



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

VÂNIA PATRÍCIA BENIDO SILVA

***MANIFESTAÇÕES EXTRA-HEPÁTICAS SISTÉMICAS
NA CIRROSE BILIAR PRIMÁRIA: PREVALÊNCIA E
IMPLICAÇÃO PROGNÓSTICA***

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE GASTROENTEROLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
LUIS FILIPE FURTADO SOARES TOMÉ
MARTA ISABEL DA FONSECA GRAVITO SOARES**

[MARÇO/2016]

Resumo:

Introdução: Apesar das manifestações hepáticas da Cirrose Biliar Primária (CBP) estarem bem definidas, as manifestações sistêmicas extra-hepáticas (MEH) associadas a esta patologia permanecem por estabelecer. Existe ainda uma escassa informação relativamente ao impacto que estas condições têm no curso natural da doença hepática e na sobrevida do doente. O objetivo principal deste trabalho foi determinar a prevalência das MEH em doentes com CBP e secundariamente, averiguar a possível associação entre estas condições e o prognóstico, incluindo a sobrevida global dos doentes.

Métodos: Foi realizado um estudo retrospectivo caso-controlo, que incluiu oitenta e dois doentes com o diagnóstico de CBP, seguidos entre Janeiro de 2000 e Dezembro de 2014 no serviço de Gastrenterologia de um hospital terciário, subdivididos em dois grupos, consoante a presença (casos) ou ausência (controlos) de MEH. Foram avaliadas as diferenças entre os dois grupos, quanto a características clínicas, laboratoriais, histológicas, imunológicas e prognóstico.

Resultados: Quarenta e quatro doentes (53,7%) apresentaram pelo menos uma MEH. As manifestações reumatológicas foram as mais comuns (41 casos, 50,0%), sendo a mais frequente a osteoporose, presente em 22 doentes (26,8%). O Síndrome de Sjogrén foi a condição autoimune mais prevalente (11 casos, 13,4%). Comparativamente aos doentes sem MEH, aqueles com MEH apresentaram alterações laboratoriais da enzimologia hepática ($p=0,034$ e $p<0,001$) e dos parâmetros inflamatórios mais marcadas ($p=0,041$ e $p=0,015$). Quanto ao prognóstico, os doentes com MEH desenvolveram mais complicações decorrentes da cirrose hepática ($p=0,037$), e integraram mais significativamente o grupo de pior prognóstico definido pela presença de complicações de cirrose hepática, necessidade de transplante e/ou mortalidade global ($p=0,015$) ou por CBP ($p=0,027$), sem no entanto se traduzir numa diminuição significativa da sobrevida global.

Conclusão: No nosso estudo, a CBP cursou com MEH em cerca de metade dos casos. Esta associação correlacionou-se com um pior prognóstico da doença hepática sem, no entanto, ter influenciado a sobrevida global dos doentes. Serão necessários estudos futuros para compreender o verdadeiro impacto destas condições.

Palavras-chave: Cirrose Biliar Primária; manifestações extra-hepáticas; autoimunidade; prognóstico; sobrevida global.

Abstract:

Introduction: Despite the hepatic manifestations of Primary Biliary Cirrhosis (PBC) are well defined, systemic Extrahepatic Manifestations (EHM) associated with this disease remain to be established. There is scarce information about the impact that these conditions have on the natural course of liver disease and patient survival. The primary objective of this study was to determine the prevalence of EHM in patients with PBC and secondarily, to determine the possible association between these conditions and the prognosis, including overall survival of patients.

Methods: It was performed a retrospective case-control study that included eighty-two patients with the diagnosis of PBC, followed between January 2000 and December 2014 in the gastroenterology department of a tertiary hospital, divided into two groups according to the presence (cases) or absence (controls) of EHM. The differences in clinical, laboratory, histological and immunological features and prognosis were evaluated between the two groups.

