospitalizados, observaram um índice de acerto de > 90% por pacientes entre dois observadores diferentes <sup>(105, 106)</sup>. A ASG tem se mostrado um método de credibilidade no diagnóstico nutricional de complicações no pós-operatório de cirurgias gerais, transplante hepático e com pacientes em diálise <sup>(107)</sup>.

Alguns estudiosos não são adeptos deste método clínico por ser constituído de itens qualitativos. Nos pacientes com cirrose, é difícil precisar a alteração ponderal, pois podem ter aumento pela ascite e retenção hídrica.

### 1.6.3 Avaliação da força do aperto de mão não dominante

A avaliação da Força do Aperto de Mão (FAM) se dá pela dinamometria, que refere-se a todo o tipo de processo que tem em vista a medição de forças, bem como a medição da distribuição de pressões <sup>(1)</sup>, classificando o estado nutricional dos indivíduos por gênero e faixa etária.

O estudo da dinamometria parte do pressuposto de que, com a desnutrição protéico-calórica, ocorre diminuição da massa muscular, dificultando as funções motoras <sup>(1, 108)</sup>.

Essas alterações na atividade muscular podem ser um indicador do estado nutricional e mensurado com a mão não dominante, sendo um dos métodos empregados para obter o estado nutricional do paciente, podendo identificar o quadro de desnutrição precocemente <sup>(1, 108)</sup>.

Em meados dos anos 90, a *European Support Parenteral and Enteral Nutrition* <sup>(99)</sup> sugeriu o uso de FAM para pacientes com doença hepática crônica como um bom método para diagnosticar desnutrição. Estudos internacionais dessa mesma época referem-se ao método como ideal para pacientes com complicações cirúrgicas, uma vez que se trata de um método sensível e eficaz para diagnóstico de risco nutricional <sup>(109, 110, 111)</sup>.

Estudos nacionais com pacientes cirróticos demonstraram superioridade no método FAM, quando comparado com ASG, no diagnóstico de desnutrição, pois se trata de um método simples, de baixo custo, útil e não sofre influência das eventuais presenças de ascite e/ou edema <sup>(105, 112, 113)</sup>.

## 1.7 ZINCO

Em pacientes cirróticos, não apenas são evidenciadas alterações na composição corporal em detrimento do processo catabólico da doença *per se*, mas também, carências de vitaminas e minerais importantes para o processo de homeostase, como é o caso do zinco.

O zinco (Zn) é um micronutriente essencial necessário para mais de 300 processos celulares diferentes, incluindo síntese proteica e do DNA, atividades de enzimas e sinalização intracelular <sup>(114)</sup>.

O zinco está envolvido na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a peroxidação lipídica, ação comum de um antioxidante. O Zn apresenta mecanismo de proteção de grupos sulfidrilas contra oxidação e na inibição da produção de espécies reativas de oxigênio por metais de transição como ferro e cobre <sup>(115)</sup>.

O zinco participa na formação da superóxido dismutase (SOD), observando redução dessa enzima na deficiência desse mineral. Além disso, o zinco induz monócitos à formação de interleucinas-1 e 6 e inibe a produção de TNF $\alpha$ , cascata pró-inflamatória característica em um processo de desnutrição <sup>(115)</sup>.

Diversas doenças, entre elas a cirrose, afetam de forma negativa a regulação, metabolização e transporte do zinco, por impedir a replicação das proteínas transportadoras <sup>(116)</sup>.

Essa alteração metabólica implica negativamente na estabilidade genômica, pois o Zn participa de diversos processos celulares importantes como a replicação do DNA, síntese de proteínas essenciais para a proliferação celular, diferenciação celular, parada do crescimento celular, divisão celular, transdução de sinal, codificação de receptores nucleares e de fatores de transcrição nuclear <sup>(117)</sup>.

Grande parte da absorção do Zn ocorre no intestino delgado, via jejunal, por transporte transcelular. Tal transporte retarda sua saturação, possibilitando um aumento de absorção, pois aumenta a concentração de zinco no lume do intestino. Além disso, a expressão de transportadores de Zn no intestino delgado será proporcional à quantidade de Zn consumida na dieta. Assim, a absorção de zinco fica aumentada em dietas pobres em zinco, resultando numa expressiva diminuição de perda desse metal por via intestinal <sup>(118, 119)</sup>.

No processo de absorção, o zinco fica temporariamente retido nas células intestinais, associando-se à metalotioneína, mantendo-se como uma reserva de disponibilidade imediata, associando-se ao metal proveniente da dieta <sup>(118, 119)</sup>. O armazenamento do Zn no organismo se dá principalmente no músculo esquelético e nos ossos. Uma pequena parte (10%) é encontrada no fígado e na pele <sup>(118, 119)</sup>.

Uma característica significativa do Zn é que ele se liga fortemente à albumina e a outras proteínas em pH próximo do neutro. Sua absorção é dependente da ingestão de proteína, ou seja, baixo consumo proteico interfere negativamente na sua absorção <sup>(118, 120)</sup>. Altas concentrações de fitatos, fibras na dieta, também reduzem a absorção de Zn.

O Zn possui grande afinidade pela albumina, e, sabidamente, o órgão responsável pela produção dessa proteína é o fígado, que desempenha um papel central na homeostase do zinco, pois é capaz de promover rápida reposição do metal, pelo controle de armazenamento, via efeito de primeira passagem <sup>(120, 121)</sup>. O paciente cirrótico pode apresentar, portanto, um alto déficit na produção de albumina e respectivamente na concentração de Zn sanguíneo <sup>(118, 119)</sup>.

A deficiência acentuada de Zn causa sintomas como anorexia, pois o Zn tem grande atividade nos neurônios glutamérgicos, e o seu déficit pode gerar intolerância à glicose pela diminuição na produção de insulina. Mas o sintoma que deve ser destacado, por potencializar a desnutrição destes pacientes, é a disgeusia<sup>(122, 123)</sup>.

Diferentes autores interligam essa alteração de paladar à deficiência do Zn, pois o metal é um componente da gustina, uma proteína envolvida no processo-paladar <sup>(122, 124)</sup>.

## 1.8 SISTEMA GUSTATÓRIO

### 1.8.1 Língua humana

A língua é o principal órgão do corpo humano no processo do gosto, embora estruturas como a faringe, palato e epiglote também apresentem pequena sensibilidade a este sentido.

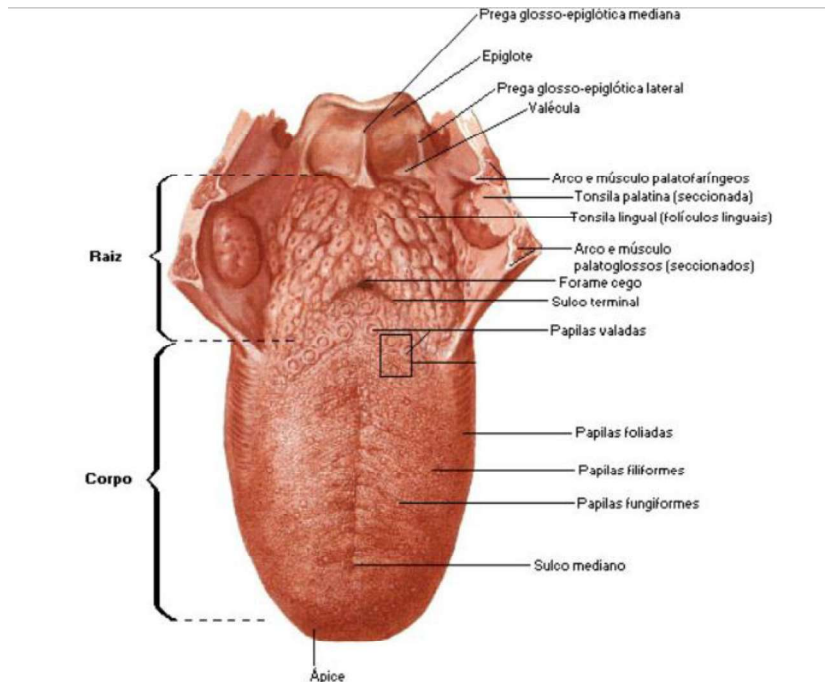
A língua é um órgão muscular localizado no assoalho da boca, sua raiz é a parte posterior, o ápice encontra-se na extremidade anterior e o dorso está dividido por um sulco médio em metades simétricas, como ilustra a Figura 13. Contribui na mastigação, colocando os alimentos entre os dentes e desempenha um importante papel na deglutição e na articulação dos sons da fala <sup>(1)</sup>.

O corpo da língua apresenta um aspecto característico em função da presença de pequenas saliências, denominadas de papilas linguais ou gustativas, que se distribuem em grande quantidade adiante do sulco terminal (Figura 13). As papilas gustativas são pequenos apêndices cheios de células sensoriais. Essas células estão ligadas ao nosso cérebro por fibras nervosas <sup>(1)</sup>.

As papilas da língua são formadas por tecido conjuntivo recoberto por epitélio estratificado pavimentoso e, por seu aspecto, são classificadas em quatro tipos: filiformes, fungiformes, caliciformes ou circunvaladas e foliáceas ou foliadas <sup>(1)</sup>.

As papilas filiformes são as mais abundantes e menores, seu epitélio queratinizado confere à língua uma cor acinzentada. As fungiformes são isoladas e dispersas em espaços regulares entre as papilas filiformes, em menor quantidade e apresentam formato de cogumelo. Seu tecido conjuntivo é bem vascularizado, seu epitélio é mais delgado devido à menor queratinização.

As circunvaladas são em número de sete a dez, formando um V no sulco terminal da língua, o epitélio não é queratinizado e, ao redor de cada uma delas, há uma invaginação circular, no fundo da qual desembocam os ductos excretores de glândulas serosas, as glândulas de von Ebner. Por fim, as papilas foliadas estão localizadas nas laterais da porção dorsal e posterior da língua. Nas bordas das papilas foliadas, encontramos numerosos corpúsculos gustativos <sup>(1)</sup>.

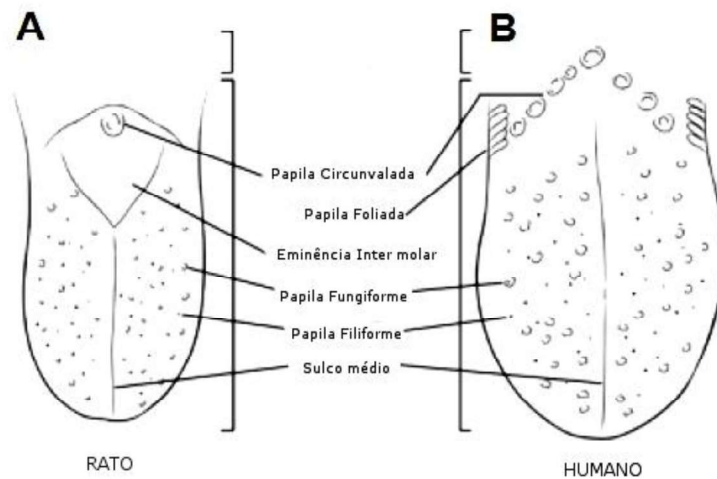


**Figura 13:** Estrutura anatômica da língua humana. <sup>(125)</sup>  
 Fonte: Netter, 2000.

### 1.8.2 Língua de ratos

A língua de diferentes mamíferos não difere quanto à estrutura do tecido epitelial. Entretanto, quando comparamos a língua de humanos à língua dos ratos, notamos diferenças no grau de queratinização. A língua dos roedores apresenta queratinização uniforme e espessa, justamente em função de sua alimentação <sup>(126)</sup>.

Suas papilas gustativas são divididas em circunvaladas, fungiformes e filiformes, não havendo papilas foliadas como nos humanos. Entretanto, encontramos apenas uma papila circunvalada no sulco terminal, não apresentando a distribuição em V como na língua humana. As filiformes são em maior número, com menor diâmetro e estão distribuídas pelo dorso da língua. As fungiformes se assemelham às papilas humanas no que se refere à localização e tamanho, porém, em menor número, estão distribuídas entre as filiformes por todo o dorso da língua <sup>(126)</sup>. A Figura 14 ilustra uma comparação da língua humana com a língua de rato.



**Figura 14:** Diagrama da língua humana e de ratos <sup>(126)</sup>.

Fonte: Jung; Akita; Kim, 2004.

### 1.8.3 Paladar

O paladar é a função sensorial que permite a percepção dos sabores pela língua e sua transmissão, através do nervo gustativo ao cérebro, onde são codificados e analisados.

O paladar pode ser compreendido como um sistema fisiológico regulatório no processo da homeostase corporal, pois através dele é que podemos identificar inúmeras carências do corpo humano, como necessidade de glicose, aminoácidos, alimentos cítricos para obtenção de determinadas vitaminas. Essa identificação é feita através dos cinco gostos <sup>(127)</sup>.

Até recentemente, os pesquisadores estabeleciam quatro propriedades básicas ao paladar, sendo estas o doce, amargo, azedo e o salgado <sup>(128, 129)</sup>. Atualmente, houve a inclusão do umami como o quinto gosto básico. Esse gosto também atua como salientador do sabor do alimento <sup>(129)</sup>.

Os seres humanos reconhecem o gosto através de uma sensação decorrente da cavidade oral, e que fornece informações quanto à qualidade química dos alimentos, o que nos permite identificar alimentos em estado de decomposição, adição de substâncias estranhas, conferindo caráter protetor <sup>(127)</sup>.

Os alimentos são complexos e possuem várias dimensões que envolvem diferentes sistemas sensoriais. Essa interação sistêmica, que por sua vez envolve textura, odores, formas e gostos, gera percepções quanto ao consumo e à necessidade de determinados alimentos. Assim, a qualidade sensorial dos alimentos é percebida como resultado da interação entre o alimento e o indivíduo que o consome.

Existem denominações para distúrbios que envolvem o paladar. Quando a sensibilidade do paladar está diminuída, classifica-se por hipogeusia; a sensibilidade alterada denomina-se disgeusia e, por fim, a ageusia é a ausência de paladar <sup>(130)</sup>.

A diminuição do paladar pode estar associada ao quadro clínico de desnutrição <sup>(131)</sup> ao diabetes melito, doença de Cushing, hipertensão arterial sistêmica, obesidade <sup>(132, 133)</sup>, adrenalectomia <sup>(134)</sup>, neoplasias e doenças crônicas <sup>(132, 133, 135)</sup>, ao consumo de medicamentos, radioterapia e intervenções cirúrgicas <sup>(88)</sup>, ao envelhecimento <sup>(136)</sup>, à composição da saliva <sup>(126, 135)</sup>, ao hábito de fumar e aos hábitos alimentares, ao humor e às sensações de fome ou de saciedade <sup>(128, 137)</sup>.

Na cirrose, além de fatores nutricionais que possam implicar a palatabilidade, as medidas terapêuticas dietéticas restritivas e as complicações da doença podem alterar qualitativamente a dieta, tornando-a deficiente.

Na doença avançada é que há restrição severa de proteínas de alto valor biológico, de sódio, de fluidos, de gorduras e de hidratos de carbono, que interfere negativamente na palatabilidade, acentuando o quadro de desnutrição e piorando a cirrose <sup>(138, 139)</sup>.

A terapia medicamentosa utilizada no tratamento das complicações da cirrose, como neomicina, lactulose e diuréticos, pode ocasionar complicações como diarreia e atrofia das vilosidades do trato gastrointestinal, incluindo a cavidade oral, originando má absorção de folatos, zinco, potássio, magnésio e vitaminas lipossolúveis. Nos pacientes hospitalizados, outros complicadores, como o jejum prolongado e repetido, para realização de procedimentos diagnósticos e terapêuticos, e as alterações neuro-psiquiátricas da encefalopatia porto-sistêmica, desencadeiam o círculo vicioso de desnutrição, dieta restritiva e terapia medicamentosa <sup>(139, 140)</sup>.

O estado nutricional do cirrótico e as suas deficiências associadas à evolução clínica poderiam ser acompanhadas por um índice prognóstico que revelasse uma

ferramenta prática de auxílio no diagnóstico e prognóstico da desnutrição, onde a disgeusia poderia ser um sintoma relevante neste quadro.

A disgeusia tem relação direta com a característica das papilas gustativas. As papilas gustativas apresentam quatro tipos de células, tipo I, II, III e IV, sendo estas responsáveis pela transdução de sinal do gosto e, conforme a doença que o paciente pode apresentar, essas células podem apresentar desestruturação.

#### *1.8.3.1 Células tipo I*

As células tipo I são as mais abundantes no sistema gustatório dos mamíferos<sup>(141)</sup> e são responsáveis pela hidrólise de uma porção de ATP extracelular<sup>(142)</sup> que é um neurotransmissor do paladar assim como o glutamato. As células do tipo I parecem estar envolvidas na transmissão sináptica que encerra e restringe a propagação de sinal pelo transmissor, realizado no sistema nervoso central pelas células gliais<sup>(143)</sup>.

Além disso, as células tipo I apresentam um poder de homeostase através de canais de  $K^+$ <sup>(144)</sup>. Durante cursos prolongados de potenciais de ação excitados por estimulação de sabor intenso, as células do tipo I liberam  $K^+$  que se acumula nos espaços limitados intersticiais da papila gustativa e diminuem a excitabilidade dos demais tipos de células. Assim, as células do tipo I parecem funcionar como células gliais em papilas gustativas<sup>(145)</sup>.

Células do tipo I podem apresentar correntes iônicas implicadas na transdução de sinal gosto<sup>(146)</sup>. Apesar de ser o tipo de célula mais abundante no paladar, muito pouco se conhece sobre as células do tipo I.

#### *1.8.3.2 Células tipo II*

As células do tipo II funcionam dentro das papilas gustativas e incorporadas à membrana plasmática destas células, onde estão os receptores que se ligam a compostos amargos, doces, ou umami. Estes receptores de sabor são acoplados à

proteína GPCR – proteína G (segundo mensageiro) de receptores com sete domínios transmembranares <sup>(147, 148)</sup>.

As células do tipo II expressam canais de íons de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> essenciais para a produção de potenciais de ação e subunidades estruturais de leitores de “chave” para secreção de ATP. Qualquer tipo de célula tipo II pode se ligar à família de proteínas GPCR – proteína G específica para identificar sabor, tais como doce ou amargo, mas não ambos <sup>(149)</sup>.

Em reconhecimento de seu papel como os detectores principais destas classes de paladar, as células do tipo II foram renomeadas células "receptoras". Células do tipo II não parecem ser diretamente estimuladas por ácido ou salgado <sup>(150)</sup>.

As células receptoras não formam ultraestrutura capaz de realizar sinapses para determinados sabores. Presumivelmente, as fibras nervosas dessas células apresentam diferentes formas de ligações sinápticas aferentes. Os sinais transmitidos a partir de células sensoriais receptoras aferentes ou outras células dentro da papila gustativa devem ser feitos através de mecanismos não convencionais, isto é, sem o envolvimento de vesículas sinápticas <sup>(151, 152, 153, 154)</sup>.

### 1.8.3.3 Células tipo III

O consenso é que as células do tipo III expressam proteínas associadas às sinapses e que formam junções sinápticas com terminais nervosos <sup>(153, 154)</sup>. Estas células expressam certo número de genes, moléculas de adesão de células de superfície, enzimas para a síntese de, pelo menos, dois neurotransmissores e os canais íons de Ca<sup>++</sup> tipicamente associados com a libertação de neurotransmissores <sup>(150)</sup>.

As células do tipo III, que expressam proteínas sinápticas e rápida despolarização dependente de Ca<sup>++</sup>, são caracterizadas como "pré-sinápticas" <sup>(151)</sup>. As células tipo III, por serem receptoras de sinal (células pré-sinápticas), são também excitáveis e expressam um complemento de canais de Na<sup>+</sup> e canais de K<sup>+</sup> para apoiar potenciais de ação <sup>(146, 155, 156)</sup>.

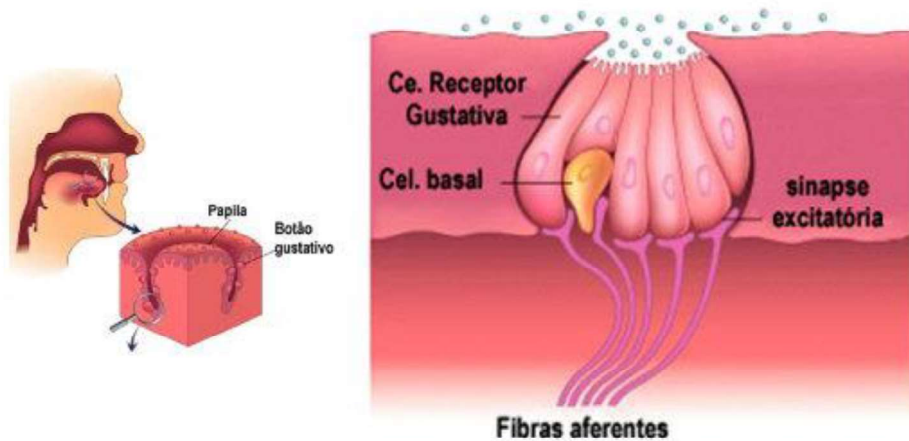
A inervação onde ocorre a sinapse das células do tipo III, que parece ser por ligações aferentes, não é conhecida. Além das propriedades neuronais acima citadas, as células pré-sinápticas também respondem diretamente a estímulos ao gosto amargo e soluções carbonatadas e são, presumivelmente, as células responsáveis pela sinalização dessas sensações <sup>(157)</sup>.

#### *1.8.3.4 Células tipo IV*

A célula tipo IV é caracterizada por apresentar forma esférica ou ovoide que não se estende para processos do sabor e é susceptível de ser célula indiferenciada do paladar ou imatura <sup>(158)</sup>.

Alguns estudiosos identificam as células tipo IV como repositoras no processo de apoptose das demais. Essa classe de célula seria a progenitora, garantindo a homeostase dos demais grupos. Suas reais funções e caracterização como célula basal estão para ser esclarecidas <sup>(159)</sup>.

A Figura 15 resume a função das células do botão gustativo.