Results: Forty-four patients (53,7%) had at least one EHM. The rheumatologic manifestations were the most common (41 patients, 50,0%), and the most frequent was osteoporosis, present in 22 patients (26,8%). The Sjogren's Syndrome was the most prevalent autoimmune

condition (11 cases, 13,4%). Compared to patients without EHM, those with EHM presented with more significant laboratory abnormalities of liver enzymology ($p=0,034$ and $p<0,001$) and inflammatory parameters ($p=0,041$ and $p=0,015$). About the prognosis, patients with EHM developed more complications of cirrhosis ($p=0,037$), and integrated more significantly the worse prognosis group defined by the presence of liver cirrhosis complications, need for transplantation and/or overall mortality ($p=0,015$) or CBP ($p=0,027$) without, however, would result in a significant decrease in overall survival.

Conclusion: In our study, the PBC coursed with EHM in about half of the cases. This combination correlated with a worse prognosis of liver disease without, however, having influenced the overall survival of patients. Further studies are required to understand the true impact of these conditions.

Keywords: Primary Biliary Cirrhosis; extrahepatic manifestations; autoimmunity; prognosis; overall survival.

I. Introdução:

A Cirrose Biliar Primária (CBP) é uma doença hepática colestática, crônica e autoimune, com um curso geralmente indolente, caracterizada histologicamente por uma destruição granulomatosa e não supurativa dos ductos biliares intra-hepáticos de pequeno e médio calibre, inflamação crônica e fibrose progressiva.(1-4)

Recentemente, a sua designação foi alterada para Colangite Biliar Primária, uma vez que apenas alguns casos evoluem para cirrose hepática, como consequência da colestase.(5)

A sua etiologia ainda não está totalmente compreendida,(6, 7) no entanto esta resulta de uma complexa interação entre fatores ambientais e um componente genético que confere suscetibilidade individual, com maior preponderância no sexo feminino.(3, 6-8)

Apesar de afetar primariamente o fígado, a CBP é atualmente considerada uma doença sistémica e não órgãoespecífica,(9) tendo sido associada a inúmeras manifestações extra-hepáticas (MEH), que podem envolver virtualmente qualquer órgão. Estas manifestações incluem diversas condições clínicas, maioritariamente autoimunes (10-13) e outras patologias descritas mais recentemente na literatura, como a doença óssea, pulmonar e renal.(14-16)

O impacto da coexistência das MEH na CBP relativamente ao curso natural da doença hepática, na qualidade de vida e na sobrevida dos doentes permanece por esclarecer. Serão necessários mais estudos no sentido de compreender melhor as consequências desta associação.

Este trabalho tem como objetivo principal determinar a prevalência das MEH em doentes com CBP e secundariamente, averiguar a possível associação entre estas condições e o prognóstico, incluindo a sobrevida global dos doentes.

II. Métodos:

Trata-se de um estudo retrospectivo caso-controlo, que incluiu o total de 82 doentes com CBP que foram seguidos no serviço de Gastrenterologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra entre Janeiro de 2000 e Dezembro de 2014.

Os 82 casos de CBP foram selecionados a partir de um total de 291 doentes com o diagnóstico de Cirrose Biliar, correspondente ao código 572.1 do CID-9-CM, disponibilizados pela base de dados de codificação do hospital, após aprovação do estudo pela Comissão de Ética. Foram excluídos 208 casos por etiologia secundária da cirrose biliar e 1 caso por ausência de informação clínica suficiente.(Figura 1)

As variáveis demográficas, clínicas, laboratoriais e histológicas foram recolhidas após análise dos processos clínicos dos doentes.