**Figura 15:** Células do botão gustativo e suas funções <sup>(160)</sup>  
 Fonte: Os Sentidos..., 2012.

#### 1.8.3.5 Fibras nervosas

Há diferenças de sensibilidade de paladar em função da célula gustativa, iniciando por sua localização (região anterior ou posterior da língua), preservação de estrutura para percepção aos diferentes gostos (sal, amargo, azedo, doce e umami)<sup>(161)</sup>.

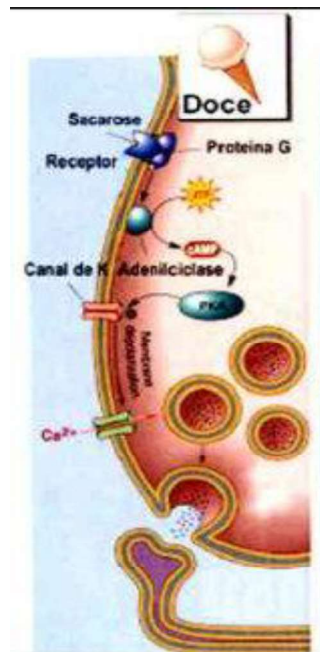
Existem diferenças na expressão de genes entre papilas fungiformes e papilas circunvaladas bem como na capacidade de resposta das células da papila gustativa a estímulos de sabor <sup>(162)</sup>.

A família T1R (receptor de paladar hétero-oligomérico) é composta de três receptores específicos acoplados aos receptores proteína G, T1R1, T1R2 e T1R3, os quais são conhecidos por terem padrões distintos de expressão. O T1R1 é expresso em todas as papilas fungiformes, mas é raro nas papilas circunvaladas. Em contraste, T1R2 raramente é expresso em papilas fungiformes, entretanto está expresso em todas as papilas gustativas circunvaladas <sup>(163)</sup>. O T1R3 é fortemente expresso tanto em papilas fungiformes quanto nas circunvaladas, e formam um receptor de aminoácido e um receptor doce em combinação com T1R1 e T1R2, respectivamente.

Esses padrões de expressão sugerem que as respostas de sabor doce ocorrem principalmente nas células de papilas gustativas circunvaladas através do heterodímero de T1R2 e T1R3, e que respostas de aminoácidos gustativos ocorrem em papilas fungiformes através do heterodímero de T1R1 e T1R3. No entanto, estudos fisiológicos em ratos mostraram que as células receptoras gustativas na região anterior, bem como na região posterior da língua, foram sensíveis a ambas as substâncias, ou seja, doces e amino-ácidos <sup>(164)</sup>.

Na tentativa de elucidar o déficit calórico diário observado no consumo alimentar do cirrótico associado à desnutrição proteico calórica e a uma aversão ao sabor doce referida na clínica por estes pacientes, direcionamos o estudo para possíveis alterações ao gosto doce.

O maior avanço em nosso entendimento da percepção doce foi o reconhecimento de que o receptor do gosto doce é similar a muitos outros mecanismos de sinalização no corpo. O receptor de gosto doce é uma proteína transmembrana presente na membrana da célula que é acoplada ao sistema proteína G (segundo mensageiro). A ligação de um substrato de doce ao receptor causa uma alteração de conformação na proteína receptora que afeta a sua associação com a proteína-G. A proteína G associada com o receptor de sabor doce é a alfa gustaducina, que, como a maioria das proteínas-G, compreende subunidades alfa, beta e gama, e está do lado citoplasmático da membrana celular. A ligação de um composto doce para o receptor provoca a dissociação da alfa gustaducina do receptor, o que desencadeia eventos intracelulares, tais como a abertura de canais iônicos ou a geração de outros sinais bioquímicos. Para percepção de doce, duas proteínas G acopladas a receptores, proteínas transmembranares e T1R2, T1R3, dimeriza para formar o receptor de sabor doce, como observado na Figura 16.



**Figura 16:** Reações químicas do gosto doce <sup>(165)</sup>  
 Fonte: Vilela, 2012.

Estimulação do receptor de gosto T1R2 + T1R3 ativa nervos periféricos gustativos e, por sua vez, via gustativas cerebrais. Sabores doces compostos, tais como os açúcares e adoçantes de baixa energia, podem ligar-se e estimulam os receptores de sabor doce. <sup>(166, 167)</sup>

De posse dessas informações relacionadas a cirrose, acreditamos que a estruturação dessa linha de raciocínio poderá elucidar questionamentos referentes à DPC do cirrótico, facilitando o manejo nutricional desta população.

## REFERÊNCIAS

- 1 Guyton AC, Hall JE. Tratado de fisiologia médica. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
- 2 Rappaport AM. Hepatic blood flow: morphologic aspects and physiologic regulation. *Int Rev Physiol.* 1980;21:1-63.
- 3 Lamers WH, Hilberts A, Furt E, Smith J, Jonges GN, van Noorden CJ et al. Hepatic enzymic zonation: a reevaluation of the concept of the liver acinus. *Hepatology.* 1989;10(1):72-6.
- 4 Gumucio JJ, Guilbert EG. Zonal transport na funcional comportament o f the liver acinus. In: Tavoloni N, Berk PD. *Hepatic transport and bile secretion physiology and pathobiology.* New York: Raven Press; 1993. p. 71-82.
- 5 Sherlock S, Dooley J. *Doenças do fígado e do sistema biliar.* 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
- 6 Seeley R, Stephens T, Tate P. *Anatomia e Fisiologia.* 3ª. ed. Lisboa: Lusodidacta; 2001.
- 7 Cirrose hepática biliar [homepage na internet]. 2009. [Acesso em 2012 maio 16].
- 8 Friedman SL. Liver fibrosis: from bench to bedside. *J Hepatol.* 2003;38 Suppl 1:S38-53.
- 9 Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev.* 2008;88(1):125-72.
- 10 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology.* 2008;134(6):1655-69.
- 11 Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica.* 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
- 12 Watanabe T, Kudo M, Chiba T, Wakatsuki Y. Molecular mechanisms of portal vein tolerance. *Hepatol Res.* 2008;38(5):441-9.
- 13 Gibney MJ, MacDonald IA, Roche HM. *Nutrição e metabolismo.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. 380 p.
- 14 Mahan KL, Escott-Stump S. *Krause alimentos, nutrição & dietoterapia.* 11ª ed. São Paulo: Roca; 2005.
- 15 Bertelli MS, Conci FM. *Álcool e fígado.* Caxias do Sul: Educs; 1997.

- 16 Mattos AA, Dantas-Corrêa EB. Tratado de hepatologia. Rio de Janeiro: Rubio; 2010.
- 17 Melato M, Sasso F, Zanconati F. Liver cirrhosis and liver cancer. A study of their relationship in 2563 autopsies. *Zentralbl Pathol.* 1993;139(1):25-30.
- 18 Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC. Schiff's diseases of the liver. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
- 19 Amália PM, Possa MN, Augusto MC, Francisca LS. Quercetin prevents oxidative stress in cirrhotic rats. *Dig Dis Sci.* 2007;52(10):2616-21.
- 20 Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2008;371(9615):838-51.
- 21 Friedman SL. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2004;1(2):98-105.
- 22 Bianchi G, Marzocchi R, Lorusso C, Ridolfi V, Marchesini G. Nutritional treatment of chronic liver failure. *Hepatol Res.* 2008;38(Suppl 1):S93-S101.
- 23 Campillo B, Chapelain C, Bonnet JC, Frisdal E, Devanlay M, Bouissou P et al. Hormonal and metabolic changes during exercise in cirrhotic patients. *Metabolism.* 1990;39(1):18-24.
- 24 Bianchi G, Marchesini G, Zoli M, Bugianesi E, Fabbri A, Pisi E. Prognostic significance of diabetes in patients with cirrhosis. *Hepatology.* 1994;20(1 Pt 1):119-25.
- 25 Mezey E. Interaction between alcohol and nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis.* 1991;11(4):340-8.
- 26 Megyesi C, Samols E, Marks V. Glucose intolerance and diabetes in chronic liver disease. *Lancet.* 1964;290(7225):1051-6.
- 27 Müller MJ, Böker KH, Selberg O. Are patients with liver cirrhosis hypermetabolic? *Clin Nutr.* 1994;13(3):131-44.
- 28 Petrides AS, DeFronzo RA. Glucose metabolism in cirrhosis: a review with some perspectives for the future. *Diabetes Metab Rev.* 1989;5(8):691-709.
- 29 Caly WR, Strauss E. A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 1993;18(3):353-8.
- 30 Merli M, Riggio O, Romiti A, Ariosto F, Mango L, Pinto G. et al. Basal energy production rate and substrate use in stable cirrhotic patients. *Hepatology.* 1990;12(1):106-12.
- 31 Müller MJ. Malnutrition in cirrhosis. *J Hepatol.* 1995;(23 Suppl 1):31-5.
- 32 Plauth M, Schütz ET. Cachexia in liver cirrhosis. *Int J Cardiol.* 2002;85(1):83-7.

- 33 Kalaitzakis E, Simrén M, Olsson R, Henfridsson P, Hugosson I, Bengtsson M et al. Gastrointestinal symptoms in patients with liver cirrhosis: associations with nutritional status and health-related quality of life. *Scand J Gastroenterol*. 2006;41(12):1464-72.
- 34 Madden AM, Bradbury W, Morgan MY. Taste perception in cirrhosis: its relationship to circulating micronutrients and food preferences. *Hepatology*. 1997;26(1):40-8.
- 35 Fanelli FR, Laviano A, Muscaritoli M, Preziosa I, Ariemma S, Cangiano C. Anorexia associated to chronic illnesses: new pathogenic and therapeutic insights. *Rev bras Nutr Clin*. 1995;10:101-6.
- 36 Quigley EM. Gastrointestinal dysfunction in liver disease and portal hypertension. Gut-liver interactions revisited. *Dig Dis Sci*. 1996;41(3):557-61.
- 37 McCullough AJ, Mullen KD, Smanik EJ, Tabbaa M, Szauter K. Nutritional therapy and liver disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 1989;18(3):619-43.
- 38 Campillo B, Bories PN, Leluan M, Pornin B, Devanlay M, Fouet P. Short-term changes in energy metabolism after 1 month of a regular oral diet in severely malnourished cirrhotic patients. *Metabolism*. 1995;44(6):765-70.
- 39 Verboeket Van de Venne WP, Westerterp KR, Hoek Van B, Swart GR. Energy expenditure and substrate metabolism in patients with cirrhosis of the liver: effects of the pattern of food intake. *Gut*. 1995;36(1):110-6.
- 40 Dichi JB. Resposta do metabolismo proteico global (<sup>15</sup>N-Glicina) de pacientes cirróticos desnutridos com diferentes graus de disfunção hepatocelular às ofertas dietéticas crescentes de proteína e/ou energia. [Tese]. Botucatu. SP. Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista, 1997.
- 41 Baaklini CE, Burini RC. Metabolismo do ácido úrico na insuficiência hepática. *Rev Bras Reumatol*. 1993;33(6):242-7.
- 42 Owen OE, Trapp VE, Reichard GA Jr, Mozzoli MA, Moctezuma J, Paul P. et al. Nature and quantity of fuels consumed in patients with alcoholic cirrhosis. *J Clin Invest*. 1983;72(5):1821-32.
- 43 Kondrup J, Nielsen K, Juul A. Effect of long-term refeeding on protein metabolism in patients with cirrhosis of the liver. *Br J Nutr*. 1997;77(2):197-212.
- 44 Capacci MLL, Silva AT. Insuficiência hepática: fisiologia, manejo e papel da nutrição parenteral. In: Riella MC. Suporte nutricional parenteral e enteral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. p. 108.
- 45 Muto Y, Yoshida T, Yamatoh M. Clinical assessment of nutritional status in patients with liver cirrhosis with special reference to plasma amino acid imbalance. *J Clin Biochem Nutr*. 1986;1(1):89-95.

- 46 Fischer JE. Amino acid dearangements in hepatic failure. In: grenne HL, Holliday MA, Munro HN. Clinical nutrition update amino acids. Illinois: American Medical Association, 1977. p.174-82.
- 47 Rivera Irigoien R, Abilés J. Nutritional support in patients with liver cirrhosis. *Gastroenterol Hepatol.* 2012;35(8):594-601.
- 48 Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. In: Child CG. The liver and portal hypertension. Philadelphia: Saunders; 1964. p. 50-64.
- 49 Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973;60(8):646-9.
- 50 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(1):217-31.
- 51 Brandão A, Marroni C. Modelos prognósticos de sobrevivida. In: Mattos AA, Dantas-Correa EB. Tratado de Hepatologia. Rio de Janeiro: Rubio; 2010. p. 867-76.
- 52 Huo TI, Wu JC, Lin HC, Lee FY, Hou MC, Lee PC et al. Evaluation of the increase in model for end-stage liver disease (DeltaMELD) score over time as a prognostic predictor in patients with advanced cirrhosis: risk factor analysis and comparison with initial MELD and Child-Turcotte-Pugh score. *J Hepatol.* 2005;42(6):826-32.
- 53 Infante-Rivard C, Esnaola S, Villeneuve JP. Clinical and statistical validity of conventional prognostic factors in predicting short-term survival among cirrhotics. *Hepatology.* 1987;7(4):660-4.
- 54 Pereira-Filho G, Ferreira C, Schwengber A, Marroni C, Zettler C, Marroni N. Role of N-acetylcysteine on fibrosis and oxidative stress in cirrhotic rats. *Arq Gastroenterol.* 2008;45(2):156-62.
- 55 Pérez Tamayo R. Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl<sub>4</sub> and adequate model of human cirrhosis? *Hepatology.* 1983;3(1):112-20.
- 56 Jiménez W, Clària J, Arroyo V, Rodés J. Carbon tetrachloride induced cirrhosis in rats: a useful tool for investigating the pathogenesis of ascites in chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 1992;7(1):90-7.
- 57 Pastor A, Collado PS, Almar M, González-Gallego J. Antioxidant enzyme status in biliary obstructed rats: effects of N-acetylcysteine. *J Hepatol.* 1997;27(2):363-70.
- 58 Peres W, Tuñón MJ, Collado PS, Herrmann S, Marroni N, González-Gallego J. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J Hepatol.* 2000;33(5):742-50.
- 59 Worner TM, Lieber CS. Perivenular fibrosis as precursor lesion of cirrhosis. *JAMA.* 1985;254(5):627-30.

- 60 Bruck R, Shirin H, Aeed H, Matas Z, Hochman A, Pines M et al. Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers. *J Hepatol*. 2001;35(4):457-64.
- 61 George J. Ascorbic acid concentrations in dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Clin Chim Acta*. 2003;335(1-2):39-47.
- 62 Lee MH, Yoon S, Moon JO. The flavonoid naringenin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. *Biol Pharm Bull*. 2004;27(1):72-6.
- 63 Giménez A, Parés A, Alié S, Camps J, Deulofeu R, Caballería J et al. Fibrogenic and collagenolytic activity in carbon-tetrachloride-injured rats: beneficial effects of zinc administration. *J Hepatol*. 1994;21(3):292-8.
- 64 Cameron GR, Karunaratne WAE. Carbon tetrachloride cirrhosis in relation to liver regeneration. *J Pathol Bacteriol*. 1936;42(1):1-21.
- 65 Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology*. 1982;83(6):1183-90.
- 66 Schuppan D, Dumont JM, Kim KY, Hennings G, Hahn EG. Serum concentration of the aminoterminal procollagen type III peptide in the rat reflects early formation of connective tissue in experimental liver cirrhosis. *J Hepatol*. 1986;3(1):27-37.
- 67 Seyer JM. Interstitial collagen polymorphism in rat liver with CCl<sub>4</sub>-induced cirrhosis. *Biochim Biophys Acta*. 1980;629(3):490-8.
- 68 Vorobioff J, Bredfeldt JE, Groszmann RJ. Increased blood flow through the portal system in cirrhotic rats. *Gastroenterology*. 1984;87(5):1120-6.
- 69 Watkins PB. Role of cytochromes P450 in drug metabolism and hepatotoxicity. *Semin Liver Dis*. 1990;10(4):235-50.
- 70 Muriel P, Escobar Y. Kupffer cells are responsible for liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride. *J Appl Toxicol*. 2003;23(2):103-8.
- 71 Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*. 2003;33(2):105-36.
- 72 Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*. 2003;189(1-2):113-27.
- 73 Pavanato MA. Ação protetora da quercetina no fígado de ratos cirróticos. [Tese]. Porto Alegre: UFRGS; 2004.
- 74 Martinsen OG, Grimnes S. Bioimpedance and bioelectricity basics. 2<sup>a</sup> ed. New York: Academic Press; 2008.

- 75 Ellis KJ. Human body composition: in vivo methods. *Physiol Rev.* 2000;80(2):649-80.
- 76 Fernandes SA, Bassani L, Nunes FF, Aydos MED, Alves AV, Marroni CA. Nutritional assessment in patients with cirrhosis. *Arq Gastroenterol.* 2012;49(1):19-27.
- 77 Paiva SI, Borges LR, Halpern-Silveira D, Assunção MC, Barros AJ, Gonzalez MC. Standardized phase angle from bioelectrical impedance analysis as prognostic factor for survival in patients with cancer. *Support Care Cancer.* 2010;19(2):187-92.
- 78 Barbosa-Silva MC, Barros AJ. Bioelectrical impedance analysis in clinical practice: a new perspective on its use beyond body composition equations. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2005;8(3):311-7.
- 79 Baumgartner RN, Heymsfield SB, Lichtman S, Wang J, Pierson RN. Body composition in elderly people: effect of criterion estimates on predictive equations. *Am J Clin Nutr.* 1991;53(6):1345-53.
- 80 Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM et al. Bioelectrical impedance analysis--part I: review of principles and methods. *Clin Nutr.* 2004;23(5):1226-43.
- 81 Heyward VH, Stolarczyk LM. Avaliação da composição corporal aplicada. Barueri: Manole; 2000.
- 82 Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Post CL, Waitzberg DL, Heymsfield SB. Can bioelectrical impedance analysis identify malnutrition in preoperative nutrition assessment? *Nutrition.* 2003;19(5):422-6.
- 83 Máttar JA. Application of total body bioimpedance to the critically ill patient. Brazilian Group for Bioimpedance Study. *New Horiz.* 1996;4(4):493-503.
- 84 Norman K, Stobäus N, Pirlich M, Bosy-Westphal A. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis - clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clin Nutr.* 2012;31(6):854-61.
- 85 Bosy-Westphal A, Danielzik S, Dörhöfer RP, Later W, Wiese S, Müller MJ. Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex, and body mass index. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2006;30(4):309-16.
- 86 Selberg O, Selberg D. Norms and correlates of bioimpedance phase angle in healthy human subjects, hospitalized, and patients with liver cirrhosis. *Eur J Appl Physiol.* 2002;86(6):509-16.
- 87 Alberino F, Gatta A, Amodio P, Merkel C, Di Pascoli L, Boffo G. et al. Nutrition and survival in patients with liver cirrhosis. *Nutrition.* 2001;17(6):445-50.
- 88 Malina RM. Quantification of fat, muscle and bone in man. *Clin Orthop Relat Res.* 1969;65:9-38.

89 Heyward VH, Sstolarczyk IM. Avaliação da composição corporal. São Paulo: Manole, 2000.

90 Lohman TG. Exercise training and body composition in childhood. *Can J Sport Sci.* 1992;17(4):284-7.

91 Harrison GG, Buskirk ER, Lindsay Carter JE, Johnston FE, Lohman TG, Pollock ML. et al. Skinfold thicknesses and measurement technique. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell R. (editors). *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign: Human Kinetics Books, 1988. p. 55-70.

92 Jeejeebhoy KM, Detsky AS, Baker JP. Assessment of nutritional status. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1990;14(5 Suppl):193-6.

93 Frisancho AR. New norms of upper limb fat muscle areas for assessment of nutrition status. *Am J Clin Nutr.* 1981;34(11):2540.

94 World Health Organization. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry*. Geneva: WHO, 1995. Technical report series, 854.

95 Roongpisuthipong C, Sobhonslidsuk A, Nantiruj K, Songchitsomboon S. Nutritional assessment in various stages of liver cirrhosis. *Nutrition.* 2001;17(9):761-5.

96 Zaina FE. Prevalência de desnutrição em candidatos a transplante hepático. *JBT J Bras Transpl.* 2003; 6(1):50A.

97 Food and Nutrition Board. National Research Council. *Recommended dietary allowances*. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989.

98 Plauth M, Merli M, Kondrup J, Weinmann A, Ferenci P, Müller MJ. et al. *Espen guidelines for nutrition in liver diseases and transplantation*. *Clin Nutr.* 1997;16(2):43-55.

99 Tajika M, Kato M, Mohri H, Miwa Y, Kato T, Ohnishi H. et al. Prognostic value of energy metabolism in patients with viral liver cirrhosis. *Nutrition.* 2002;18(3):229-34.

100 Blackburn B L, Thornton PA. Nutritional assessment of the hospitalized patient. *Med Clin North Am.* 1979;63(5):1103-15.

101 Elia M. The bioimpedance 'craze'. *Eur J Clin Nut.* 1993;47(12):825-7.

102 Aspen Board of Directors and the clinical Guidelines Task Force. *Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric care*. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2002;26(Suppl 1):9SA-12SA.