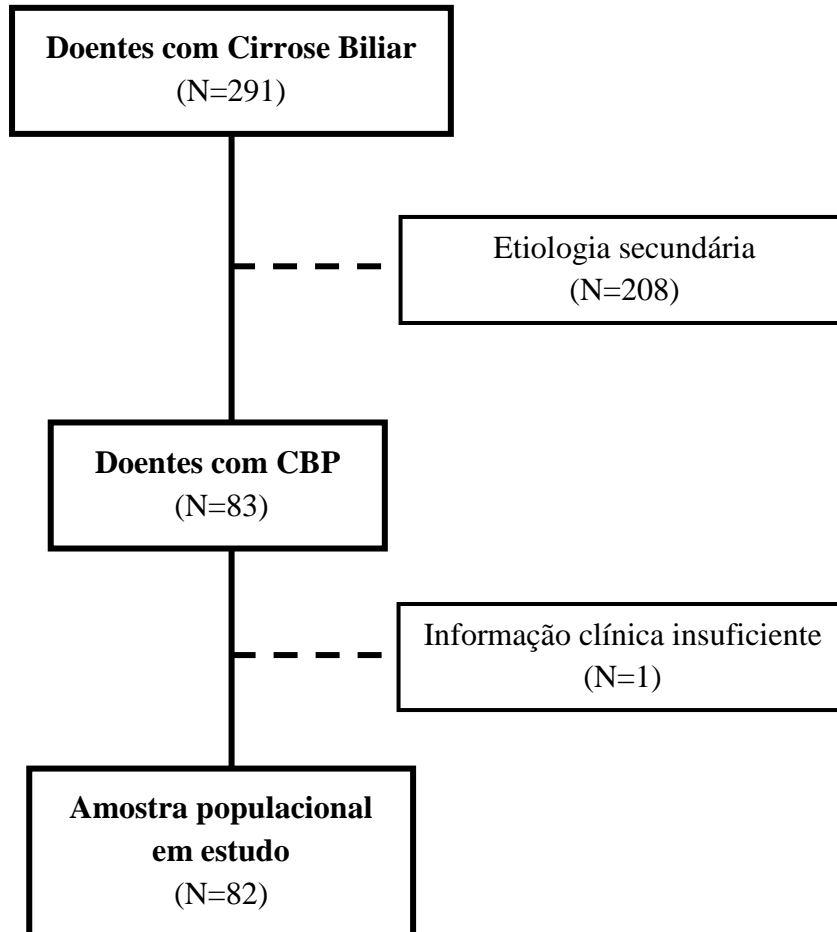


Figura 1. Critérios de exclusão da amostra

O diagnóstico de CBP foi estabelecido pela presença de 2 dos 3 seguintes critérios: elevação de fosfatase alcalina (FA) (de origem hepática, durante pelo menos 6 meses); títulos elevados de anticorpo antimitocondrial (AMA) no soro ($\geq 1:40$); lesões histológicas hepáticas compatíveis.(17, 18) O estadió histológico foi definido de acordo com a classificação de Ludwing (19) e de Scheuer.(20)

No presente estudo foram registados os seguintes dados clínicos para cada doente: (a) sinais e sintomas associados à CBP, a sua relação temporal com o diagnóstico, o tempo decorrido entre o início da sintomatologia e o diagnóstico e o estadio histológico; (b) parâmetros laboratoriais no momento do diagnóstico, nomeadamente a FA, gama-glutamil transferase (GGT), bilirrubina total, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), albumina sérica, lactato desidrogenase (LDH), creatinina, tempo de protrombina (TP), Razão Normalizada Internacional (INR), velocidade de sedimentação (VS), colesterol total, triglicéridos, IgM, IgG, Fração γ e todo o perfil de autoimunidade hepática e sistémica; (c) terapêutica efetuada (ácido ursodesoxicólico (AUDC) e/ou transplante hepático); (d) história de neoplasias extra-hepáticas; (e) presença de cirrose hepática e manifestações e complicações associadas; (f) presença de MEH e tempo decorrido entre o diagnóstico destas e da CBP.

O prognóstico da CBP no momento do diagnóstico foi determinado através do cálculo do *Mayo Risk Score*,⁽²¹⁾ classificação de *Child-Turcotte-Pugh* (22) e *MELD score*.^(23, 24)

Foi pesquisada a presença de manifestações clínicas, laboratoriais, endoscópicas e imagiológicas da cirrose hepática, nomeadamente gastropatia e colopatia hipertensivas, circulação colateral, varizes esofágicas e gástricas, esplenomegalia, citopenias (anemia, trombocitopenia, leucopenia ou pancitopenia) e coagulopatia (INR >1,7). Foram ainda registadas as complicações secundárias à cirrose hepática, incluindo a Hemorragia Digestiva Alta (HDA) por rotura de varizes esofágicas e/ou gástricas, ascite, hidrotórax hepático, Peritonite Bacteriana Espontânea (PBE), síndrome hepatopulmonar, encefalopatia hepática e carcinoma hepatocelular.

As varizes esofágicas foram classificadas em pequenas e grandes de acordo com a classificação de Baveno, aprovada no consenso da *American Association for the Study of*

Liver Diseases (AASLD)/ *American College of Gastroenterology* (ACG).(25) Foram aplicados os critérios de *West Haven* para definir o grau de severidade da encefalopatia hepática.(26)

Para a realização deste estudo, os doentes foram divididos em dois grupos segundo a sua associação ou não a pelo menos uma MEH. Estas foram assim subdivididas:

- Manifestações Reumatológicas:** Osteopenia, Osteoporose, Osteomalácia, Síndrome de Sjogren (SS), Artrite Reumatóide (AR), Síndrome Antifosfolípídico (SAF), Fenómeno de Raynaud, Lúpus Eritematoso Sistémico (LES) e Esclerose Sistémica Progressiva (ESP) [Forma difusa e CREST (Calcinose, Fenómeno de Raynaud, Dismotilidade esofágica, Esclerodactilia e Telangiectasias)];
- **Manifestações Hematológicas:** Púrpura Trombocitopénica Idiopática (PTI) e Anemia Hemolítica Autoimune;
- **Manifestações Dermatológicas:** Dermatomiosite e Vitiligo;
- **Manifestações Gastrointestinais:** Colite ulcerosa;
- **Manifestações Pneumológicas:** Pneumonite Intersticial Linfocítica;
- **Manifestações Endócrinas:** Doença de Graves e Tiroidite de Hashimoto.

A osteopenia e a osteoporose foram diagnosticadas com base no *T-score* obtido na quantificação da densidade mineral óssea (DMO) avaliada por absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA) ($-2.5 < T \leq -1$ e $T \leq -2.5$, respetivamente).(27) O diagnóstico de SS foi estabelecido de acordo com os critérios europeus modificados pelo *American-European Consensus Group*, em 2002,(28) e com os critérios de classificação recentes (2012) do *American College of Rheumatology* (ACR).(29) A AR foi diagnosticada com base nos critérios de classificação do ACR de 1987 (30) e nos critérios de 2010 do *ACR/European*

League Against Rheumatism (EULAR).(31) O diagnóstico de LES foi efetuado de acordo com os critérios de classificação do ACR revistos em 1997,(32) e revistos em 2009 pelo *Systemic Lupus Internation Collaborating Clinic* (SLICC).(33) O diagnóstico da ESP foi realizado com base nos critérios de classificação de Le Roy.(34) A Dermatomiosite foi diagnosticada de acordo com os critérios descritos por Bohan e Peter.(35) Os casos de SAF foram diagnosticados com base nos critérios de Sapporo de 1999 (36) e na revisão feita em 2006 em Sydney.(37)

Análise Estatística:

A análise estatística foi realizada com recurso ao software SPSS v.20 para Windows®. As variáveis quantitativas foram expressas como média e desvio padrão (DP), enquanto que as variáveis qualitativas foram descritas em termos de frequências absoluta e relativa. O teste Qui-quadrado foi utilizado para avaliar diferenças entre as variáveis categóricas; o *Student t-test* permitiu comparar as variáveis contínuas. A sobrevida dos doentes com CBP para ambos os grupos foi analisada através das curvas de *Kaplan-Meier*. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para um p-valor <0,05.

III. Resultados:

Características gerais da amostra estudada:

Dos 82 doentes com CBP, 71 (86,6%) eram mulheres e 11 (13,4%) eram homens (média de idade à inclusão do estudo: $64,7 \pm 13,6$ anos; mínimo e máximo: 29-96 anos). A idade média ao momento do diagnóstico de CBP foi de $52,7 \pm 14,5$ anos (mínimo e máximo: 20-85 anos) e o tempo médio de seguimento dos doentes foi de $10,3 \pm 6,5$ anos (mínimo e máximo: 1-31 anos).