103 Correia MITD. Avaliação nutricional subjetiva. *Rev Bras Nutr Clín.* 1998;13(2):68-73.

- 104 Detsky AS, Baker JP, Mendelson RA, Wolman SL, Wesson DE, Jeejeebhoy. KN. Evaluating the accuracy of nutritional assessment techniques applied to hospitalized patients: methodology and comparison. *JPEN Parenter Enteral Nutr.* 1984;8(2):153-9.
- 105 Álvares-da-Silva MR, Gottschall CA, Pruineli RD, Pinto RD, Waechter FL, Cardoso F.. et al. Nutritional evaluation in liver transplantation. *Hepatology.* 1998;28(4):746(A).
- 106 Pikul J, Sharpe MD, Lowndes R, Ghent CN. Degree of preoperative malnutrition is predictive of postoperative morbidity and mortality in liver transplantation recipients. *Transplantation.* 1994;57(3):469-72.
- 107 Norman K, Schütz T, Kemps M, Josef Lübke H, Lochs H, Pirlich M. The subjective global assessment reliably identifies malnutrition-related muscle dysfunction. *Clin Nutr.* 2005;24(1):143-50.
- 108 Lautz HU, Selberg O, Körber J, Bürger M, Müller MJ. Protein-caloriemalnutrition in liver cirrhosis. *Clin Investig.* 1992;70(6):478-86.
- 109 Waitzberg DL. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica.* 3ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.
- 110 Klidjian AM, Archer TJ, Foster KJ, Karran SJ. Detection of dangerous malnutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1982;6(2):119-21.
- 111 Klidjian AM, Foster KJ, Kammerling RM, Cooper A, Karran SJ. Relation of anthropometric and dynamometric variables to serious postoperative complications. *Br Med J.* 1980;281(6245):899-901.
- 112 Álvares–da-Silva MR, Silveira TR. O Estudo da força do aperto de mão não-dominante em indivíduos sadios: determinação dos valores de referência para o uso da dinamometria. *GED: Gastroenterol Endosc Dig.* 1998;17(6):203-6.
- 113 Álvares–da-Silva MR, Silveira TR. Hand-grip strength or muscle mass in cirrhotic patients: who is the best? *Nutrition.* 2006;22(2):218-9.
- 114 McCall KA, Huang C, Fierke CA. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J Nutr* 2000;130(5S Suppl):1437-46
- 115 Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev.* 1993;73 (1):79-118.
- 116 Kelleher SL, McCormick NH, Velasquez V, Lopez V. Zinc in specialized secretory tissues: roles in the pancreas, prostate, and mammary gland. *Adv Nutr.* 2011;2(2):101-11.
- 117 Mocchegiani E, Costarelli L, Giacconi R, Piacenza F, Basso A, Malavolta M. Micronutrient (Zn, Cu, Fe)-gene interactions in ageing and inflammatory age-related diseases: implications for treatments. *Ageing Res Rev.* 2012;11(2):297-319.

- 118 Marzzoco A, Torres BB. Bioquímica básica. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
- 119 Lichten LA, Cousins RJ. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr.* 2009;29:153-76.
- 120 Tuerk MJ, Fazel N. Zinc deficiency. *Curr Opin Gastroenterol.* 2009;25(2):136-43.
- 121 Whitney E, Rolfes SR. Nutrição 1: Entendendo os nutrientes. 10ª ed. São Paulo: Cengage Learning; 2008.
- 122 Prasad AS. Zinc deficiency in women, infants and children. *J Am Coll Nutr.* 1996;15(2):113-20.
- 123 Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr.* 2000;130(5S Suppl):1344S-9S.
- 124 Organização Mundial da Saúde. Elementos traço na nutrição e saúde humanas. São Paulo: Roca; 1998.
- 125 Netter FH. Atlas de anatomia humana. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2000.
- 126 Jung HS, Akita K, Kim JY. Spacing patterns on tongue surface-gustatory papilla. *Int J Dev Biol.* 2004;48(2-3):157-61.
- 127 Finger TE. Evolution of taste. In: Kaas JH. Evolution of nervous systems. New York: Elsevier; 2007. p. 423-41.
- 128 Woods MP. Taste and flavour perception. *Proc Nutr Soc.* 1998;57(4):603-7.
- 129 Nasser J. Taste, food intake and obesity. *Obes Rev.* 2001;2(4):213-8.
- 130 Davidson HI, Pattison RM, Richardson RA. Clinical undernutrition states and their influence on taste. *Proc Nutr Soc.* 1998;57(4):633-8.
- 131 Ohara I, Tabuchi R, Kimura M, Itokawa Y. Decline of taste sensitivity in protein deficient adult rats. *Physiol Behav.* 1995;57(5):921-6.
- 132 Hess MA. Taste: the neglected nutritional factor. *J Am Diet Assoc.* 1997;97(10 Suppl 2):S205-7.
- 133 Obrebowski A, Obrebowska-Karsznia Z, Gawliński M. Smell and taste in children with simple obesity. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2000;55(3):191-6.
- 134 Phillips JO, Fuchs AF. Gestacion and olfaction. In: Patton H. Textbook of physiology: excitable cells and neurophysiology. 21ª ed: Saunders; 1989. p. 475-503.
- 135 Kamath S, Booth P, Lad TE, Kohrs MB, McGuire WP. Taste thresholds of patients with cancer of the esophagus. *Cancer.* 1983;52(2):386-9.

- 136 Hetherington MM. Taste and appetite regulation in the elderly. *Proc Nutr Soc.* 1998;57(4):625-31.
- 137 Meilgaard MC, Civille GV, Carr BT. *Sensory evaluation techniques.* 2<sup>a</sup> ed. Florida: CRC Press; 1991.
- 138 Lowell JA. Nutritional assessment and therapy in patients requiring liver transplantation. *Liver Transpl Surg.* 1996;2(5 Suppl 1):79-88.
- 139 McCullough AJ, Bugianesi E. Protein-calorie malnutrition and the etiology of cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 1997;92(5):734-8.
- 140 McCullough AJ. Malnutrition in liver disease. *Liver Transpl.* 2000;(4 Suppl 1):S85-96.
- 141 Lawton DM, Furness DN, Lindemann B, Hackney CM. Localization of the glutamate-aspartate transporter, GLAST, in rat taste buds. *Eur J Neurosci.* 2000;12(9):3163-71.
- 142 Bartel DL, Sullivan SL, Lavoie EG, Sévigny J, Finger TE. Nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-2 is the ecto-ATPase of type I cells in taste buds. *J Comp Neurol.* 2006;497(1):1-12.
- 143 Finger TE, Danilova V, Barrows J, Bartel DL, Vigers AJ, Stone L et al. ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. *Science.* 2005;310(5753):1495-9.
- 144 Dvoryanchikov G, Sinclair MS, Perea-Martinez I, Wang T, Chaudhari N. Inward rectifier channel, ROMK, is localized to the apical tips of glial-like cells in mouse taste buds. *J Comp Neurol.* 2009;517(1):1-14.
- 145 Bigiani A. Mouse taste cells with glialike membrane properties. *J Neurophysiol.* 2001;85(4):1552-60.
- 146 Vandenbeuch A, Kinnamon SC. Why do taste cells generate action potentials? *J Biol.* 2009;8(4):42.
- 147 Margolskee RF. Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction. *J Biol Chem.* 2002;277(1):1-4.
- 148 Simon SA, de Araujo IE, Gutierrez R, Nicolelis MA. The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7(11):890-901.
- 149 Nelson G, Chandrashekar J, Hoon MA, Feng L, Zhao G, Ryba NJ et al. An amino-acid taste receptor. *Nature.* 2002;416(6877):199-202.
- 150 DeFazio RA, Dvoryanchikov G, Maruyama Y, Kim JW, Pereira E, Roper SD et al. Separate populations of receptor cells and presynaptic cells in mouse taste buds. *J Neurosci.* 2006;26(15):3971-80.

- 151 Murray RG. The ultrastructure of taste buds. In: Friedmann I. The Ultrastructure of sensory organs. North Holland: Amsterdam; 1973. p. 1–81.
- 152 Murray RG. Cellular relations in mouse circumvallate taste buds. *Microsc Res Tech.* 1993;26(3):209-24.
- 153 Yang R, Crowley HH, Rock ME, Kinnamon JC. Taste cells with synapses in rat circumvallate papillae display SNAP-25-like immunoreactivity. *J Comp Neurol.* 2000;424(2):205-15.
- 154 Yee CL, Yang R, Böttger B, Finger TE, Kinnamon JC. "Type III" cells of rat taste buds: immunohistochemical and ultrastructural studies of neuron-specific enolase, protein gene product 9.5, and serotonin. *J Comp Neurol.* 2001;440(1):97-108.
- 155 Medler KF, Margolskee RF, Kinnamon SC. Electrophysiological characterization of voltage-gated currents in defined taste cell types of mice. *J Neurosci.* 2003;23(7):2608-17.
- 156 Gao N, Lu M, Echeverri F, Laita B, Kalabat D, Williams ME et al. Voltage-gated sodium channels in taste bud cells. *BMC Neurosci.* 2009;10:20.
- 157 Huang AL, Chen X, Hoon MA, Chandrashekar J, Guo W, Tränkner D et al. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature.* 2006;442(7105):934-8.
- 158 Farbman AI. Fine structure of the taste bud. *J Ultrastruct Res.* 1965;12:328-50.
- 159 Chaudhari N, Roper SD. The cell biology of taste. *J Cell Biol.* 2010;190(3):285-96.
- 160 Os sentidos químicos: gustação e olfato. *Sistemas biológicos IV* [homepage na internet] 2012. [Acesso em 2012 maio 16]. Disponível em <http://dc537.4shared.com/doc/E8SStu8C/preview.html>
- 161 Doolin RE, Gilbertson TA. Distribution and characterization of functional amiloride-sensitive sodium channels in rat tongue. *J Gen Physiol.* 1996;107(4):545-54.
- 162 Ninomiya Y. Reinnervation of cross-regenerated gustatory nerve fibers into amiloride-sensitive and amiloride-insensitive taste receptor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(9):5347-50.
- 163 Hoon MA, Adler E, Lindemeier J, Battey JF, Ryba NJ, Zuker CS. Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell.* 1999;96(4):541-51.
- 164 Nelson G, Hoon MA, Chandrashekar J, Zhang Y, Ryba NJ, Zuker CS. Mammalian sweet taste receptors. *Cell.* 2001;106(3):381-90.
- 165 Vilela ALM. Resumos estruturados de Biologia [homepage na internet]. 2012. [Acesso em 2012 maio 16]. Disponível em <http://www.afh.bio.br>

166 Danilova V, Damak S, Margolskee RF, Hellekant G. Taste responses to sweet stimuli in alpha-gustducin knockout and wild-type mice. *Chem Senses*. 2006;31(6):573-80.

167 Sclafani A. Sweet taste signaling in the gut. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(38):14887-8.

## 2 JUSTIFICATIVA

A tentativa de compreensão do processo fisiológico do gosto na cirrose associada ao estado nutricional do paciente, gera conhecimentos sobre sintomas referidos pelos mesmos que, até então eram classificados como irrelevantes. Um assunto de tão amplo espectro gerará questões a serem respondidas com novos estudos. A ampliação do conhecimento na área de nutrição em hepatologia permitirá alavancar estratégias dietoterápicas efetivas, melhorando a qualidade de vida do paciente cirrótico.

A BIA pelo AF permite avaliar a integridade e funcionalidade celular, o que representa uma evolução substancial no conhecimento desta doença, podendo atuar como marcador nutricional e prognóstico.

### **3 HIPÓTESE**

A hipótese de que há alterações morfológicas e / ou histológicas nas papilas gustativas de pacientes cirróticos. No entanto, a realização de biópsias na língua de pacientes cirróticos não é viável, portanto, analisamos as línguas de ratos cirróticos induzidos por CCl<sub>4</sub>, para simular todas características peculiares da cirrose humana.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Identificar um método de avaliação prognóstica que associa desnutrição protéico calórica (DPC) e suas carências nutricionais à evolução clínica da cirrose, sendo este factível em protocolos clínicos e experimentais para auxiliar no entendimento de sintomas como a alteração de paladar.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos desta tese serão divididos e respondidos em 3 artigos.

**4.2.1 Artigo 1:** Nutritional assessment in patients with cirrhosis - Publicado na revista:



- a) Comparar quatro diferentes métodos de avaliação nutricional (antropometria clássica, ASG, FAM e BIA) em cirróticos.
- b) Identificar o melhor método de avaliação nutricional para o paciente cirrótico.
- c) Identificar parâmetro de referência para a classificação do estado nutricional dos cirróticos utilizando como ponto de corte valores do ângulo de fase.

**4.2.2 Artigo 2:** Is the Phase Angle, a Prognostic Indicator for Nutritional Status in Cirrhotic Patients? - Publicado na revista:



- a) Correlacionar o ângulo de fase padrão com o ângulo de fase de pacientes cirróticos.
- b) Correlacionar o ângulo de fase dos pacientes cirróticos com o escore Child- Pugh.
- c) Identificar diferentes índices prognósticos através do ângulo de fase.

**4.2.3 Artigo 3:** An assessment of rat tongues in an experimental cirrhosis model

. - Submetido à British Journal of Nutrition

- a) Avaliar os níveis de zinco no plasma dos ratos cirróticos.
- b) Avaliar a funcionalidade da célula pelo ângulo de fase através da bioimpedância elétrica, correlacionando a sua integridade através dos valores de AST, ALT e FA e pelos valores de TBARS.
- c) Avaliar a funcionalidade da célula pelo ângulo de fase através da bioimpedância elétrica, correlacionando a integridade hepática e a deficiência de zinco.
- d) Avaliar as papilas gustativas e botões gustativos de ratos cirróticos por microscopia eletrônica de varredura comparando-os aos controles.
- e) Identificar por imunohistoquímica as células tipo II e III nas papilas dos animais cirróticos comparando aos controles.
- f) Identificar por imunohistoquímica os receptores T1R2 e T1R3 dos ratos cirróticos comparando aos controles.

# NUTRITIONAL ASSESSMENT IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS

Sabrina Alves **FERNANDES**, Lilian **BASSANI**, Flávia Feijó **NUNES**, Maria Eugênia Deutrich **AYDOS**, Alexandro Vaesken **ALVES** and Cláudio Augusto **MARRONI**

**ABSTRACT** – *Context* - Malnutrition in cirrhotic patients with end-stage disease is common, and the degree of nutritional debilitation can play an important role in the pathogenesis of complications and cause a negative impact on prognosis. However, it involves difficulties and controversies regarding the identification of the best nutritional assessment method. *Objective* - To identify a method that provides a safe and effective nutritional diagnosis. *Methods* - Cross-sectional study with 129 cirrhotic patients. Anthropometric measurements, subjective global assessment, hand grip strength and bioelectrical impedance. *Results* - Through phase angle of bioelectrical impedance analysis (BIA) method, significant associations with Child-Pugh ( $P = 0.008$ ), age group and gender were observed. The ROC (receiver operator characteristic) curve was generated to determine the best cutoff point of the phase angle of cirrhotic patients, serving as one of the reference parameters for the nutritional assessment with bioimpedance in this study, considering the classification through Child-Pugh score as the reference standard for the clinical conditions of patients with cirrhosis. *Conclusions* - The assessment through bioelectrical impedance presented a statistically significant correlation with Child-Pugh score. The identification of phase angle of  $5.44^\circ$  is the new parameter suggested for the classification of the nutritional conditions of cirrhotic patients.

**HEADINGS** – Liver cirrhosis. Electrical impedance. Malnutrition. Nutrition assessment.

## INTRODUCTION

Protein caloric malnutrition is a syndrome considered as progressive loss of both lean body mass (protein) and adipose tissue (calorie). Significant changes in the metabolism of protein, carbohydrates and lipids appear simultaneously the consumption of muscular and lipid compartments to satisfy a higher energetic demand<sup>(10)</sup>. This clinical condition is common in patients with chronic hepatopathy and affects 20% of the patients with compensated cirrhosis and more than 60% of these patients with severe hepatic dysfunction<sup>(21, 22)</sup>.

Several factors are present in the development of malnutrition in cirrhotic. Inadequate oral ingestion resulting from anorexia, dysgeusia, early satiety, nausea and vomits associated with hepatopathy, use of drugs and their adverse effects<sup>(12, 24, 25, 26)</sup>. We should also consider as contributing factors the poor absorption and deficient intestinal digestion, which are more accentuated in patients with bile duct diseases with cholestasis, for whom steatorrhea is common<sup>(25, 29)</sup>.

Malnutrition is a relevant factor when determining the progress of hepatic disease, as it affects the

storage of nutrients, contributes to hypoalbuminemia resulting from impaired hepatic synthesis and intensifies the hydroelectrolytic unbalance determined by renal alterations, characteristics of this disease state<sup>(23, 25, 28, 29)</sup>. However, it involves difficulties and controversies regarding the identification of the best nutritional assessment method considered as gold standard, that is a low cost, loyal and easy-to-apply method that does not affect the final result.

Due to these characteristics, which negatively interfere in the nutritional status of the cirrhotic patient and which are part of the natural history of the disease, it is necessary to identify when malnutrition begins its course.

This preventive measure applies primarily to patients on the liver transplant list, who will thus have a better quality of life until the time of the transplant.

Therefore, the present study has the purpose of identifying amongst the available methods, of low cost and easily reproducible, which one offers a safe and efficient nutritional diagnosis, which will help the clinical practice and allow an early intervention in cirrhotic patients.

The three authors involved participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content of the paper and must approve of the final version of the manuscript.

There is no conflict of interest involved.

Postgraduate Program of Hepatology, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

Correspondence: Dr. Sabrina Alves Fernandes – Rua Marçílio Dias, 918 – apt. 08 – Menino Deus – 90130-000 – Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: sabrinaafernandes@gmail.com

## METHODS

A prospective cross-sectional study was conducted between April 2007 and January 2008 with 129 cirrhotic patients, with diagnosis based on histological evidences, clinical and laboratorial or imaging diagnosis (presence of hepatic irregularities due to portal hypertension and hepatic insufficiency) and evidences of chronic hepatic disease. The clinical evidences of cirrhosis were defined with the presence of portal hypertension or hepatic insufficiency.

The study excluded patients with hepatocellular carcinoma, poor intestinal absorption, acquired immunodeficiency syndrome, chronic renal insufficiency, use of enteral diet, neuromuscular alterations in upper limbs, chronic pancreatitis, chronic diarrhea and psychic and/or cognitive alterations.

The patients with inclusion criteria were classified according to the disease severity through Child-Pugh score. They were invited to participate in the study after they agreed with it and signed the Informed Consent Term, approved by the ethics committee of the Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), RS, Brazil.

### Protocol

The clinical, anthropometric, subjective global assessments were performed through dynamometry and bioelectrical impedance during a routine doctor's visit, in the morning shift, with the same duration and performed by the same appraiser.

### Anthropometry

Weight was measured using a Filizola 100 g resolution scale and height with a wall-mounted stadiometer. The body mass index (BMI) was calculated using the formula proposed by Quetelet<sup>(40)</sup>,  $BMI = \text{weight}/\text{height}^2$ ; and the parameters of OMS 1995<sup>(42)</sup> were considered for the nutritional state classification.

The triceps skinfold (TSF) and upper arm circumference (UAC) were measured using mathematical formulas to calculate the arm muscle circumference (AMC)<sup>(11)</sup>. Measurement of TSF was measured using a Cescorf skinfold caliper. The UAC was measured with a graduated, non-retracting, flexible measuring tape.

### Subjective global assessment

The subjective global assessment (SGA) was performed following the protocol of Detsky et al.<sup>(9)</sup>. It analyzed history data of ponderal loss, reduced daily caloric ingestion, gastrointestinal symptoms, functional capacity and physical signs of malnutrition (reduction of subcutaneous tissue and/or muscular mass, edema, ascites). The patients were classified as: well nourished A, with moderate malnutrition B and severe malnutrition C, according to the method scores.

### Dynamometry

A mechanical hand grip dynamometer of adjustable handle was used to assess the hand grip strength (HGS) (Baseline® Smedley Spring, made in New York, USA). The

patient sits on a chair without armrest and with the plantar region on the floor; the appraiser adjusts the dynamometer handle to place the patient's hand comfortably, that, during the test, should be kept far from the body and chair. After the dynamometer adjustment to the correct position, the patient compresses the handle with as much strength as possible with the non-dominant hand.

Three assessments were made, with an interval of more than 30 seconds between them, and the pointer was zeroed after each attempt. The result of highest value from the three assessments was utilized as criterion-result, and later the nutritional state was classified along with the patient's age and gender, according to the reference parameter of Álvares da Silva et al.<sup>(4)</sup>.

### Bioelectrical impedance

For the assessment of nutritional state, Biodynamics, model 450, Seattle, WA, USA was utilized. The patient remains in dorsal decubitus position, with hands and legs parallel to the body. One electrode is placed on the dorsal hand, at the middle finger level, and one in the wrist joint, both on the right side. Another pair of electrodes is placed on the dorsal foot, at the middle toe level, and in the ankle joint, also on the right side.

The electrical current used in the measurement is 800 A and 50 kHz, which enables to measure resistance and reactance and obtain the phase angle (PA) value.

The PA derives from two segments of corporal composition, calculated as follows:  $PA = \text{tangent arc}(Xc/R) \times 180/3.1416$ , proposed by Barbosa-Silva et al.<sup>(7)</sup>. The PA result enables to classify the patient according his/her nutritional state.

The patients were classified according to two reference parameters: the first is named bioelectrical impedance analysis (BIA), based on the reference parameters of the study conducted by Barbosa-Silva et al.<sup>(8)</sup>, which validated cutoff points for the method, according to the age and gender of a population of inpatients with different diseases from an American hospital; the second one, BIA cirrhosis, named by the author of this study, is related to the population of cirrhotic patients included in this study and presents the value of 5.44° as cutoff point.

### Statistical analysis

A descriptive analysis was performed through mean values and standard deviation for continuous variables of symmetric distribution, or median value and interquartile amplitude for continuous variables of asymmetric distribution, and absolute and relative frequency for categorical variables.

Chi-square test of McNemar was used in the comparison of the nutritional state between the techniques.

Kappa coefficient of agreement was used to assess the agreement between the classifications of BIA.

The assessment of the association between the reference values of HGS and BIA and severity, disease etiology and demographic characteristics used the *t*-Student test or the analysis of variance (ANOVA), one way for continuous variables of symmetric distribution, and Mann-Whitney or Kruskal-Wallis test for continuous variables of asymmetric distribution. For

multiple comparisons, Tukey test (symmetric distribution) or Mann-Whitney test (asymmetric distribution) was used.

Pearson's chi-square test was used to assess the association between the categorical variables.

The significance level of 5% was considered and the analyses were performed using SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 13.0.

### Ethical considerations

Secrecy was maintained about the identity and data from all patients submitted to the assessment protocol (number: 06/135). The study was conducted after the approval of the Ethics Committee, according to the Declaration of Helsinki of 1975, revision of 1983.

## RESULTS

The sample is composed of 129 patients, mean age of 55 years ( $\pm 11.4$  years, ranging from 20 to 78 years), 70 (54.3%) male and 59 (45.7%) female.

The clinical characteristics of the cirrhotic patients included in the study are described in Table 1.

The anthropometric evaluation (Table 2) shows that weight, height and AMC found in the male population are higher than those found in the female population ( $P \leq 0.001$ ), but, when analyzing the TSF, the female population presents higher values than those of the male population ( $< 0.001$ ). On the other hand, no difference was observed between the genders when the parameters of BMI and UAC were analyzed.

In the analysis by subjective global assessment (SGA), only 20.2% of the analyzed patients were classified as malnourished, with no statistically significant difference in the anthropometry, as observed in Figure 1.

In the HGS assessment through dynamometry, new decreasing values as the age increased were found in male patients, with a similar tendency observed in the female patients above 40-49 years old, as described in Table 3.

The male patients of  $\geq 60$  years of age and the female patients of all ages showed significantly less strength (kg) when compared to male patients below 50 years of age.

TABLE 1. Characterization of the sample constituted of cirrhotic patients

Characteristics	Total Sample (n = 129)	Age group (years)			
		20-39 (n = 12)	40-49 (n = 25)	50-59 (n = 35)	$\geq 60$ (n = 57)
Age (years) – Mean (SD)	55.1 (11.4)	31.4 (5.81)	45.5 (2.58)	53.8 (2.94)	65.2 (4.35)
Gender – n (%)					
Male	70 (54.3)	8 (66.7)	15 (60.0)	21 (60.0)	26 (45.6)
Female	59 (45.7)	4 (33.3)	10 (40.0)	14 (40.0)	31 (54.4)
Child – n (%)					
A	91 (70.5)	11 (91.7)	15 (60.0)	23 (65.7)	42 (73.7)
B	28 (21.7)	1 (8.3)	6 (24.0)	7 (20.0)	14 (24.6)
C	10 (7.8)	0 (0.0)	4 (16.0)	5 (14.3)	1 (1.8)
Etiology – n (%)					
Alcohol	33 (25.6)	1 (8.3)	8 (32.0)	9 (25.7)	15 (26.3)
Virus B	4 (3.1)	0 (0.0)	1 (4.0)	2 (5.7)	1 (1.8)
Virus C	56 (43.4)	1 (8.3)	11 (44.0)	18 (51.4)	26 (45.6)
Virus B + alcohol	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.8)
Virus C + alcohol	11 (8.5)	1 (8.3)	1 (4.0)	3 (8.6)	6 (10.5)
Cryptogenic	5 (3.9)	2 (16.7)	0 (0.0)	1 (2.9)	2 (3.5)
Autoimmune	5 (3.9)	2 (16.7)	1 (4.0)	1 (2.9)	1 (1.8)
Others	14 (10.9)	5 (41.7)	3 (12.0)	1 (2.9)	5 (8.8)

TABLE 2. Descriptive analysis of the anthropometric data by gender

Variables	Gender			p <sup>1</sup>
	Total sample (n = 129)	Male (n = 70)	Female (n = 59)	
	Mean (SD)	Mean (DP)	Mean (DP)	
Weight (kg)	74.4 (14.9)	78.5 (15.6)	69.6 (12.6)	0.001
Height (cm)	164 (9.19)	170 (6.49)	157 (7.00)	<0.001
BNU	27.6 (5.16)	27.1 (4.73)	28.2 (5.61)	0.229
TSF	18.4 (9.24)	14.7 (7.93)	22.8 (8.80)	<0.001
UAC	30.4 (4.47)	30.1 (4.43)	30.7 (4.54)	0.478
AMC	24.6 (3.31)	25.4 (3.37)	23.5 (2.95)	0.001

BMI: body mass index; TSF: tricipital skin fold; UAC: underarm circumference; AMC: arm muscle circumference. <sup>1</sup>Value obtained by Student's *t*-test for independent samples

Regarding the gender, both populations presented lower strength for those above 60 years of age, according to Table 3.

In the HGS method and in the phase angle values, the age groups of male patients presented decreasing values, which does not occur with the female patients.

Women and patients of  $\geq 60$  years of age presented a significantly lower phase angle when compared to men ( $P = 0.041$ ) and individuals below 50 years of age ( $P = 0.001$ ) (Table 4).

We observed that only male patients of  $\geq 60$  years of age and female patients between 50 and 59 years of age presented a significantly lower phase angle when compared to the other patients (Table 4).

Figure 1 does not show statistical difference between the different anthropometric methods, except for the BMI, which was similar to TSF only.

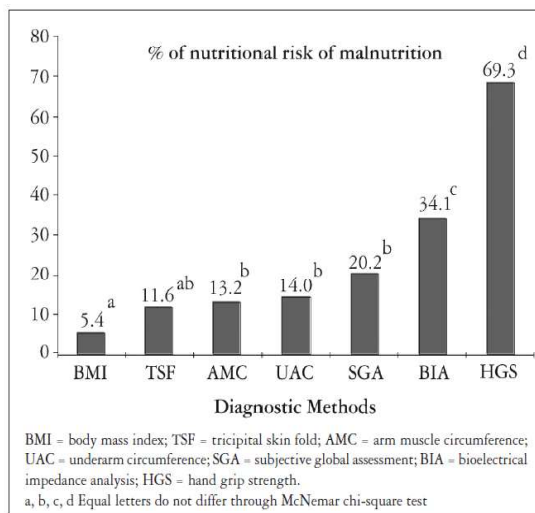


FIGURE 1. Evaluation of the percentage of malnourished individuals according to different methods of nutritional assessment

The SGA detected a significantly higher number of malnourished patients than the BMI, with the similar result in the other anthropometric parameters.

The HGS method detected the higher number of malnourished patients in the studied population, with significant difference when compared to the other methods ( $P = 0.001$ ). The percentage of malnourished patients found with BIA method presents a statistically significant difference ( $P = 0.001$ ) when compared to the percentages obtained with the other methods, except for the HGS ( $P = 0.013$ ), which detected a higher number of malnourished patients.

Table 5 shows that 129 patients were analyzed through BIA and 127 through HGS, 2 patients could not be analyzed through HGS: 1 due to gouty arthritis and 1 for not presenting the minimum strength to manifest pain when trying to compress the grip.

TABLE 3. Evaluation through HGS by age and gender

Age group	Cirrhotic men		Cirrhotic women	
	Mean (SD)	-2SD	Mean (SD)	-2SD
20-39	41.4 (10.2)	21.0	19.8 (4.5)	10.8
40-49	33.3 (11.2)	10.9	22.2 (9.08)	4.04
50-59	30.3 (7.53)	15.2	16.0 (7.27)	1.46
$\geq 60$	27.6 (11.2)	5.2	15.8 (8.34)	0.00

TABLE 4. Evaluation through phase angle by age group and gender

Age group	Cirrhotic men		Cirrhotic women	
	Mean (SD)	-2SD	Mean (SD)	-2SD
20-39	8.40 (2.62)	3.16	6.57 (1.13)	4.31
40-49	6.35 (1.17)	4.01	7.39 (4.32)	0.00
50-59	6.52 (2.04)	2.44	5.47 (1.62)	2.23
$\geq 60$	5.63 (1.11)	3.41	7.18 (4.73)	0.00

TABLE 5. Association of the disease etiology with malnutrition assessed through HGS and BIA

Etiology	HGS (127)		BIA (129)	
	Malnourished (n = 88; 69.3%)	Nourished (n = 39; 30.7%)	Malnourished (n = 44; 34.1%)	Nourished (n = 85; 65.9%)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Virus C	42 (47.7)	13 (33.3)	22 (50.0)	34 (40.0)
Alcohol	21 (23.9)	12 (30.8)	7 (15.9)	26 (30.6)
Others	11 (12.5)	2 (5.1)	7 (15.9)	7 (8.2)
Virus C + alcohol	7 (8.0)	4 (10.3)	5 (11.4)	6 (7.1)
Cryptogenic	3 (3.4)	2 (5.1)	1 (2.3)	4 (4.7)
Autoimmune	3 (3.4)	2 (5.1)	1 (2.3)	4 (4.7)
Virus B	1 (1.1)	3 (7.7)	0 (0.0)	4 (4.7)
Virus B + alcohol	0 (0.0)	1 (2.6)	1 (2.3)	0 (0.0)

HGS = hand grip strength;  
BIA = bioelectrical impedance analysis

Table 5 also shows that the number of malnourished patients evaluated through HGS is proportional to the number of malnourished patients evaluated through BIA, and that the percentage of malnourished patients through HGS is similar to the percentage of malnourished patients through BIA.

The highest prevalence related to the cirrhosis etiology in malnourished patients, according to HGS and BIA, is virus C, whose indexes are 42 (47.7%) patients through HGS and 22 (50%) through BIA. The second cause verified was alcohol, with 21 (23.9%) through HGS and only seven (15.9%) through BIA.

Through phase angle of BIA, a significant association with Child-Pugh ( $P = 0.008$ ) was observed. The patients classified as Child-Pugh C presented significantly lower phase angle than those classified as Child-Pugh A and B. For this reason, the patients clinically sorted as A and B were grouped (Table 6).

Besides Child-Pugh, a significant association was observed between phase angle, age group, and gender. HGS did not present significant relation with Child-Pugh, keeping the relation with age group and gender, as already established as a reference parameter.

Figure 2 shows the analysis and association between HGS and BIA methods, which presented a higher number of malnourished patients, with the disease classification of Child-Pugh A, B and C. The analysis showed that BIA is the method that presents a statistically significant relation between Child-Pugh C and malnutrition.

Figure 3 shows that the ROC curve, generated to determine the best cutoff point of the phase angle of cirrhotic patients, serving as one of the reference parameters for the nutritional assessment with BIA in this study, considering the Child-Pugh classification as the reference standard for the clinical conditions of patients with cirrhosis.

Was used the ROC curve to identify the cutoff point for malnutrition through the phase angle. Then, the patients

presenting values below  $5.44^\circ$  were classified as malnourished and the patients with  $5.44^\circ$  or more were classified as nourished.

As illustrated in Figure 3, sensitivity and specificity were compared using BIA and HGS, with values of 68.9%-70.0% and 49.2%-56%, respectively.

The comparison between the values found of patients classified as malnourished, using the two denominations of BIA, i.e., malnourished through BIA, denomination from the reference parameters of Barbosa-Silva et al.<sup>(8)</sup>, and BIA Cirrhosis, named by the author of this study, showed the agreement of 80.6% of the cases, as illustrated in Figure 4, which is statistically significant (Kappa = 0.566,  $P < 0.001$ ).

Figure 4 illustrates the agreement of 70.5% of the malnutrition cases using the two reference parameters: BIA

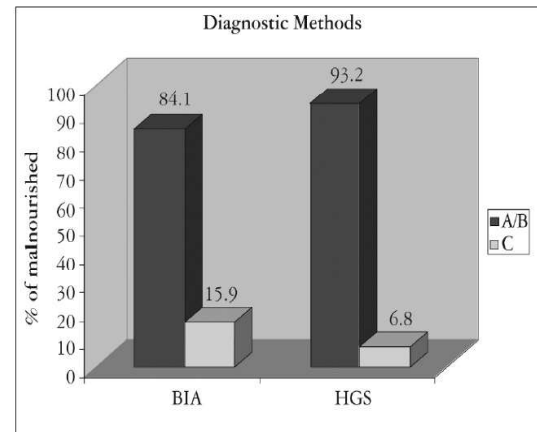


FIGURE 2. Association between the methods of nutritional assessment and Child-Pugh BIA = bioelectrical impedance analysis; HGS = hand grip strength; HGS:  $P = 1.000$ ; BIA:  $P = 0.031$

TABLE 6. Association between the values measured through HGS and phase angle with gender, age group, and Child-Pugh of the patients

Variables	n	HGS		Phase Angle	
		Mean (SD)	P	Median (p25-p75)	P
Gender – n (%)					
Male	70	31.2 (10.8)	<0.001 <sup>1</sup>	6.21 (5.61-6.89)	0.041 <sup>3</sup>
Female	59	17.2 (8.19)		5.45 (4.97-6.65)	
Age Group – n (%)					
20 – 39	12	34.2 (13.6) <sup>a</sup>	0.001 <sup>2</sup>	7.29 (6.52-8.11) <sup>a</sup>	0.001 <sup>4</sup>
40 – 49	24	29.1 (11.6) <sup>a</sup>		6.59 (5.54-7.09) <sup>b</sup>	
50 – 59	35	24.6 (10.2) <sup>ab</sup>		5.96 (4.97-6.69) <sup>bc</sup>	
≥60	56	21.3 (11.3) <sup>b</sup>		5.62 (4.95-6.35) <sup>c</sup>	
Child – n (%)					
A	91	24.7 (11.2)	0.510 <sup>2</sup>	6.03 (5.34-6.81) <sup>a</sup>	0.008 <sup>4</sup>
B	27	26.6 (14.3)		5.78 (5.19-6.96) <sup>a</sup>	
C	9	21.3 (11.7)		4.32 (3.72-5.82) <sup>b</sup>	

HGS = hand grip strength

<sup>1</sup> Student's *t*-test for independent samples;

<sup>2</sup> Analysis of variance (ANOVA), one-way;

<sup>3</sup> Mann-Whitney test;

<sup>4</sup> Kruskal-Wallis test;

a,b,c Equal letters do not differ through Tukey's (parametric) test or Mann-Whitney (non-parametric) test

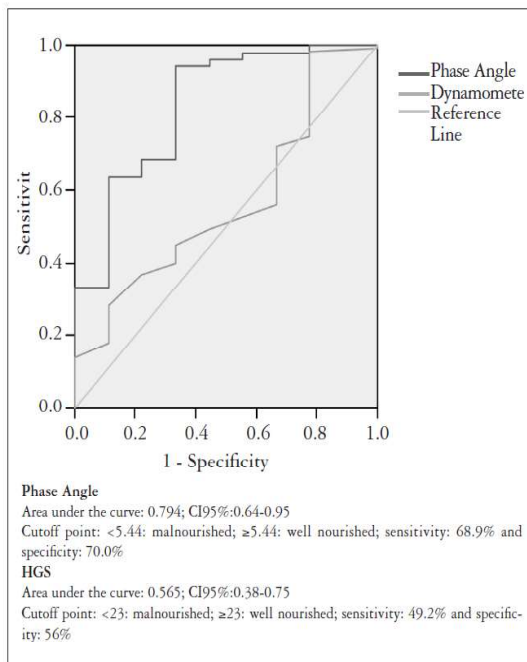


FIGURE 3. Receiver operator characteristic (ROC) curve to determine the cutoff point for malnutrition for the phase angle and HGS considering Child-Pugh divided into group 1 = A or B and group 2 = C, as reference standard for the clinical state of cirrhosis.

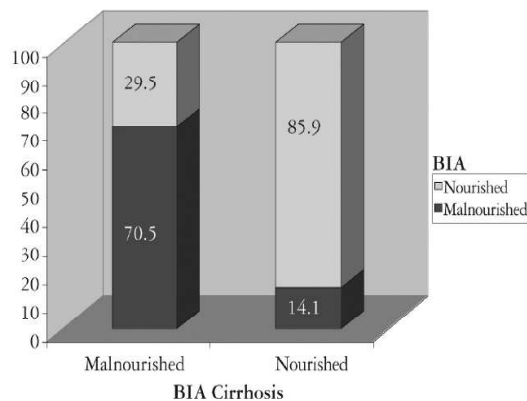


FIGURE 4. Agreement between BIA and BIA cirrhosis

and BIA Cirrhosis, which disagree in only 29.5% of the cases. The study found equivalence of 85.9% of the cases of nourished patients, with disagreement of 14.1%.

## DISCUSSION

This study was conducted at an outpatient clinic, with most patients clinically classified as Child-Pugh A and B;

the small group classified as Child-Pugh C might affect data accuracy. Another limitation of this study was the failure to include a control group.

The malnutrition percentages of 11.6% obtained through TSF and 13.2% through AMC disagree with the percentages of Abbott et al.<sup>(1)</sup> and Alberino et al.<sup>(2)</sup>, which show 54% of malnourished patients when combining the two methods, and of Merli et al.<sup>(27)</sup>, which suggest AMC as an indicator of severe malnutrition in patients in the end stage of cirrhosis. The prevalence of overweight was identified in the studied population, when analyzing the BMI, which may present a strong relation with the clinical conditions of the patient, due to water retention and ascites.

Through SGA, 20.2% of the patients in this study were classified as malnourished; in the study conducted by Gottschall et al.<sup>(14)</sup> with a similar population, the index achieved 38%. SGA presents sensitivity of 22% in patients with cirrhosis and underestimates the nutritional state of this population in 57%, with overestimation of 6%<sup>(13)</sup>. Paradoxically, some studies suggest that the benefits of SGA for the nutritional state progress of candidates for kidney transplantation, while other studies showed that SGA detects malnutrition in only 25% of the cases<sup>(13, 16, 30, 32)</sup>. However, it should be noted that SGA is an instrument composed of quantitative and qualitative variables, subject to varied interpretations, as it is a partially subjective method.

In agreement with the literature, the method that presented the highest proportion of malnourished patients was HGS, with 69.3% of the cases. Álvares-da-Silva et al.<sup>(6)</sup> observe that the method presents the capacity to detect 100% of the malnutrition cases and, according to Norman et al.<sup>(31)</sup>, identifies the nutritional risk before the serious state of malnutrition. In the evaluation of cirrhotic patients hospitalized, HGS presents the best relation with the nutritional state progress of the cirrhotic patient, as in the study, 89% of the malnourished patients were classified as Child-Pugh B and C<sup>(34)</sup>.

This study demonstrated that HGS does not present statistically significant relation with the Child-Pugh classification, described here as a parameter for the clinical condition of the patient with chronic hepatic disease. Knowing that patients classified as Child C are malnourished by definition<sup>(5)</sup>, the study observed the highest percentage of malnourished patients (93.2%), classified through HGS as Child A and B, and only 6.8% as Child C, reinforcing the non-relation with Child-Pugh.

The study used the reference parameters for HGS, validated by Álvares-da-Silva et al.<sup>(3)</sup>, with healthy individuals. A discrepancy was observed when comparing it to the values found in the population of cirrhotic patients, a factor that might have contributed to overestimated proportion of cirrhotic patients.

Regarding the utilization of BIA, a study with cirrhotic patients, divided into patients with and without ascites, Pirlich et al.<sup>(35)</sup> report that this is not the clinical sign of

greatest negative impact for the corporal composition determination. The authors suggest that specific values and equations to cirrhotic patients should be created as a reference parameter for the utilization of bioelectrical impedance assessment.

Lee and Gallagher<sup>(19)</sup> compare BIA to other high-cost methods, such as bone densitometry, computed tomography and magnetic resonance, in an attempt to identify a low-cost effective method to assess the human corporal composition. This study concludes that BIA presents poor accuracy in individual or group assessments, but effective for a specific population, i.e., individuals without corporal alterations. Lehnert et al.<sup>(20)</sup> suggest the use of this method in a serial form, identifying and following the cirrhotic patient's nutritional state evolution.

The meta-analysis of Kyle et al.<sup>(17, 18)</sup> describes that BIA is not an adequate method to patients that present many alterations in the corporal geometric composition, illustrating it with individuals with ascites. The same meta-analysis suggests the use of BIA in a segmental form. Another hypothesis studied is the indication of BIA for nutritional assessment, using the phase angle as a reference value for the method and analyzing the cellularity of the individual impacted by the disease. Schwenk et al.<sup>(38)</sup> suggest the phase angle as a global marker for malnourished individuals infected with HIV and discuss that the phase angle reflects the integrity and vitality of the cell membrane.

Gupta et al.<sup>(15)</sup> demonstrate that the phase angle is more powerful indicator of survival than the traditional parameters of nutritional assessment, presenting a cutoff point for phase angle of 5.0°, for patients with pancreatic cancer.

Studies demonstrated the correlation of the phase angle as a good prognostic indicator in severe clinical situations<sup>(33, 36)</sup>. Another study that also evaluated patients with chronic hepatic diseases, presented the cutoff point of 5.4° for the phase angle<sup>(39)</sup>. Coincidentally, our study found a similar cutoff point of 5.44° to characterize malnutrition.

Norman et al.<sup>(31)</sup> describe in their study of BIA evaluation in nutritional diagnosis, the phase angle as a poor indicator of survival.

BIA, through the phase angle, was the only method that presented a statistically significant relation with Child-Pugh. However, due to the limitation of this study in terms of low number of patients sorted as Child-Pugh C and age group of 20-39 years, it was not possible to validate a specific reference parameter for this population, dividing them by age, gender and Child-Pugh.

However, this limitation does not invalidate our findings with regard to the values of phase angle and to the

agreement with the patient's clinical condition by Child-Pugh score. We show this agreement through the results of phase angle, by obtaining the same cutoff point as studies by L. Scheunemann et al.<sup>(37)</sup> and Wagner et al.<sup>(41)</sup>. Given this fact, the phase angle is a strong prognostic marker regardless of the pathology, since this method evaluates cell capacitance, i.e., the integrity and functionality of the individual's cell, unlike other methods routinely used for nutritional diagnosis, which are usually based on the patient's body weight. In our case, this parameter is error-prone.

Based on such data, the total 34.1% of malnourished patients were found through BIA. The study conducted by Barbosa-Silva et al.<sup>(8)</sup> was used as the reference parameter, which validates the reference values for the phase angle, for the population of patients from an American hospital, dividing them by age and gender. These results agree with the findings of our study, classifying malnutrition in 33.3% of the sample through BIA cirrhosis, using the phase angle of 5.44°, with agreement of 80.6% between them.

Although no gold standard is said to exist for the assessment of the nutritional state of cirrhotic patients, we suggest future studies using BIA, as it showed a low margin of error, when compared to the other methods. BIA was the only method to present a significant relation with Child-Pugh, age group and gender for chronic hepatic diseases.