Quarenta e nove doentes (59,8%) encontravam-se sintomáticos ao diagnóstico, sendo os restantes 33 (40,2%) assintomáticos. Destes últimos, 16 (19,5%) permaneceram assintomáticos até à realização do estudo. O primeiro sintoma mais frequente foi o prurido (32 casos, 39,0%), seguido de fadiga (9 casos, 11,0%), e dor no hipocôndrio direito e icterícia, cada um presente igualmente em 8 casos (9,8%). Nos 17 doentes inicialmente assintomáticos, o tempo médio desde o diagnóstico até ao desenvolvimento de sintomas foi de $4,9 \pm 4,1$ anos (mínimo e máximo: 1-15 anos).

Quando comparados os doentes com CBP com e sem MEH, não se verificaram diferenças estatísticas em relação ao sexo, idade, à presença de sintomas e sua frequência ao diagnóstico. No entanto, 40 doentes dos 44 com MEH (90,9%) eram do sexo feminino (p-valor=0,216). Relativamente aos sinais e sintomas desenvolvidos ao longo da doença, destacou-se apenas a hepatomegalia, que foi significativamente mais frequente em doentes com MEH (25,0% vs 7,9%, p-valor=0,040).

Ao diagnóstico, 23 doentes (28,0%) apresentavam-se no estadio histológico I, 15 (18,3%) no estadio II, 12 (14,6%) no estadio III e 15 (18,3%) no estadio IV. O relatório da biópsia hepática não estava disponível em 17 casos (20,7%). As diferenças desta variável entre doentes com e sem MEH não se mostraram estatisticamente significativas (p-valor=0,292).

A tabela 1 resume as principais características epidemiológicas e clínicas da amostra e a sua comparação entre doentes com e sem MEH.

Tabela 1. Características epidemiológicas e clínicas da amostra em estudo e comparação entre doentes com e sem MEH

Parâmetros	Todos os doentes (%) N=82	Doentes com MEH (%) N=44	Doentes sem MEH (%) N=38	p-valor
Género				0,216
Feminino	71 (86,6)	40 (90,9)	31 (81,6)	
Masculino	11 (13,4)	4 (9,1)	7 (18,4)	
Sintomas ao diagnóstico	49 (59,8)	27 (61,4)	22 (57,9)	0,749
Sintomas ao longo da doença	66 (80,5)	38 (86,4)	28 (73,7)	0,149
1º Sintoma manifestado:				
Prurido	32 (39,0)	16 (36,4)	16 (42,1)	0,595
Fadiga	9 (11,0)	7 (15,9)	2 (5,3)	0,124
Icterícia	8 (9,8)	6 (13,6)	2 (5,3)	0,203
Dor HD	8 (9,8)	6 (13,6)	2 (5,3)	0,203
HDA	7 (8,5)	2 (4,5)	5 (13,2)	0,164
Sinais e sintomas:				
Prurido	44 (53,7)	24 (54,5)	20 (52,6)	0,862
Fadiga	39 (47,6)	22 (50,0)	17 (44,7)	0,634
Icterícia	26 (31,7)	18 (40,9)	8 (21,1)	0,054
Dor HD	24 (29,3)	15 (34,1)	9 (23,7)	0,302
Anorexia	19 (23,2)	13 (29,5)	6 (15,8)	0,141
Perda Ponderal	16 (19,5)	12 (27,3)	4 (10,5)	0,056
Hepatomegalia	14 (17,1)	11 (25,0)	3 (7,9)	0,040
Estadio histológico ao diagnóstico:				
Estadio I	23 (28,0)	11 (25,0)	12 (31,6)	0,292
Estadio II	15 (18,3)	6 (13,6)	9 (23,7)	
Estadio III	12 (14,6)	9 (20,5)	3 (7,9)	
Estadio IV	15 (18,3)	10 (22,7)	5 (13,2)	
ND	17 (20,7)	8 (18,2)	9 (23,7)	

Manifestações associadas a cirrose hepática:

Quarenta e dois doentes (51,2%) apresentaram manifestações associadas à cirrose hepática, 14 dos quais (17,1%) ao momento do diagnóstico de CBP, tendo sido as mais frequentes o desenvolvimento de varizes esofágicas em 35 casos (42,7%) e a gastropatia hipertensiva em 23 casos (28,0%). O nº médio de manifestações foi de $2,6 \pm 1,2$ (mínimo e máximo: 1-5).