Figueiredo et al.<sup>(13)</sup> suggest that the four-compartment model of assessment, provided by a CT scan, might be sensitive in detecting malnutrition even in early stages of the disease. However, this method is costly and of low reproducibility for assessing the nutritional status of patients and, therefore, it was not used in our research, as it did not fulfill one of the purposes of the study.

## CONCLUSIONS

The assessment of the nutritional status of cirrhotic patients and the comparison with different methods show marked discrepancies, with the percentage of malnourished patients ranging from 5.4% to 68.2%.

HGS and BIA showed a very high variation, with malnutrition percentages of 68.2% to 34.1%, respectively.

In the comparison to Child-Pugh score, BIA was the only method that showed to be statistically significant.

The identification of the phase angle of 5.44° is the new parameter suggested for the classification of the nutritional state of the cirrhotic patient, which can be named BIA Cirrhosis. However, more studies are needed to confirm these data, particularly expanding the number of cases of patients rated as Child-Pugh C.

Fernandes SA, Bassani L, Nunes FF, Aydos MED, Alves AV, Marroni CA. Avaliação nutricional de pacientes cirróticos. *Arq Gastroenterol.* 2012;49(1):19-27.

**RESUMO** – *Contexto* - A desnutrição em pacientes cirróticos com doença em estágio final é comum, e o grau de debilitação nutricional pode desempenhar papel importante na patogênese de complicações e causar impacto negativo no prognóstico. No entanto, envolve dificuldades e controvérsias sobre a identificação do melhor método de avaliação nutricional. *Objetivo* - Identificar um método que ofereça diagnóstico nutricional seguro e eficiente. *Métodos* - Estudo transversal avaliou 129 pacientes com cirrose hepática. Foram realizadas medidas antropométricas, avaliação subjetiva global, dinamometria e bioimpedância elétrica. *Resultados* - Através do ângulo de fase do método BIA, associações significativas com Child-Pugh ( $P = 0,008$ ), faixa etária e sexo foram observadas. A curva ROC (receiver operator characteristic) foi realizada para determinar o melhor ponto de corte do ângulo de fase de pacientes cirróticos, servindo como um dos parâmetros de referência para a avaliação nutricional com bioimpedância neste estudo, considerando a classificação por pontuação Child-Pugh como o padrão de referência para as condições clínicas dos pacientes com cirrose. *Conclusões* - A avaliação por meio de bioimpedância elétrica apresentou correlação estatisticamente significativa com o escore de Child-Pugh. A identificação do ângulo de fase de  $5,44^\circ$  é o novo parâmetro sugerido para a classificação do estado nutricional de pacientes cirróticos.

**DESCRIPTORIOS** – Cirrose hepática. Impedância elétrica. Desnutrição. Avaliação nutricional.

## REFERENCES

- Abbott WJ, Thomson A, Steadman C, Gattton ML, Bothwell C, Kerlin P, Wall DR, Lynch SV. Child-Pugh class, nutritional indicators and early liver transplant outcomes. *Hepatogastroenterology.* 2001;48:823-7.
- Alberino F, Gatta A, Amodio P, Merkel C, Di Pascoli L, Boffo G, Caregaro L. Nutrition and survival in patients with liver cirrhosis. *Nutrition.* 2001;17:445-50.
- Álvares-da-Silva MR, Gottschall CA, Pruneli RD, Waechter FL, Cardoso F, Sampaio JA, Smith MM, Francisconi CFM, Pereira-Lima LM. Nutritional evaluation in liver transplantation. *Hepatology.* 1998;28:746(A).
- Álvares-da-Silva MR, Silveira TR. O Estudo da força do aperto de mão não-dominante em indivíduos saudáveis: determinação dos valores de referência para o uso da dinamometria. *GED Gastroenterol Endosc Dig.* 1998;17:203-6.
- Álvares-da-Silva MR, Silveira TR. Comparison between handgrip strength, subjective global assessment, and prognostic nutritional index in assessing malnutrition and predicting clinical outcome in cirrhotic outpatients. *Nutrition.* 2005;21:113-7.
- Álvares-da-Silva MR, Silveira TR. Hand-grip strength or muscle mass in cirrhotic patients: who is the best? *Nutrition.* 2006;22:218-9.
- Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Post CL, Waitzberg DL, Heymsfield SB. Can bioelectrical impedance analysis identify malnutrition in preoperative nutrition assessment? *Nutrition.* 2003;19:422-6.
- Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Wang J, Heymsfield SB, Pierson RN. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:49-52.
- Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA, Jeejeebhoy KN. What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1987;11:8-13.
- Duarte AC. *Semiologia imunológica nutricional.* Rio de Janeiro: Axcel Books do Brasil; 2003.
- Duarte ACG. *Avaliação nutricional: aspectos clínicos e laboratoriais.* São Paulo: Atheneu; 2007.
- Figueiredo F, Dickson ER, Pasha T, Kasparova P, Therneau T, Malinchoc M, DiCecco S, Francisco-Ziller N, Charlton M. Impact of nutritional status on outcome after liver transplantation. *Transplantation.* 2000;70:1347-52.
- Figueiredo FA, Perez RM, Freitas MM, Kondo M. Comparison of three methods of nutritional assessment in liver cirrhosis: subjective global assessment, traditional nutritional parameters, and body composition analysis. *J Gastroenterol.* 2006;41:476-82.
- Gottschall CB, Álvares-da-Silva MR, Camargo AC, Burtett RM, da Silveira TR. [Nutritional assessment in patients with cirrhosis: the use of indirect calorimetry]. *Arq Gastroenterol.* 2004;41:220-4.
- Gupta D, Lis CG, Dahlk SL, Vashi PG, Grutsch JF, Lammersfeld CA. Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic indicator in advanced pancreatic cancer. *Br J Nutr.* 2004;92:957-62.
- Hasse J, Strong S, Gorman MA, Liepa G. Subjective global assessment: alternative nutrition-assessment technique for live transplant candidates. *Nutrition.* 1993;9:339-43.
- Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, Heitmann BL, Kent-Smith L, Melchior JC, Pirlich M, Scharfetter H, Schols AM, Pichard C, Composition of the ESPEN Working Group. Bioelectrical impedance analysis—part I: review of principles and methods. *Clin Nutr.* 2004;23:1226-43.
- Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Manuel Gómez J, Lienthal Heitmann B, Kent-Smith L, Melchior JC, Pirlich M, Scharfetter H, M W J Schols A, Pichard C, ESPEN. Bioelectrical impedance analysis—part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr.* 2004;23:1430-53.
- Lee SY, Gallagher D. Assessment methods in human body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008;11:566-72.
- Lehnert ME, Clarke DD, Gibbons JG, Ward LC, Golding SM, Shepherd RW, Cornish BH, Crawford DH. Estimation of body water compartments in cirrhosis by multiple-frequency bioelectrical-impedance analysis. *Nutrition.* 2001;17:31-4.
- Lochs H, Plauth M. Liver cirrhosis: rationale and modalities for nutritional support – the European Society of Parenteral and Enteral Nutrition consensus and beyond. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 1999;2:345-9.
- Ma Z, Zhang Y, Huet PM, Lee SS. Differential effects of jaundice and cirrhosis on alpha-adrenoceptor signalling in three rat models of cirrhotic cardiomyopathy. *J Hepatol.* 1999;30:485-91.
- Maio R, Dichi JB, Burini RC. [Nutritional consequences of metabolic impairment of macronutrients in chronic liver disease]. *Arq Gastroenterol.* 2000;37:52-7.
- McCullough AJ, Bugianesi E. Protein-calorie malnutrition and the etiology of cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 1997;92:734-8.
- McCullough AJ. Nutritional state and abnormal metabolism of nutrients. American Association for the Study of Liver Diseases. Postgraduate course: newer aspects on alcohol, nutrition and hepatic encephalopathy, 1992; 204-44.
- McCullough AJ. Malnutrition and liver disease. *Liver Transpl* 2000;(4 Suppl 1):S85-96.
- Merli M, Riggio O, Dally L. Does malnutrition affect survival cirrhosis? PINC (Policentrica Italiana Nutrizione Cirrosi). *Hepatology.* 1996;23:1041-6.
- Miwa Y, Shiraki M, Kato M, Tajika M, Mohri H, Murakami N, Kato T, Ohnishi H, Morioku T, Muto Y, Moriwaki H. Improvement of fuel metabolism by nocturnal energy supplementation in patients with liver cirrhosis. *Hepatol Res.* 2000;18:184-9.
- Müller MJ, Boker KH, Selberg O. Are patients with liver cirrhosis hypermetabolic? *Clin Nutr.* 1994;13:131-44.
- Naveau S, Belda F, Borotto F, Genuist F, Chaput JC. Comparison of clinical judgment and anthropometric parameters for evaluating nutritional status in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol.* 1995;23:234-5.
- Norman K, Smoliner C, Valentini L, Lochs H, Pirlich M. Is bioelectrical impedance vector analysis of value in the elderly with malnutrition and impaired functionality? *Nutrition.* 2007;23:564-9.
- Nutritional status in cirrhosis. Italian Multicentre Cooperative Project On Nutrition In Liver Cirrhosis. *J Hepatol.* 1994;21:317-25.
- Ott M, Fischer H, Polat H, Helm EB, Franz M, Caspary WF, Lembecke B. Bioelectrical impedance analysis as a predictor of survival in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1995;9:20-5.
- Piquet MA, Ollivier I, Gloro R, Castel H, Tiengou LE, Dao T. Nutritional indices in cirrhotic patients. *Nutrition.* 2006;22:216-7.
- Pirlich M, Schütz T, Spachos T, Ertl S, Weiss ML, Lochs H, Plauth M. Bioelectrical impedance analysis is a useful bedside technique to assess malnutrition in cirrhotic patients with and without ascites. *Hepatology.* 2000;32:1208-15.
- Pupim LB, Kent P, Ikizler TA. Bioelectrical impedance analysis in dialysis patients. *Miner Electrolyte Metab.* 1999;25:400-6.

37. Scheunemann L, Wazlawik E, Bastos JL, Ristow TC, Mayumi NL. Agreement and association between the phase angle and parameters of nutritional status assessment in surgical patients. *Nutr Hosp.* 2011;26:480-7.
38. Schwenk A, Beisenherz A, Römer K, Kremer G, Salzberger B, Elia M. Phase angle from bioelectrical impedance analysis remains an independent predictive marker in HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral treatment. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:496-501.
39. Selberg O, Selberg D. Norms and correlates of bioimpedance phase angle in healthy human subjects, hospitalized, and patients with liver cirrhosis. *Eur J Appl Physiol.* 2002;86:509-16.
40. University of Minnesota Morris. Adolphe Quetelet. Internet:<http://www.morris.umn.edu/~sungurea/introstat/history/w98/Quetelet.html> (accessed 14 July 2009).
41. Wagner D, Adunka C, Kniepeiss D, Jakoby E, Schaffellner S, Kandlbauer M, Fahrleitner-Pammer A, Roller RE, Kornprat P, Müller H, Iberer F, Tscheliessnigg KH. Serum albumin, subjective global assessment, body mass index and the bioimpedance analysis in the assessment of malnutrition in patients up to 15 years after liver transplantation. *Clin Transplant.* 2011;3:1-5.
42. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO, 1995. (WHO - technical report series 854).

Received 8/10/2009.

First review completed on 27/10/2010

Accepted 10/8/2011.



## Is the Phase Angle, a Prognostic Indicator for Nutritional Status in Cirrhotic Patients?

Sabrina Alves Fernandes<sup>1\*</sup>, Maria Cristina Gonzalez<sup>2</sup>, Lilian Bassani<sup>1</sup>, Daniella Miranda<sup>1</sup>, Bianca Pivatto<sup>1</sup>, Daniele Lazzarotto Harter<sup>1</sup> and Cláudio Augusto Marroni<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PPG Medicina Hepatologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil  
<sup>2</sup>PPG Saúde e Comportamento Universidade Católica de Pelotas (UCPEL), Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

### Abstract

**Background & Aim:** The phase angle value, obtained by bioelectrical impedance analysis, is an important prognostic indicator in several clinical conditions. This study aimed to compare the performance of the standardized phase angle with that of Child-Pugh score, a well-known prognostic indicator of chronic liver disease.

**Methods:** A cross-sectional study was conducted with cirrhotic patients. Bioelectrical impedance analysis was performed, and the standardized phase angle was calculated. Low standardized phase angle was defined as a value below -1.65. The significance level was set at 5%.

**Results:** Of 195 participants, 59% were male. Mean age was 55.9 ± 10.8 years; 59% of patients were classified as Child-Pugh class A, 22.6% as class B, and 18.5% as class C. The Phase Angle average was 5.79 (±1, 20) with z score average -0.75 (±1, 61). 76.4% of the population studied showed Phase Angle indicative of good prognosis.

**Conclusions:** The standardized phase angle was correlated with the Child-Pugh score and can therefore be considered a reliable prognostic indicator of nutritional status in cirrhotic patients.

**Keywords:** Liver cirrhosis; Nutritional assessment; Bioelectrical impedance; Phase angle

**Abbreviations:** BIA: Bioelectrical Impedance Analysis; PA: Phase Angle; PCM: Protein-Calorie Malnutrition; SPA: Standardized Phase Angle; HBP: High Blood Pressure; T1D: Type 1 Diabetes; T2D: Type 2 Diabetes

### Introduction

Protein-Calorie Malnutrition (PCM) is a frequent complication in cirrhotic patients, with a prevalence ranging from 25 to 80%, depending on the method used [1,2]. PCM is characterized by changes in cell membrane integrity and alterations in fluid balance [3] and it results in higher prevalence of morbidity and mortality [1,4,5].

The assessment of nutritional status of cirrhotic patients is quite complex when body conditions such as edema of the limbs and ascites are present. The phase angle (PA), which has helped a lot in this matter of body asymmetry which can be determined by the bioelectrical impedance analysis (BIA) has proven to be an effective, safe, fast and inexpensive method to assess the prognosis of these patients [6]. The PA contains is based two parameters Resistance (R) and Reactance (Xc). Resistance, which is the opposition of the body to the flow of an electrical current, is inversely related to the presence of water and electrolytes in the body. Resistance is related to the capacitance properties of the cell membranes and varies with their integrity, function and composition [7]. Phase Angle, which is an indicator of cell membrane integrity, is calculated from Resistance and Reactance expressed in degrees [6,8]; PA values range from 3 to 15° [9]. Low Phase Angle values are indicative of impaired cell membrane integrity or death, whereas high values are indicative of intact cell membranes [10].

Studies have shown that PA is a good prognostic indicator in several clinical situations [11-16]. Different cut-off values are used based on reference values for age and gender. Standardized PA (SPA) values exist for the Swiss, German, American and Brazilian populations. The SPA can be used to compare results among different populations and

to correlate an SPA with a particular disease, as reported by Barbosa-Silva et al. [17] in 2008 with the Brazilian population. The results of this study allow us to use the SPA values as parameters for other several diseases.

The objective of this study is to compare the performance of the SPA with that of the Child-Pugh score, etiology of the disease and co morbidities which is a well-known prognostic indicator of chronic liver disease.

### Materials and Methods

A cross-sectional study was performed with patients who were diagnosed with cirrhosis after clinical and/or histological tests. All patients were adults over 18 years who met the inclusion criteria were classified based on disease severity by the Child-Pugh score (albumin, prothrombin time, ascites, bilirubin encephalopathy). The patients enrolled were treated at the ambulatory service and hospitalized. The study was approved by the Research Ethics Committee of Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Brazil, and was conducted in accordance with the provisions of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from all participants.

Resistance and Reactance was obtained using a bioimpedance device (Biodynamics, model 450, Seattle, WA) with an electrical

\*Corresponding author: Sabrina Alves Fernandes, R. São Luis, 1087/403, CEP 90620-170, Porto Alegre, RS, Brazil, Tel: + 55 51 3303-8795; Fax: + 55 51 3303-8795; E-mail: [sabrinaafernandes@gmail.com](mailto:sabrinaafernandes@gmail.com)

Received February 20, 2013; Accepted February 22, 2013; Published February 28, 2013

Citation: Fernandes SA, Gonzalez MC, Bassani L, Miranda D, Pivatto B, et al. (2013) Is the Phase Angle, a Prognostic Indicator for Nutritional Status in Cirrhotic Patients? J Antivir Antiretrovir S3. doi:10.4172/jaa.S3-004

Copyright: © 2013 Fernandes SA, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

current of 800 A and 50 kHz. The Resistance and Reactance values were used to calculate PA. Patients were evaluated under standard position and conditions. PA was calculated using the following equation 3:

$$PA = \arctan(Xc / R) \times (180 / \pi)$$

The SPA was estimated from the reference values for the Brazilian population, according to the equation: subtracting the reference PA value according to sex and age from the observed PA and then, dividing the result by the respective age and sex reference standard deviation  $SPA = PA - PA_{ref} / s.d._{ref}$ . A SPA cutoff value of -1.65 was chosen to classify the patients in two groups: low PA or not. This should be understood in the same way as Z score (as used for weight and height in children). The SPA cutoff values of -1.65 stands for the fifth percentile of normal population, therefore, it can be considered as the lower limit accepted in a healthier population. Comparisons among groups with different mean ages and sex distribution can be done using the same SPA cutoff (-1.65), as SPA was obtained from an already adjusted age and sex reference values.

### Statistical analysis

The results were expressed as the mean and standard deviation. ANOVA and the Tukey test were used to compare the SPA values and disease severity (classified by the Child-Pugh score). Pearson's chi-squared test was applied to evaluate the association between the SPA and the Child-Pugh score, sex, etiology, co morbidities and ascites. The t-student test was used to compare averages of age between subjects with good and poor prognosis. The variables which have a p-value <0.20 in the bivariate analysis were entered into a Multiple Poisson Regression model to evaluate factors independently associated with poor prognosis. The significance level was set at 5%. All analyses were performed using SPSS version 18.0.

### Results

In the total population of 195 cirrhotic allocated for this study, 59% were male with a mean age of 54.5 (+ 10.6), females had a mean age of 57.9 ( $\pm$  10.9). The prevalent etiology in the population studied is C virus (79%), where 62% are women. The second prevalence etiology is alcohol (25.1%), with the prevalence of 93.9% of men. The observed distribution according to the severity of disease was 59% Child-Pugh A, 22.6% B and 18.5 C. All characteristics of the sample are presented in table 1. Regarding the selected comorbidities, 52% of the population has High Blood Pressure (HBP). Only 1% of the sample diagnosed with Type 1 Diabetes (T1D). Moreover, 54% of patients had Type 2 Diabetes (T2D). With decomposition of disease and changes in body symmetry 67% of the patients evaluated had ascites.

As we observed in table 2 among all variables analyzed, the only ones that showed a statistically significant relationship with prognosis was gender, disease classification (Child Pugh), HBP and ascites.

The factors that remained associated with poor prognosis after adjustment by Multiple Poisson Regression model were gender, Child-Pugh and ascites. Men had a 71% higher prevalence of poor prognosis when compared with women (PR=1.71, 95% CL: 1.01 2.88, p=0.044). Concerning the Child Pugh score, patients rated B had 1.3 times higher prevalence compared with Child-Pugh A, not being significant. However, patients with Child Pugh C had a 2.6 times higher prevalence of poor prognosis compared with patients with Child-Pugh A (PR=2.60, 95% CL: 1:32 to 5:11, p=0.006). Patients with ascites had a prevalence 2.16 times more chances of having a poor prognosis (PR=2.16, 95% CL: 1:14 to 4:12, p=0.019), all independently associated with the outcome (Table 3).

According to the isolated analysis of phase angle (Table 4) we observed that 46% of cirrhotic patients have poor prognosis indicator, not belonging mostly to averages of Resistance, reactance and PA z-score.

As we observed in figure 1, there was difference in PA z score according to severity of cirrhosis (p<0.001), and the Child C had significantly lower values than those of Child A and B, which did not differ significantly. For the difference identified between Child Pugh A,

Characteristics	n=195 (%)
Age (years) - Mean $\pm$ SD	55.9 $\pm$ 10.8
<b>Gender</b>	
Male	115 (59.0)
Female	80 (41.0)
<b>Etiology</b>	
B Virus	5 (2.6)
C Virus	79 (40.5)
Alcohol	49 (25.1)
B Virus + Alcohol	1 (0.5)
C Virus + Alcohol	23 (11.8)
Autoimmune	8 (4.1)
Cholestatic	1 (0.5)
Cryptogenic	10 (5.1)
Others	19 (9.7)
<b>Child-Pugh classification</b>	
A	115 (59.0)
B	44 (22.6)
C	36 (18.5)
HBP	52 (26.7)
T1D	1 (0.5)
T2D	54 (27.7)
Ascites	67 (34.5)

Table 1: Sample Characterization.

Characteristics	Poor Prognosis	Good Prognosis	p
Age (years) - Mean $\pm$ SD	55.3 $\pm$ 8.1	56.0 $\pm$ 11.6	0.649
<b>Gender - n (%)</b>			0.029
Male	34 (73.9)	81 (54.4)	
Female	12 (26.1)	68 (45.6)	
<b>Etiology - n (%)</b>			0.357
B Virus	1 (2.2)	4 (2.7)	
C Virus	21 (45.7)	58 (38.9)	
Alcohol	9 (19.6)	40 (26.8)	
B Virus + Alcohol	1 (2.2)	0 (0.0)	
C Virus + Alcohol	6 (13.0)	17 (11.4)	
Autoimmune	0 (0.0)	8 (5.4)	
Cholestatic	0 (0.0)	1 (0.7)	
Cryptogenic	4 (8.7)	6 (4.0)	
Othes	4 (8.7)	15 (10.1)	
<b>Child-Pugh classification - n (%)</b>			<0.001
A	15 (32.6)	100 (67.1)	
B	9 (19.6)	35 (23.5)	
C	22 (47.8)	14 (9.4)	
HBP - n (%)	7 (15.6)	45 (30.4)	0.076
T1D - n (%)	0 (0.0)	1 (0.7)	1.000
T2D - n (%)	14 (31.1)	40 (26.8)	0.712
Ascites - n (%)	29 (64.4)	38 (25.5)	<0.001

Table 2: Variables associated with a poor prognosis.

Citation: Fernandes SA, Gonzalez MC, Bassani L, Miranda D, Pivatto B, et al. (2013) Is the Phase Angle, a Prognostic Indicator for Nutritional Status in Cirrhotic Patients? *J Antivir Antiretrovir S3*. doi:10.4172/jaa.S3-004

Page 3 of 4

B and C in relation to poor prognosis the power is estimated at 99.5%.

## Discussion

There is a progressive increase in cases of cirrhosis with the majority being diagnosed late and this involves complications, one of which is the protein calorie malnutrition. Until now there was not an instrument capable of attach nutritional conditions to the standard score Child-Pugh clinic classification of cirrhotic, offering a prognostic overview of survival. D'Amico et al. [18] in 2006 in the review of 118 studies of survival of cirrhotic patients found that the greater validity score in clinical classification of liver disease is the Child-Pugh.

Alberino et al. [19] show that malnutrition can be directly related to poorer survival of patients with cirrhosis and its correction is a strong indicator of improvement in quality of life, especially those who are on the waiting list for liver transplantation. Early detection of malnutrition of cirrhotic is an aspect of great clinical relevance and interferes positively in patient recovery [7,20].

Characteristics	PR (CF 95%)	p
Males	1.71 (1.01-2.88)	0.044
HBP	0.74 (0.37-1.48)	0.392
Child Pugh		
A	1.00	
B	1.30 (0.64-2.65)	0.474
C	2.60 (1.32-5.11)	0.006
Ascites	2.16 (1.14-4.12)	0.019

PR—Prevalence Ratio; CF 95%—95% of confidence level

Table 3: Multiple Poisson Regression for evaluating factors associated with a poor prognosis.

Characteristics	n=195, Mean ± SD
Resistance	504.8 ± 96.7
Reactance	51.0 ± 12.9
PA	5.79 ± 1.20
PA z-score	-0.75 ± 1.61
PA Classification - n (%)	
Poor Prognosis	46 (23.6)
Good Prognosis	149 (76.4)

Table 4: Phase Angle and prognosis.

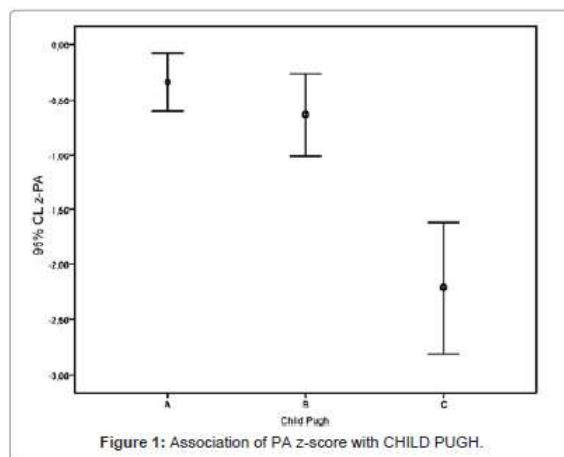


Figure 1: Association of PA z-score with CHILD PUGH.

Faced with this information is that we aimed the study and we corroborate with several findings in the literature. The sample analyzed in this study showed a predominance of males which is in agreement with findings in the literature [21,22]. The etiology of cirrhosis was predominantly in patients with C virus hepatitis, followed by alcohol, demonstrating that the poor prognosis is not directly related to nutritional status caused the alcohol, but it is a characteristic of cirrhotic "per se".

With the Phase Angle (PA) by bioelectrical impedance, it becomes possible to measure integrity of membranes. Selberg and Selberg [6] using PA in a population of hospitalized cirrhotics demonstrated that those who were below the PA 5.4° should be considered at nutritional risk, correlating with disease severity by Child Pugh score.

Fernandes et al. [23], showed that of the different methods analyzed for nutritional assessment in cirrhotic the only one nutritional change that correlated with disease classification by Child Pugh score was the PA by electrical bioimpedance with the finding of PA 5.4° reinforcing the data found by Selberg and Selberg in 2002 [6].

In a study with cirrhotic patients, divided into patients with and without ascites, Pirlich et al. [24] reported that ascites is not a clinical sign of greater negative impact on the determination of body composition. The authors also suggest that values and specific equations for cirrhotic patients should be created as a benchmark for evaluation use with bioelectrical impedance.

Corroborating with the findings of this study, where we observed that ascites is not a limitation for realization of bioelectrical impedance. Furthermore, this study showed that ascites is an isolated indicator of poor prognosis, being linked to worsening of clinical status and depletion of lean body mass and protein reserves with significant metabolic alteration, ranking cirrhotic as sarcopenic. In the present study, not only ascites is showing up as a single indicator of poor prognosis, but the male gender also, not being described comparative data for this finding in the literature until now.

Not only cirrhotic patients are those that present changes in the distribution of extracellular and intracellular fluids, but patients with renal or heart failure or chronic obstructive pulmonary disease or obese patients also have body asymmetry [14,25-27].

Thus, it is difficult to describe the real nutritional status of these populations, Norman et al. [28] in their publication of 2012 reinforce that the value of the phase angle, being a variable cellular integrity, is not linked to algorithmic equations, which may suffer errors by alterations of hydro electrolytic disorders, as happens with other parameters offered by bioimpedance device. The PA can be used to measure metabolic disorders in any kind of disease and be used as a prognostic marker associated with specific markers in clinical practice.

As an example of such use, Schwenk et al. [12] suggest that PA can be used as a prognostic indicator in several diseases, after evaluating HIV-infected patients, identifying early changes in the body through the PA.

Similarly, Gupta et al. [14] showed that PA is a strong predictor of survival in patients with advanced pancreatic cancer, comparing the method with the traditional parameters of nutritional assessment, such as albumin, prealbumin and transferrin. Still in oncology, a recent study by Paiva et al. [29] evaluated survival rates among cancer patients submitted to chemotherapy, and reinforces the assessment of PA as an excellent prognostic marker.

Citation: Fernandes SA, Gonzalez MC, Bassani L, Miranda D, Pivatto B, et al. (2013) Is the Phase Angle, a Prognostic Indicator for Nutritional Status in Cirrhotic Patients? *J Antivir Antiretrovir S3*. doi:10.4172/jaa.S3-004

In conclusion, this study reinforces the association of PA with Child-Pugh score as a strong prognostic indicator. The findings of this study call attention to future studies in the area of survival in order to identify predictors of poor prognosis of cirrhosis.

#### Acknowledgements

The authors would like to thank Prof. Dra Cristiane Valle Tovo for facilitating the allocation of patients.

#### Statement of Authorship

Daniella Miranda, Bianca Cocco Pivatto, Daniele Harter e Lilian Bassani carried out the studies. Sabrina Fernandes data analyses, drafted the manuscript. Maria Cristina Gonzalez carried out the samples analyses. Sabrina Fernandes E Maria Cristina Gonzalez participated in the design of the study and performed the statistical analysis. Claudio Augusto Marroni conceived of the study, and participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

#### Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no competing financial, personal or other interests that might be perceived to influence the results and/or discussion reported in this paper.

#### Funding Sources

This study received no funding from any source.

#### References

- Kalaizakis E, Simrén M, Olsson R, Henfridsson P, Hugosson I, et al. (2006) Gastrointestinal symptoms in patients with liver cirrhosis: associations with nutritional status and health-related quality of life. *Scand J Gastroenterol* 41: 1464-1472.
- McCullough AJ, Tavill AS (1991) Disordered energy and protein metabolism in liver disease. *Semin Liver Dis* 11: 265-277.
- Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Post CL, Waitzberg DL, Heymsfield SB (2003) Can bioelectrical impedance analysis identify malnutrition in preoperative nutrition assessment? *Nutrition* 19: 422-426.
- Gunsar F, Raimondo ML, Jones S, Terreni N, Wong C, et al. (2006) Nutritional status and prognosis in cirrhotic patients. *Aliment Pharmacol Ther* 24: 563-572.
- Campillo B, Richardet JP, Bories PN (2005) Enteral nutrition in severely malnourished and anorectic cirrhotic patients in clinical practice. *Gastroenterol Clin Biol* 29: 645-51.
- Selberg O, Selberg D (2002) Norms and correlates of bioimpedance phase angle in healthy human subjects, hospitalized patients, and patients with liver cirrhosis. *Eur J Appl Physiol* 86: 509-516.
- Barbosa-Silva MC, Barros AJ (2005) Bioelectrical impedance analysis in clinical practice: a new perspective on its use beyond body composition equations. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 8: 311-317.
- Baumgartner RN, Chumlea WC, Roche AF (1988) Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Am J Clin Nutr* 48: 16-23.
- Máttar JA (1996) Application of total body bioimpedance to the critically ill patient. *Brazilian Group for Bioimpedance Study*. *New Horiz* 4: 493-503.
- Gupta D, Lis CG, Dahik SL, Vashi PG, Grutsch JF, et al. (2004) Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic indicator in advanced pancreatic cancer. *Br J Nutr* 92: 957-962.
- Ott M, Fischer H, Polat H, Helm EB, Frenz M, et al. (1995) Bioelectrical impedance analysis as a predictor of survival in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovir* 9: 20-25.
- Schwenk A, Beisenherz A, Römer K, Kremer G, Salzberger B, et al. (2000) Phase angle from bioelectrical impedance analysis remains an independent predictive marker in HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral treatment. *Am J Clin Nutr* 72: 496-501.
- Toso S, Piccoli A, Gusella M, Menon D, Bononi A, et al. (2000) Altered tissue electric properties in lung cancer patients as detected by bioelectric impedance vector analysis. *Nutrition* 16: 120-124.
- Gupta D, Lis CG, Dahik SL, King J, Vashi PG, et al. (2008) The relationship between bioelectrical impedance phase angle and subjective global assessment in advanced colorectal cancer. *Nutr J* 7: 19.
- Stobäus N, Pirlich M, Valentini L, Schulzke JD, Norman K (2012) Determinants of bioelectrical phase angle in disease. *Br J Nutr* 107: 1217-1220.
- Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Wang J, Heymsfield SB, Pierson RN Jr (2005) Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr* 82: 49-52.
- Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Larsson E (2008) Phase angle reference values for Brazilian population. *Int J Body Compos Res* 6: 67-68.
- D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L (2006) Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol* 44: 217-231.
- Alberino F, Gatta A, Amodio P, Merkel C, Di Pascoli L, et al. (2001) Nutrition and survival in patients with liver cirrhosis. *Nutrition* 17: 445-450.
- Sherlock S, Sherlock S(D), Dooley J (2002) Diseases of the liver and biliary systems. (11th edn), John Wiley & Sons.
- Lauer GM, Walker BD (2001) Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 345: 41-52.
- Study Group the Brazilian Hepatologia Society (1991) Epidemiology of infection by hepatitis C virus in Brazil. *GED* 18: 3-8.
- Fernandes SA, Bassani L, Nunes FF, Aydos ME, Alves AV, et al. (2012) Nutritional assessment in patients with cirrhosis. *Arq Gastroenterol* 49: 19-27.
- Pirlich M, Schütz T, Spachos T, Ertl S, Weiss ML, et al. (2000) Bioelectrical impedance analysis is a useful bedside technique to assess malnutrition in cirrhotic patients with and without ascites. *Hepatology* 32: 208-215.
- Pupim LB, Kent P, Ikizler TA (1999) Bioelectrical impedance analysis in dialysis patients. *Miner Electrolyte Metab* 25: 400-406.
- Colín-Ramírez E, Castillo-Martínez L, Orea-Tejeda A, Vázquez-Durán M, Rodríguez AE, et al. (2012) Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic marker in chronic heart failure. *Nutrition* 28: 901-905.
- Wagner D, Adunka C, Kniepeiss D, Jakoby E, Schaffellner S, et al. (2011) Serum albumin, subjective global assessment, body mass index and the bioimpedance analysis in the assessment of malnutrition in patients up to 15 years after liver transplantation. *Clin Transplant* 25: 396-400.
- Norman K, Stobäus N, Pirlich M, Bosy-Westphal A (2012) Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis—clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clin Nutr* 31: 854-861.
- Paiva SI, Borges LR, Halpern-Silveira D, Assunção MC, Barros AJ, et al. (2011) Standardized phase angle from bioelectrical impedance analysis as prognostic factor for survival in patients with cancer. *Support Care Cancer* 19: 187-192.

Citation: Fernandes SA, Gonzalez MC, Bassani L, Miranda D, Pivatto B, et al. (2013) Is the Phase Angle, a Prognostic Indicator for Nutritional Status in Cirrhotic Patients? *J Antivir Antiretrovir S3*. doi:10.4172/jaa.S3-004

This article was originally published in a special issue, **Clinical & Basic Hepatology: Diagnosis** handled by Editor(s). Dr. Jiatong Zhuo, Centers for Diseases Control and Prevention, China

#### Submit your next manuscript and get advantages of OMICS Group submissions

##### Unique features:

- User friendly/feasible website-translation of your paper to 50 world's leading languages
- Audic Version of published paper
- Digital articles to share and explore

##### Special features:

- 250 Open Access Journals
- 20,000 editorial team
- 21 days rapid review process
- Quality and quick editorial, review and publication processing
- Including at PubMed (partial), Scopus, DOAJ, EBSCO, Index Copernicus and Google Scholar etc
- Sharing Option: Social Networking Enabled
- Authors, Reviewers and Editors rewarded with online Scientific Credits
- Better discount for your subsequent articles

Submit your manuscript at: <http://www.editorialmanager.com/virology>

## **An assessment of rat tongues in an experimental cirrhosis model**

Sabrina Alves Fernandes<sup>1</sup>, Silvia Bona<sup>2,3</sup>, Carlos Thadeu Schmidt Cerski<sup>4</sup>, Norma Possa Marroni<sup>2,3,5,6</sup>, Claudio Augusto Marroni<sup>1,3,7</sup>.

<sup>1</sup>Postgraduate Programme in Hepatology, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (*Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre*).

<sup>2</sup>Postgraduate Programme in Medical Sciences, Medical School, Federal University of Rio Grande do Sul (*Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS*).

<sup>3</sup>Laboratory of Hepatology and Gastroenterology, Teaching Hospital of Porto Alegre.

<sup>4</sup>Adjunct Professor, Department of Pathology, School of Medicine, UFRGS.

<sup>5</sup>Postgraduate Programme in Biological Sciences: Physiology, UFRGS.

<sup>6</sup>Postgraduate Programme in Bio-Health, Lutheran University of Brazil (*Universidade Luterana do Brasil*).

<sup>7</sup>Liver Transplant Group of Adults of Santa Casa of Porto Alegre.

## Abstract

**Introduction:** The inherent complications of cirrhosis include protein-calorie malnutrition (PCM) and micronutrient deficiencies. The phase angle (PA), measured via bioelectrical impedance analysis, has promise for associating the nutritional status with the cellular damage caused by the disease. Changes in taste are detrimental to the nutritional status. **Objectives:** This study aimed to evaluate the association between the effects of PCM and cell deficiencies and alterations in gustatory papillae structure in CCl<sub>4</sub>-induced cirrhotic animals. **Methods:** Fourteen male Wistar rats, two groups. After 16 weeks, the liver was removed to histologically diagnose cirrhosis, and blood was collected to perform liver integrity tests. The tongue was removed for histological examination and immunohistochemistry using antibodies against protein gene product PGP 9.5 and the sweet taste receptors T1R2 and T1R3. Morphological changes were determined by scanning electron microscopy (SEM). Serum zinc levels were measured, and the (PA) was measured. **Results:** The cirrhotic animals, but not the control animals, exhibited zinc deficiency. The PA in the cirrhotic animals there was a decrease between the two time points (1 and 2). In both groups, there was positive immunoreactivity for type II and III cells and T1R2 receptors. The cirrhotic animals had no immunoreactivity for T1R3 receptors. SEM analysis of the cirrhotic group revealed a uniform tapering of the gustatory papillae. **Conclusion:** The experimental cirrhosis model mimicked the biochemical and histological parameters of human cirrhosis, therefore enabling a study of the gustatory papillae and taste buds and an assessment of cell functionality, PCM and zinc deficiency.

**Keywords:** Cirrhosis, gustatory papillae, malnutrition, zinc, phase angle.

## Introduction

Cirrhosis is the most advanced stage of fibrosis and is associated with the emergence of fibrotic septa and nodules, changes in hepatic blood flow and the risk of liver failure. The hepatocyte dysfunction that results from hepatic disorder causes portal hypertension, which leads to the characteristic clinical manifestations of cirrhosis that affect the liver as well as other organ systems<sup>(1-3)</sup>.

One of the inherent complications of cirrhosis is protein-calorie malnutrition (PCM), or hepatic cachexia. PCM is the loss of lean and fat mass in conjunction with metabolic alterations that compromise vital functions. The predominance of PCM in cirrhotic patients, regardless of aetiology, ranges from 20% to 60% in patients with compensated cirrhosis and can reach 100% in candidates for orthotopic liver transplantation<sup>(6-8)</sup>.

Thus far, there are no efficient, reliable or reproducible methods to assess the degree of liver involvement and to correlate it with the clinical and nutritional condition of a patient. The desired method should include parameters that identify metabolic changes and simultaneously evaluate the common characteristics of this disease, such as oedema and ascites, that cause body asymmetry<sup>(9, 10)</sup>.

Bioelectrical impedance analysis (BIA) is a tool that utilises the phase angle (PA) to assist in evaluating the progress of liver cirrhosis in a practical way that meets the clinical requirements by reporting on body and cell structure, even in cases of body asymmetry. The PA enables the determination of cellular structure and function, thus indirectly improving the efficacy of nutritional interventions<sup>(10-14)</sup>.

Cirrhotic patients may present with several nutritional deficiencies, including zinc deficiency; zinc participates in homeostasis and the formation of protein structures. Because of its anti-inflammatory, anti-apoptotic and anti-oxidant properties, zinc inhibits cirrhosis-related fibrosis by controlling the function of hepatic stellate cells. Zinc deficiency, which is commonly observed in cirrhotic patients, may promote and/or potentiate malnutrition, dysgeusia, hypoalbuminemia, a portosystemic shunt and an imbalance in hepatic zinc extraction<sup>(15)</sup>.

The human tongue is covered with gustatory papillae that have specific functions (taste receptors and signalling). Via papillae, we can differentiate the sweet, bitter, sour, salty and umami flavours. Papillae can be circumvallate, fungiform, filiform or foliate, and they are all distributed on the back of the tongue<sup>(16)</sup>. In humans, changes in taste (dysgeusia) may exacerbate PCM related to cirrhosis<sup>(17)</sup>.

It is possible to detect changes in tongue structure that may indicate the pathophysiological process of dysgeusia. There are four types of cells (I, II, III and IV) in the gustatory papillae. These cells, especially types II and III, are responsible for the transduction of the taste signal to the brain<sup>(18-20)</sup>.

To differentiate the types of taste (bitter, sweet and umami), receptors are also present in the gustatory papillae (except for filiform papillae [FiP]) that enable the identification of changes in taste perception<sup>(21, 22)</sup>.

The T1R family of hetero-oligomeric taste receptors comprises three specific G protein-coupled receptors, T1R1, T1R2 and T1R3, that have distinct expression patterns. By studying these receptors, potential alterations in taste perception can be identified<sup>(23)</sup>.

To date, there have been no morphological and/or histological analyses of the tongues of cirrhotic patients, despite dysgeusia being a common complaint of these patients. Carbon

tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) is a hepatotoxic drug that is widely used in experimental studies of hepatic cirrhosis because its effects mimic human cirrhosis<sup>(4,5)</sup>.

In this study, we hypothesised that morphological and/or histological alterations occurred in the gustatory papillae of cirrhotic patients. However, performing tongue biopsies of cirrhotic and control patients was not feasible; therefore, we analysed the tongues of cirrhotic rats, which exhibited morphological and histological structures similar to the human tongue.

In this study, we aimed to correlate the changes related to PCM and cellular deficiencies with the alteration of the gustatory papillae structure in CCl<sub>4</sub>-induced cirrhotic animals.

## Methods

Fourteen male Wistar rats weighing between 200 and 250 g from the State Foundation for the Production and Health Research (*Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde* - FEPPS) were utilised. During the experiment, the animals were housed in the Animal Experimentation Unit of the Research Centre at the Teaching Hospital of Porto Alegre (Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA) in a 12-hour light/dark cycle (light from 7:00 to 19:00) and at a temperature of  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . The animals were randomly divided into two experimental groups: control (CO) and cirrhotic (CCl<sub>4</sub>). Both groups had controlled access to food, and phenobarbital (enzyme inducer) was added to the water (0.3 g/dL) to potentiate the CCl<sub>4</sub> effect<sup>(24)</sup>. The control group (CO) received 0.5 mL of mineral oil intraperitoneally (i.p.), and the CCl<sub>4</sub> group received CCl<sub>4</sub> (0.5 mL/kg i.p.) diluted in mineral oil at a 1:6 ratio. The drugs were administered on the following schedule: 10 doses at 5 day intervals, 10 doses at 4 day intervals and 7 doses at 3 day intervals. The animals were sacrificed 2 days after the last CCl<sub>4</sub> dose, at the end of week 16<sup>(25)</sup>.

All the procedures were performed according to the guidelines recommended by the Research Ethics Committee of HCPA, and the animal care followed the recommendations of the Principles of Laboratory Animal Care formulated by the National Society for Medical Research and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the National Institutes of Health<sup>(26)</sup>. After 27 doses, the animals were anaesthetised with an i.p. injection of xylazine (50 mg/kg) and ketamine (100 mg/kg). Blood samples were collected via the retro-orbital plexus to analyse the liver function<sup>(27)</sup>.

After sacrifice, the abdominal region was shaved, and a midline laparotomy was performed to collect the liver and the tongue of the animals.

### **Serum biochemical analysis**

Blood samples obtained from the retro-orbital plexus were utilised to evaluate serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) levels, which were expressed in U/L and measured using routine laboratory methods at HCPA.

### **Bioelectrical impedance analysis**

To measure total body resistance (R) and total body reactance (Xc), a phase-sensitive tetrapolar impedance analyser (Biodynamics BIA 450E) was utilised with hypodermic needles as electrodes. The rats were anaesthetised and placed in a prone position on a non-conductive surface to eliminate interference from the electrical induction. On the midline, source electrode 1 was placed at the anterior edge of the orbit, and source electrode 2 was placed 4 cm from the base of the tail. Detector electrode 1 was placed at the anterior opening of the ear, and detector electrode 2 was placed in the middle of the rat pelvis<sup>(28)</sup>. The analysis was performed in two phases, the initial phase (time 1) and the final phase (time 2).

### **Hepatic tissue lipid peroxidation measurements**

Frozen hepatic tissue from each rat was homogenised in ice-cold phosphate buffer (140 mM KCl and 20 mM phosphate, pH 7.4) and centrifuged at 3,000 rpm for 10 minutes. Oxidative stress was determined by measuring the concentration of aldehydic products (malondialdehyde [MDA]) using thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The absorbance (535 nm) of the supernatant was measured by spectrophotometry, and the values were expressed as nmol/mg protein<sup>(29)</sup>.

### **Zinc measurements**

The serum zinc concentration was measured using a Zinc Assay Kit (Abnova Corporation, Taipei City, Taiwan). The absorbance (425 nm) of the supernatant was measured by spectrophotometry, and the values were expressed as µg/dL.

### **Histology**

A piece of the liver and of the tongue from each animal was trimmed and fixed by immersion in 10% buffered formalin for 24 hours. The blocks were dehydrated in a graded series of ethanol and embedded in paraffin wax. Serial 3-mm sections were stained with picosirius and hematoxylin/eosin (H/E) (liver tissue) or with H/E (tongue tissue). Five sections from each sample were analysed by two independent pathologists with no prior knowledge of the animal groups.

### **Scanning Electron Microscopy**

The dorsal region of the tongue was collected and immersed in a fixative solution containing 4% glutaraldehyde. The samples were dehydrated in a graded acetone series: 30%, 50%, 70%, 95% and 100%. A CPD 030 Critical Point Dryer (Leica Microsystems, Buffalo Grove, IL) was utilised to remove moisture from the samples and to reach the critical point.

The metallisation was performed with a gold/palladium alloy. The samples were covered with an approximately 15-nm layer using a Metalizer Med 020 (Leica Microsystems). Images were captured with a Philips XL20 Scanning Electron Microscope at 40-800X magnification.

The taste buds were counted by pathologists who were blinded to the groups. The buds in each field were counted, and the mean was calculated for each sample. Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Bethesda, MD, USA) was utilised to determine the diameter of the gustatory papillae and the taste buds.

### **PGP 9.5, T1R2 and T1R3**

The expression of PGP 9.5, T1R2 and T1R3 in the tongue was determined by immunohistochemistry. Antigen recovery was performed using citrate buffer at 100°C, and endogenous peroxidase activity was blocked by incubating the slides at room temperature with absolute methanol containing 3% hydrogen peroxide. The slides were preincubated with 10% rabbit serum at room temperature to block potential undesirable reactions with the secondary antibody. The slides were incubated with polyclonal rabbit antibodies against PGP 9.5, T1R2 or T1R3 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) overnight at 4°C followed by an incubation with the secondary antibody for 1 hour at room temperature. After 60 minutes at room temperature, the slides were treated with EnVision reagents and washed 3 times with hydrogen peroxide (in PBS). The nuclei were counterstained with hematoxylin. The primary antibody was diluted in PBS containing bovine serum albumin; this buffer without a primary antibody was utilised as a negative control. The results were evaluated

without prior knowledge of the groups using a microscope equipped with a digital camera to capture the images using Image-Pro Plus (Media Cybernetics).

### Statistical analysis

The data were stored in Excel, and the statistical analyses were performed using SPSS (Statistical Package for Social Science) version 18.0. The results are expressed as the mean  $\pm$  standard deviation (SD). Student's t-test was utilised to compare the intragroup variables for paired samples and the intergroup variables for independent samples. A 5% level of significance was adopted ( $p \leq 0.05$ ).

### Results

After 16 weeks, we obtained histological confirmation of cirrhosis in all the treated animals (Figure 1B); there was no cirrhosis in the control animals (Figure 1A).

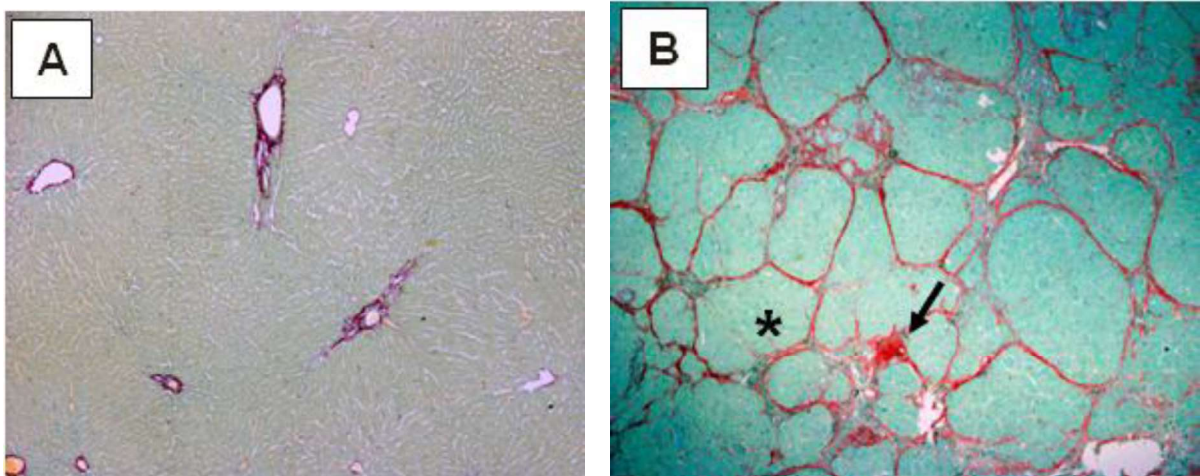


Figure 1: Liver histology. (A) Liver tissue with normal parenchyma. (B) Liver tissue with fibrous septa (arrow) and regenerative nodules (\*), which characterise the cirrhotic process. Picosirius staining at 100X magnification.

In addition to the histological evidence, the cirrhotic animals displayed significant changes in liver function (AST, ALT and ALP), indicating the presence of liver damage (Table 1).

The zinc levels were lower in the CCl<sub>4</sub> group than in the control group (Table 1).

In the lipid peroxidation analysis using TBARS, we observed an increase in lipid peroxidation in all the CCl<sub>4</sub>-induced cirrhotic animals ( $p = 0.05$ ).

**Table 1:** Zinc levels, liver integrity and lipid peroxidation analyses

Variables	Control (n = 7)	CCl <sub>4</sub> (n = 6)	p
	Mean ± SD	Mean ± SD	
AST (U/L)	171 ± 32.2	1016 ± 305	<0.001
ALT (U/L)	57.9 ± 19.2	270 ± 81.2	0.001
ALP (U/L)	65.0 ± 26.2	386 ± 103	<0.001
Zinc (µg/dL)	48.6 ± 13.5	10.8 ± 3.5	<0.001
TBARS (nmol/mg protein)	0.05 ± 0.00	0.09 ± 0.04	<0.05

The results are expressed as the mean ± SD.

Table 2 presents the body weight data for the control and cirrhotic (CCl<sub>4</sub>) animals at times 1 (initial) and 2 (final) and the PA measured by bioelectrical impedance analysis at the same timepoints.

**Table 2:** Comparison of body weight and PA (intra- and inter-groups)

		Control (n = 7)	CCl <sub>4</sub> (n = 6)	p between groups
		Mean ± SD	Mean ± SD	
Body weight (g)	Initial	239.4 ± 35.7	211.8 ± 52.8	0.287
	Final	296.1 ± 39.8	243.9 ± 17.0**	0.013
	Δ(final - initial)	56.6 (45.1 - 68.1)*	32.1 (-9.1 - 73.3)	0.193
Phase angle (°)	Initial	7.64 ± 0.75	9.30 ± 0.95	0.005
	Final	7.60 ± 1.51	7.73 ± 1.14	0.863
	Δ(final - initial)	0.04 (-1.67 - 1.76)	1.57 (0.22 - 2.92)*	0.120

\*p ≤ 0.05 The results are expressed as the mean ± SD.

\*\* Weight of animals with ascites.

In analysing the initial (time 1) and final (time 2) timepoints, we discovered that the control group gained statistically significantly more weight than the CCl<sub>4</sub> group (Table 2).

The PA was evaluated at the same timepoints (times 1 and 2). There was a statistically significant difference in the CCl<sub>4</sub> group between times 1 and 2, as evidenced by the 2-degree decrease from the initial value to the final value (Figure 2).

Figure 2 illustrates the difference in the PA (mean and SD) at times 1 and 2 for both groups, with a confidence interval of 95%.

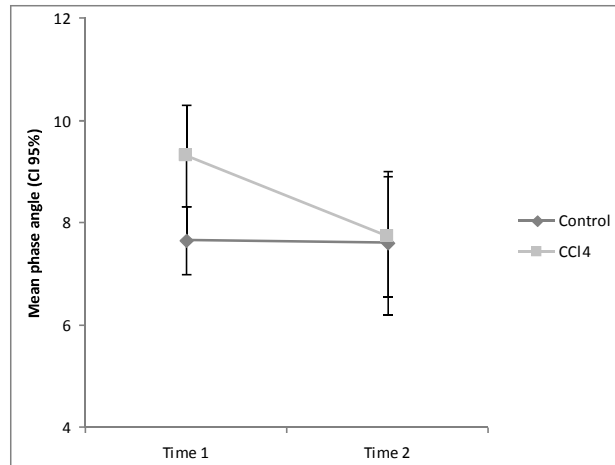


Figure 2: Intragroup comparative analysis of the PA at times 1 and 2.

### Histological Analysis of the Rat Tongues

The initial histological analysis of the rat tongue structure was performed using H/E staining. This revealed a significant reduction in FiP in the cirrhotic animals compared with the control animals.

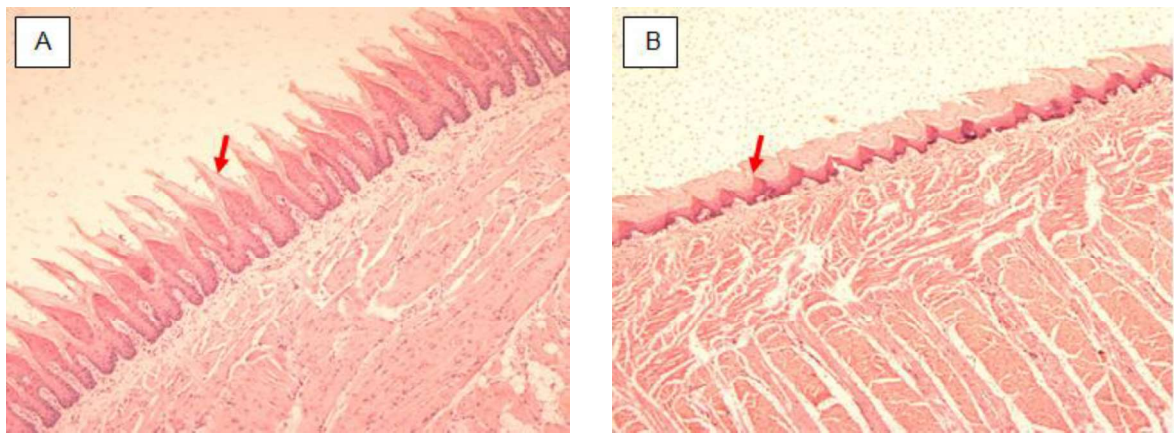


Figure 3: Histological analysis of the rat tongues by H/E staining. (A) FiP in the control group exhibited normal structure; the arrow indicates a FiP (100X magnification). (B) FiP in the cirrhosis group had an abnormal structure, and there were fewer papillae; the arrow indicates a FiP (100X magnification).

SEM analysis of the morphological structure of the tongue revealed that tapering of the gustatory papillae occurred, particularly in the base diameter and the apical region, in the CCl<sub>4</sub> group (Figures 4A and 4B). Compared with the control animals, the taste buds in the cirrhotic animals displayed morphological changes (Table 3).

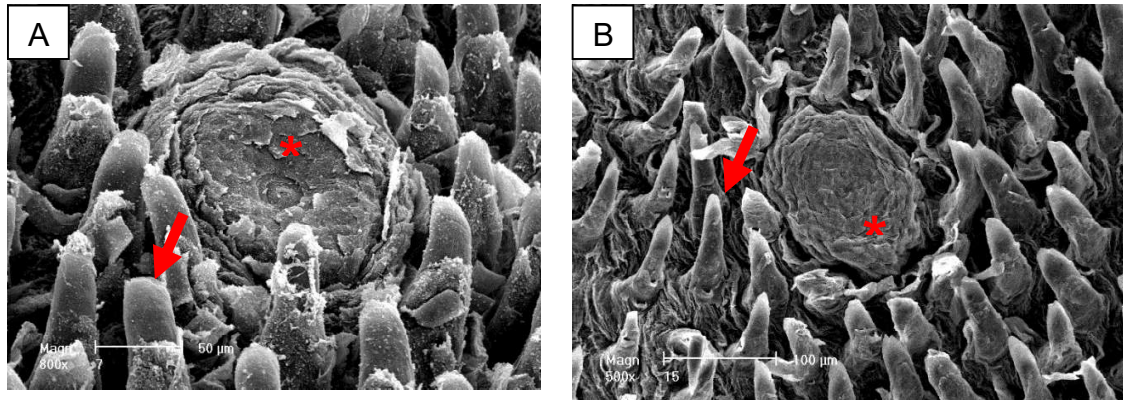


Figure 4: Morphological analysis of the gustatory papillae by SEM. (A) Morphological analysis of the papillae in the control group: intact papillae (red arrow) and normal taste buds (\*) (800X). (B) FiP of the reduced diameter in the apical region (red arrow) and a smaller, exposed taste bud (\*) (500X).

**Table 3:** Quantitative analysis of taste bud structure

	<b>Control</b> Mean ± SD	<b>CCl<sub>4</sub></b> Mean ± SD	<b>p</b>
<b>Papilla angle</b> μm	102.47 ± 9.707	121.25 ± 9.802	0.0001
<b>Apex width</b> μm	16.13 ± 2.644	11.67 ± 1.794	0.0001
<b>Base width</b> μm	43.93 ± 3.138	28.37 ± 4.231	0.0001
<b>Papilla height</b> μm	151.33 ± 9.233	76.34 ± 4.961	0.0001
<b>Taste bud area</b> μm	3.69 ± 0.439	2.57 ± 0.514	0.0001
<b>Taste bud diameter</b> μm	73.72 ± 12.63	55.05 ± 7.659	0.0008

In the animals in the cirrhosis group, some tongues had only one taste bud per field, whereas others contained no taste buds. In the control group, the presence of taste buds per field ranged between 2 and 6.

The immunohistochemical analysis of the innervation of the gustatory papillae using a PGP 9.5 antibody revealed that the control and CCl<sub>4</sub> animals had fungiform papillae (FuP) and FiP in the dorsal region of the tongue (Figures 5A and 5B).

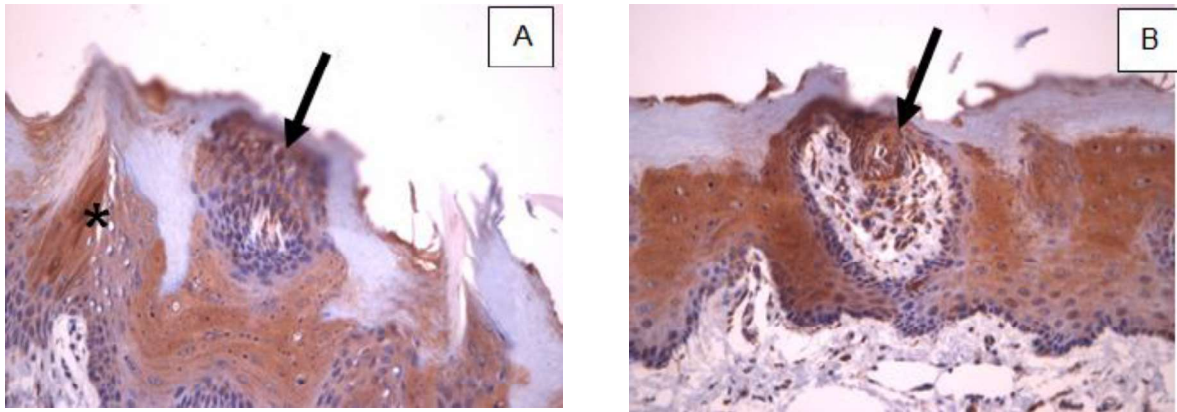


Figure 5. Immunohistochemical analysis of innervation in the dorsal region of the tongue of control and cirrhotic rats using a PGP 9.5 antibody. (A) FuP (arrow) and FiP (\*) in a control rat (400X). (B) FuP (arrow) in the absence of FiP in a cirrhotic rat (400X).

An immunohistochemical analysis of the T1R receptor family (T1R2 and T1R3) in the gustatory papillae of rats was performed to determine the potential for the sweet taste (Figures 6 and 7).

T1R2 receptor immunoreactivity was observed in both groups (Figures 6A and 6B).

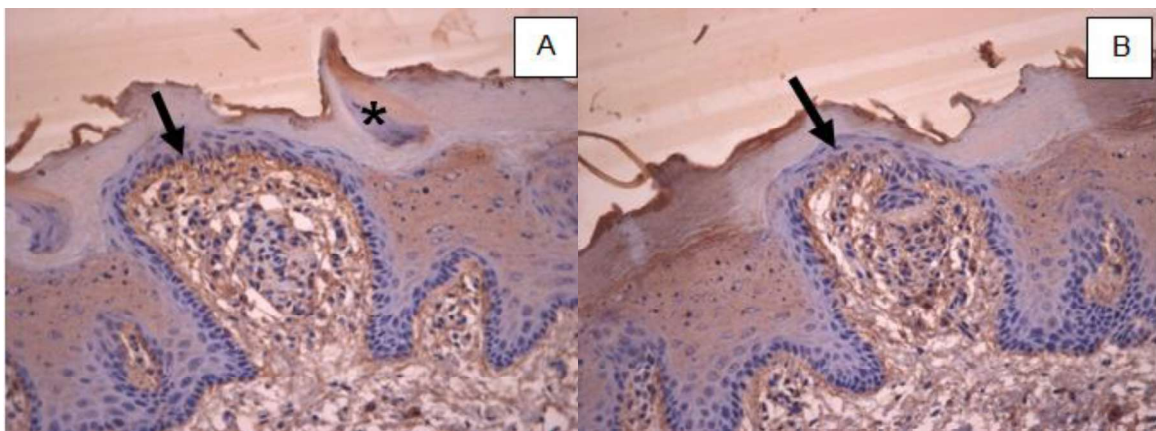


Figure 6: Analysis of T1R2 receptor expression in FuP in control and cirrhotic rats. (A) FuP (arrow) and FiP (\*) in a control rat with T1R2 receptor immunoreactivity (400X). (B) FuP (arrow) in a cirrhotic rat with T1R2 receptor immunoreactivity (400X).

There was positive immunoreactivity for T1R3 receptor in the control animals but not in the cirrhotic animals (Figures 7A and 7B).

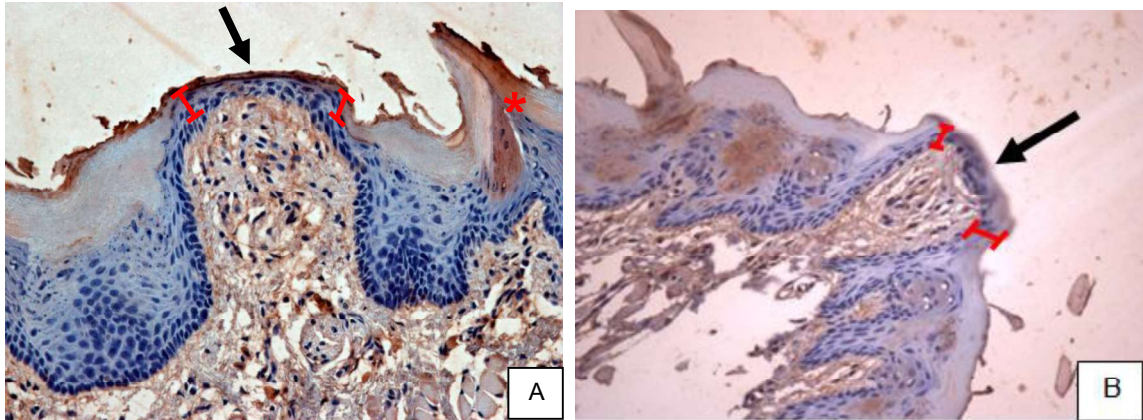


Figure 7: Analysis of T1R3 receptor expression in FuP in control and cirrhotic rats. (A) FuP (arrow), the presence of FiP (\*) and keratin preservation (indicating the thickness) in a control rat (400X). (B) FuP in a cirrhotic rat at the end of the anterior region of the tongue (arrow). FiP and keratinisation were absent (400X).

## Discussion

The classic  $\text{CCl}_4$ -induced cirrhosis model is widely accepted in the literature because it has characteristics similar to those of human cirrhosis.

AST and ALT are enzymes that are sensitive to hepatocellular injury. The release of large amounts of these enzymes into the bloodstream is associated with centrilobular necrosis, degeneration and decreased liver function. In our study, we observed a significant increase in the liver enzyme levels in cirrhotic animals, confirming what has been previously reported<sup>(24, 30)</sup>.

Zinc is hepatoprotective and required for ALP activity. Zinc deficiency causes symptoms such as anorexia and taste changes. Reinforcing the characteristics of this metal, low zinc levels have been observed in cirrhotic animals<sup>(31)</sup>, and this was confirmed by the ALP and zinc levels detected in our study.

The  $\text{CCl}_4$ -induced cirrhosis model involves various signalling pathways that result in liver injury; this was confirmed in this study by the TBARS values that indicated a relationship between  $\text{CCl}_4$ -induced changes in the liver parenchyma and the formation of reactive oxygen species (ROS) by the hepatic microsomal system, potentially through the formation of trichloromethyl ( $\text{CCl}_3\bullet$ ) and trichloromethyl peroxide ( $\text{CCl}_3\text{OO}\bullet$ ) radicals. This oxidative process causes cellular damage and may increase ion permeability and membrane and structural disintegration<sup>(32)</sup>, which can be measured by bioelectrical impedance analysis (the PA).

The reduced PA in the cirrhotic animals was accompanied by an increase in liver enzyme levels and in lipid peroxidation. The body structure of the cirrhotic animals changed as they lost weight.

Similar to humans, the cirrhotic animals exhibited body asymmetry resulting from the development of ascites, a symptom that is characteristic of cirrhosis. This change in body composition complicates the determination of the actual nutritional status of the analysed organism when conventional methods, such as anthropometric measurements, are utilised that are based primarily on the amount of body fat <sup>(28)</sup>.

The PA has been used as a prognostic factor that assesses cell functionality, and it is associated with other indices that are indicative of the health status of an organism. Currently, there have been no studies using this profile in animals.

Cells in the nerve plexus in taste buds are divided based on function into type I, II, III and IV cells. Only type II and III cells are responsive to stimuli and are called “light” cells <sup>(33)</sup>. Type II cells receive a stimulus and transmit the signal to type III cells, which form a synapse. In 1982, Nagy et al. demonstrated that there are nerve fibres in the fungiform and circumvallate papillae of rats and that it is possible to record them <sup>(34)</sup>.

We confirmed these findings by identifying nerve fibres in the FuP in both animal groups. Yee et al. reported that PGP 9.5 immunoreactivity in the gustatory papillae indicated the presence of type III cells <sup>(18)</sup>.

Five types of taste have been described; in this study, because of the disease characteristics, we chose to analyse the sweet taste because it is linked to a higher percentage of daily caloric intake. The sweet taste is present in all types of gustatory papillae, and its response to stimuli is similar in different mammals <sup>(35)</sup>.

The sweet taste can be detected via the combination of two receptors (T1R2 and T1R3) that determine the function of the heteromeric T1R receptor. T1R receptors are G protein-coupled receptors (GPCRs); class C GPCRs have a long N-terminus, similar to metabotropic glutamate receptors, GABA<sub>B</sub> receptors and calcium signal receptors <sup>(36)</sup>.

Hoon et al. reported in 1997 that the majority of T1R1 receptors are expressed in FuP and are rare in circumvallate papillae. In contrast, T1R2 are poorly expressed in FuP but are expressed in all circumvallate papillae. T1R3 are expressed in both papillae types <sup>(23)</sup>. We did not observe T1R3-immunoreactive cells, which would mediate the sweet taste, in the cirrhosis group.

In 2003, Kim et al. compared the signalling activity of circumvallate papillae and FuP and determined that FuP can play the same role in responding to sweet stimuli <sup>(37)</sup>.

In our study, using various techniques, we observed thinning of FiP in the cirrhosis group, which would impair the salty taste. The salty taste is detected directly by Na<sup>+</sup> permeability in the apical region of the papilla, causing cell depolarisation to perceive the

taste. When there is a thinning of the papillae or they have a decreased diameter, sodium comes into contact with other structures in the dorsal region of the tongue, causing a gradual loss of papillary structure because of an continuous imbalance <sup>(35)</sup>.

Sweet taste aversion and salty taste intolerance are the two symptoms related to taste that are commonly mentioned by cirrhotic patients, which leads us to hypothesise that the changes in the gustatory papillae of cirrhotic animals may play a role in dysgeusia, which is frequently observed in clinical practice.

## **Conclusions**

The experimental cirrhosis model induced by the intraperitoneal injection of CCl<sub>4</sub> mimicked the biochemical and histological parameters of human cirrhosis, enabling a study of the gustatory papillae and taste buds, an assessment of cell functionality (bioelectrical impedance analysis) and an evaluation of a relationship with potential PCM and zinc deficiency. These findings improve our understanding of the deficiencies of patients with cirrhosis and will lead to hepatology studies to develop effective nutritional strategies that will result in improved clinical treatment.

## **Acknowledgments**

We would like to gratefully acknowledge the Postgraduate Programme in Hepatology at the Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (*Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA*), the Incentive Fund for Research and Events (*Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos/ Hospital das Clínicas de Porto Alegre - FIFE/HCPA (12-0139)*), the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (*Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES*), the National Council of Scientific and Technological Development (*Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico - CNPQ*), the Foundation for Research Support of the State of Rio Grande do Sul (*Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS*) and Lutheran University of Brazil (*Universidade Luterana do Brasil - ULBRA*).

## References

1. Friedman SL. (2003) Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol* 38, Suppl 1:S38-53.
2. Friedman SL. (2008) Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 134, 1655-1669.
3. Mattos AA, Dantas-Corrêa EB. (2010) *Tratado de Hepatologia*. 1st ed. Rio de Janeiro: Rubio.
4. Fang HL, Lin WC. (2008) Lipid peroxidation products do not activate hepatic stellate cells. *Toxicology* 253, 36-45.
5. Pérez Tamayo R. (1983) Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl<sub>4</sub> and adequate model of human cirrhosis? *Hepatology* 3, 112-120.
6. Rivera Irigoín R, Abilés J. (2012) [Nutritional support in patients with liver cirrhosis]. *Gastroenterol Hepatol* 35, 594-601.
7. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. (2006) Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol* 44, 217-231.
8. Lowell JA. (1996) Nutritional assessment and therapy in patients requiring liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 2, 5 Suppl 1, 79-88.
9. Baumgartner RN, Heymsfield SB, Lichtman S et al. (1991) Body composition in elderly people: effect of criterion estimates on predictive equations. *Am J Clin Nutr* 53, 1345-1353.
10. Norman K, Stobäus N, Pirlich M et al. (2012) Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis - Clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clin Nutr* 31, 854-861.
11. Baumgartner RN, Chumlea WC, Roche AF. (1988) Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Am J Clin Nutr* 48, 16-23.
12. Fernandes SA, Bassani L, Nunes FF et al. (2012) Nutritional assessment in patients with cirrhosis. *Arq Gastroenterol* 49, 19-27.
13. Paiva SI, Borges LR, Halpern-Silveira D et al. (2011) Standardized phase angle from bioelectrical impedance analysis as prognostic factor for survival in patients with cancer. *Support Care Cancer* 19, 187-192.
14. Gupta D, Lis CG, Dahlk SL et al. (2008) The relationship between bioelectrical impedance phase angle and subjective global assessment in advanced colorectal cancer. *Nutr J* 7, 19.
15. Zalewski PD, Truong-Tran AQ, Grosser D et al. (2005) Zinc metabolism in airway epithelium and airway inflammation: basic mechanisms and clinical targets. A review. *Pharmacol Ther* 105, 127-149.
16. Guyton AC, Hall JE. (2002) *Tratado de Fisiologia Médica*. 10th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
17. Doty RL. (1995) *Handbook of Olfaction and Gustation*. New York: Dekker.
18. Yee CL, Yang R, Böttger B et al. (2001) "Type III" cells of rat taste buds: immunohistochemical and ultrastructural studies of neuron-specific enolase, protein gene product 9.5, and serotonin. *J Comp Neurol* 440, 97-108.
19. Breslin PA, Huang L. (2006) Human taste: peripheral anatomy, taste transduction, and coding. *Adv Otorhinolaryngol* 63, 152-190.
20. Margolskee RF. (2002) Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction. *J Biol Chem* 277, 1-4.
21. Chaudhari N, Roper SD. (2010) The cell biology of taste. *J Cell Biol* 190, 285-296.
22. DeFazio RA, Dvoryanchikov G, Maruyama Y et al. (2006) Separate populations of receptor cells and presynaptic cells in mouse taste buds. *J Neurosci*. 2006; 26, 3971-3980.

23. Hoon MA, Adler E, Lindemeier J et al. (1999) Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell* 96, 541-551.
24. Bona S, Filippin LI, Di Naso FC et al. (2012) Effect of antioxidant treatment on fibrogenesis in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *ISRN Gastroenterol* 2012:762920.
25. Pavanato A, Tuñón MJ, Sánchez-Campos S et al. (2003) Effects of quercetin on liver damage in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Dig Dis Sci* 48, 824-829.
26. Rozmiarek H. (1987) Current and future policies regarding laboratory animal welfare. *Invest Radiol* 22, 175-179.
27. Halpern BN, Pacaud A. (1951) [Technique of obtaining blood samples from small laboratory animals by puncture of ophthalmic plexus]. *C R Seances Soc Biol Fil* 145, 1465-1466.
28. Hall CB, Lukaski HC, Marchello MJ. (1989) Estimation of rat body composition using tetrapolar bioelectrical impedance analysis. *Nutrition Reports International* 39, 627-633.
29. Buege JA, Aust SD. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 52, 302-310.
30. Cremonese RV, Pereira-Filho AA, Magalhães R et al. (2001) [Experimental cirrhosis induced by carbon tetrachloride inhalation: adaptation of the technique and evaluation of lipid peroxidation]. *Arq Gastroenterol* 38, 40-47.
31. Weismann K, Christensen E, Dreyer V. (1979) Zinc supplementation in alcoholic cirrhosis. A double-blind clinical trial. *Acta Med Scand* 205, 361-366.
32. Halliwell B, Gutteridge J. (1999) *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. New York: Oxford.
33. Pumplun DW, Yu C, Smith DV. (1997) Light and dark cells of rat vallate taste buds are morphologically distinct cell types. *J Comp Neurol* 378, 389-410.
34. Nagy JI, Goedert M, Hunt SP et al. (1982) The nature of the substance P-containing nerve fibres in taste papillae of the rat tongue. *Neuroscience* 7, 3137-3151.
35. Behrens M, Meyerhof W. (2011) Gustatory and extragustatory functions of mammalian taste receptors. *Physiol Behav* 105, 4-13.
36. Renwick AG, Molinary SV. (2010) Sweet-taste receptors, low-energy sweeteners, glucose absorption and insulin release. *Br J Nutr* 104, 1415-1420.
37. Kim MR, Kusakabe Y, Miura H et al. (2003) Regional expression patterns of taste receptors and gustducin in the mouse tongue. *Biochem Biophys Res Commun* 312, 500-506.

## 5 CONCLUSÕES GERAIS

É notório o crescimento mundial de doenças hepáticas crônicas, e atreladas a elas surgem complicações inerentes da evolução da história natural da doença. Alterações corporais definidas como assimetria corporal são comumente observadas na cirrose decorrentes de sintomas provenientes da hipertensão portal como edema e ascite. Esse quadro clínico tende a piorar à medida que a cirrose evolui, dificultando o manejo nutricional para restaurar o estado deficitário de nutrição do paciente cirrótico.

Entretanto, é preciso ter o parâmetro que indique um real estado nutricional do paciente e, assim, traçar um plano alimentar de cura e/ou manutenção de suas carências nutricionais.

Para isso, foi necessário identificar um método que fornecesse informações fidedignas, reproduzíveis, de baixo custo e rápidas para que fossem inseridas na rotina clínica no atendimento nutricional do paciente cirrótico. Realizada avaliação nutricional por diferentes métodos, identifica-se o AF através da bioimpedância elétrica, como um bom parâmetro prognóstico por sua associação significativa com a piora da cirrose graduada pelo escore Child-Pugh.

O desempenho nutricional do paciente cirrótico, frente às medidas interventivas realizadas, nem sempre apresenta um resultado positivo, devido à disgeusia, ou seja, alteração de paladar.

Sabendo que a DPC e carências de minerais podem variar de 20 a 60% dos casos em pacientes cirróticos compensados, percebe-se a importância da compreensão de mecanismos fisiopatológicos que ocorrem na cirrose, como no caso da disgeusia e da DPC.

O modelo de cirrose experimental por CCl<sub>4</sub> viabilizou o estudo das papilas e botões gustativos, além da avaliação da funcionalidade celular pelo AF através da bioimpedância elétrica, agregado a uma possível DPC.

O estudo histomorfológico da língua de animais cirróticos indicou alterações no gosto salgado e doce, podendo, com base em estudos futuros, explicar a causa da disgeusia e conseqüentemente a redução da ingestão calórica de pacientes cirróticos.

## ANEXO 1 – Consentimento Livre e Esclarecido

### CONVITE À PARTICIPAÇÃO DE UM ESTUDO SOBRE AVALIAÇÃO DE PESO

Estamos realizando um trabalho de pesquisa sobre avaliação do peso corporal durante o tratamento clínico. Para isto, gostaríamos de contar com a sua colaboração durante alguns minutos para responder algumas perguntas e permitir que possamos pesá-lo(a), medi-lo(a) para avaliarmos o valor de gordura que contém no seu corpo. Essas medidas serão feitas com um aparelho chamado Adipômetro, o qual é indolor, não causando qualquer incômodo. Logo após será utilizado um aparelho chamado Bioimpedância, que mede sua composição corporal de líquidos, gordura e quantidade de músculos. Para finalizar o senhor(a) apertará com uma das mãos, um aparelho chamado de Dinamômetro, o qual vamos medir sua força. Também serão solicitados alguns exames de sangue, a fim de quantificar se há algum grau de desnutrição.

Gostaríamos de deixar claro que esta pesquisa é independente de seu tratamento e em nada influenciará caso o(a) senhor(a) não estiver de acordo em participar, ou que venha retirar seu consentimento posteriormente. Asseguramos que todas as informações prestadas pelo(a) senhor(a) são sigilosas e serão utilizadas somente para esta pesquisa. A divulgação das informações será anônima e em conjunto com as respostas de um grupo de pessoas. Caso o(a) senhor(a) concorde poderá passar as informações obtidas a partir desta pesquisa para o seu médico e isto poderá auxiliá-lo na compreensão de seu caso.

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição que garantiu sua aprovação.

A participação deste estudo não gera nenhum ônus, ou seja, é totalmente gratuito.

Se você tiver alguma pergunta a fazer antes de decidir, sinta-se à vontade para fazê-la, ou ainda, caso sinta necessidade poderá entrar em contato com:

Nut. Sabrina A. Fernandes Dahlem

Telefone: (051) 95167911

Prof. Dr. Cláudio Augusto Marroni

Telefone: (051) 3214.8000

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /20

Nome do entrevistado: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome do entrevistador: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## ANEXO 2 – Certificado de Tradução para Língua Inglesa (Artigo 3)



AMERICAN JOURNAL EXPERTS

# EDITORIAL CERTIFICATE

This document certifies that the manuscript listed below was edited for proper English language, grammar, punctuation, spelling, and overall style by one or more of the highly qualified native English speaking editors at American Journal Experts.

### Manuscript title:

Avaliação da língua de ratos em um modelo experimental de cirrose.

### Authors:

Sabrina Alves Fernandes, Silvia Bona, Carlos Thadeu Schmidt Cerski, Norma Possa Marroni, Claudio Augusto Marroni.

### Date Issued:

June 20, 2013

### Certificate Verification Key:

F2D5-0EAF-F9B5-FC01-58A4



This certificate may be verified at [www.journalexperts.com/certificate](http://www.journalexperts.com/certificate). This document certifies that the manuscript listed above was edited for proper English language, grammar, punctuation, spelling, and overall style by one or more of the highly qualified native English speaking editors at American Journal Experts. Neither the research content nor the authors' intentions were altered in any way during the editing process. Documents receiving this certification should be English-ready for publication; however, the author has the ability to accept or reject our suggestions and changes. To verify the final AJE edited version, please visit our verification page. If you have any questions or concerns about this edited document, please contact American Journal Experts at [support@journalexperts.com](mailto:support@journalexperts.com).

American Journal Experts provides a range of editing, translation and manuscript services for researchers and publishers around the world. Our top-quality PhD editors are all native English speakers from America's top universities. Our editors come from nearly every research field and possess the highest qualifications to edit research manuscripts written by non-native English speakers. For more information about our company, services and/or partner discounts, please visit [www.journalexperts.com](http://www.journalexperts.com).

## ANEXO 3 – Carta de Aprovação – Trabalho 3



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA) analisou o projeto:

**Projeto:** 120139

**Data da Versão do Projeto:**

**Pesquisadores:**

NORMA ANAIR POSSA MARRONI

CLÁUDIO AUGUSTO MARRONI

SABRINA ALVES FERNANDES

MARIANA DOS SANTOS OLIVEIRA

DANIELE LAZZAROTTO HARTER

**Título:** Análise dos aspectos estruturais das papilas gustativas de ratos cirróticos e a ação da melatonina

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08/10/2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais.

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação de projetos onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.

Dr. Alessandro Osvaldt  
Coordenador CEUA/HCPA

Porto Alegre, 23 de agosto de 2012.

## ANEXO – 4 - Orçamento Disponibilizado pelo FIPE - Trabalho 3

### HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

GPPG - GRUPO DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO

SERVIÇO DE GESTÃO EM PESQUISA

ORÇAMENTO WEB V.2						
			Data	quinta-feira, 18 de julho de 2013		
ANÁLISE DOS ASPECTOS ESTRUTURAIS DAS PAPILAS GUSTATIVAS DE RATOS CIRRÓTICOS E A AÇÃO DA MELATONINA						
Pesquisador Responsável			Norma Possa Marroni			
Classificação do Estudo			Pesquisa em Animais			
Financiado por:			FIPE////			
N (Número de Sujeitos de Pesquisa)			40			
Exames Clínicos - Sangue						
Exames	Código	Financiador	Quantidade	V.U	Valor Total	
Alanina Aminotransferase	0	FIPE	40	R\$ 2,01	R\$ 80,40	
Aspartato aminotransferase	0	FIPE	40	R\$ 2,01	R\$ 80,40	
Bilirrubina	0	FIPE	40	R\$ 2,01	R\$ 80,40	
Fosfatase Alcalina	0	FIPE	40	R\$ 2,01	R\$ 80,40	
<b>SUBTOTAL (Exames)</b>					<b>R\$ 321,60</b>	
Unidade de Experimentação Animal						
Item	Código	Financiador	Quantidade	V.U	Valor Total	
Aguilha 25x07 Descartável Estéril caixa com 100	2615	FIPE	70	R\$ 6,50	R\$ 455,00	
Frasco para coleta urina (EQU)	187070	FIPE	80	R\$ 0,24	R\$ 19,20	
Lamina de barbear	8168	FIPE	4	R\$ 0,94	R\$ 3,76	
Ponteira amarela ou incolor de 0-200ul s/ ranhura pacote com 1000	21024	FIPE	2	R\$ 14,80	R\$ 29,60	
Ponteira p-1000 cap. 200-1000ul estéril em racks de 96 unidades por peça	246921	FIPE	1	R\$ 0,13	R\$ 0,13	
Seringa 1ml com agulha unitário	2291	FIPE	100	R\$ 0,13	R\$ 13,00	
Seringa 3ml sem agulha desc	2356	FIPE	50	R\$ 0,09	R\$ 4,50	
Soro Fisiológico 100ML 0,9% (cloreto de sodio)	202550	FIPE	20	R\$ 1,50	R\$ 30,00	
tubo de Coleta (Tampa Vermelha) - seco 4ml.	7137	FIPE	40	R\$ 0,19	R\$ 7,60	
Fenobarbital 40mg/ml ampola 2mL	233412	FIPE	190	R\$ 1,50	R\$ 285,00	
Quetamina Frasco de 10ml	274836	FIPE	3	R\$ 28,00	R\$ 84,00	
Xilazina Frasco de 10ml	274835	FIPE	3	R\$ 19,00	R\$ 57,00	
<b>SUBTOTAL (Unidade de Experimentação Animal)</b>					<b>R\$ 988,79</b>	
Unidade de Experimentação Animal (Serviços)						
Item	0	0	Quantidade	Valor Unit.	Valor Total	
Animais (Rato)	0	FIPE	40	R\$ 16,00	R\$ 640,00	
Diárias - Rato e Camundongo	0	FIPE	4800	R\$ 0,50	R\$ 2.400,00	
Taxa de Rateio (MENSAL)	0	FIPE	4	R\$ 50,00	R\$ 200,00	
<b>SUBTOTAL (Serviços UEA)</b>					<b>R\$ 3.240,00</b>	
KITS						
Item	NAC/IMP	Financiador	Quantidade	V.U	Valor Total	
Polyclonal Rabbit Anti-PGP 9.5 1ml	IMPORTADO	FIPE	1	R\$ 2.000,00	R\$ 3.000,00	
<b>SUBTOTAL (KITS - NACIONAIS/IMPORTADOS)</b>					<b>R\$ 3.000,00</b>	
Laboratório de Patologia						
Item	Código	Financiador	Quantidade	V.U	Valor Total	
Fazer 01 lâmina com qualquer coloração	0	FIPE	40	R\$ 10,00	R\$ 400,00	
Fazer 01 lâmina de HE (todo material fornecido pelo HCPA)	0	FIPE	80	R\$ 10,00	R\$ 800,00	
Fazer 01 lâmina Imunohistoquímica trazendo o anticorpo	0	FIPE	40	R\$ 20,00	R\$ 800,00	
<b>SUBTOTAL (Laboratório de Patologia)</b>					<b>R\$ 2.000,00</b>	
Materiais Diversos						
Item	Código	Financiador	Quantidade	V.U	Valor Total	
Bobina de papel termosensível p/ Bioimpedância	283629	FIPE	1	R\$ 15,00	R\$ 15,00	
<b>SUBTOTAL (Materiais Diversos)</b>					<b>R\$ 15,00</b>	
Outros Materiais						
Item	Código	Financiador	Quantidade	V.U	Valor Total	
Microscopia eletrônica de varredura	0	FIPE	15	R\$ 141,00	R\$ 2.115,00	
<b>SUBTOTAL (Outros materiais)</b>					<b>R\$ 2.115,00</b>	
<b>TOTAL DO PROJETO</b>					<b>R\$ 11.680,39</b>	
<b>FIPE</b>					<b>R\$ 11.680,39</b>	

Sr. Pesquisador em caso de haver informações/observações necessárias a serem realizadas, utilize este campo:

*Programa Desenvolvido por **Rafael Zimmer** - Financeiro GPPG*