Quando comparados os doentes com e sem MEH, verificou-se que o primeiro grupo apresentou mais frequentemente e de forma significativa, manifestações ao longo da doença (63,6% vs. 36,8%; p-valor=0,015), e ao momento do diagnóstico de CBP (25,0% vs. 7,9%, p-valor=0,040). A gastropatia hipertensiva foi também significativamente mais frequente em casos com MEH (38,6% vs 15,8%, p-valor=0,022).

Não foram observadas diferenças estatísticas quanto ao nº médio de manifestações (p-valor=0,322) e quanto às suas frequências. (Tabela 6)

Manifestações Extra-Hepáticas:

Quarenta e quatro doentes (53,7%) apresentaram pelo menos 1 MEH. Destes, 19 (23,2%) tinham apenas uma condição, 18 (22,0%) tinham duas, 4 (4,9%) tinham três, 2 (2,4%) tinham quatro e 1 (1,2%) tinha cinco.

Em 21 doentes (25,6%), a 1ª MEH apresentada surgiu depois do diagnóstico de CBP, em 15 (18,3%) surgiu antes e em 8 (9,8%) surgiu simultaneamente. O tempo médio entre os dois diagnósticos foi de $7,6 \pm 7,5$ anos (mínimo e máximo: 0-33 anos)

As MEH mais comuns foram as reumatológicas (41 casos, 50,0%), tendo sido a mais frequente a osteoporose, presente em 22 doentes (26,8%), seguida de osteopenia (13 casos, 15,9%) e Síndrome de Sjögren (11 casos, 13,4%). (Tabela 2)

Tabela 2. Lista do grupo e tipo de MEH e a sua frequência

Parâmetros	Nº de doentes (%)
	N=82
Manifestações Reumatológicas:	41 (50)
Osteoporose	22 (26,8)
Osteopenia	13 (15,9)
Osteomalácia	1 (1,2)
S. Sjogrën	11 (13,4)
Esclerose Sistémica Progressiva	7 (8,5)
CREST	4 (4,9)
Forma difusa	3 (3,7)
Artrite Reumatóide	4 (4,9)
Fenómeno de Raynaud	5 (6,1)
Acrocianose	2 (2,4)
Lúpus Eritematoso Sistémico	2 (2,4)
Síndrome Antifosfolipídico	1 (1,2)
Manifestações Hematológicas:	2 (2,4)
Purpura Trombocitopénica Idiopática	1 (1,2)
Anemia Hemolítica Autoimune	1 (1,2)
Manifestações Dermatológicas:	2 (2,4)
Dermatomiosite	1 (1,2)
Vitiligo	1 (1,2)
Manifestações Pneumológicas:	1 (1,2)
Pneumonia Intersticial Linfocítica	1 (1,2)
Manifestações Gastrointestinais:	2 (2,4)
Colite Ulcerosa	2 (2,4)
Manifestações Endócrinas:	4 (4,9)
Doença de Hashimoto	3 (3,7)
Doença de Graves	1 (1,2)

Estudo Laboratorial:

As Tabelas 3 e 4 mostram a comparação de parâmetros laboratoriais avaliados entre doentes com e sem MEH.

O valor médio de LDH foi significativamente maior em doentes com MEH ($362,4 \pm 172,1$ vs $231,4 \pm 82,9$, p-valor<0,001). Além disso, os indivíduos com MEH apresentaram mais frequentemente valores de FA >200 U/L (77,3% vs 55,3%, p-valor=0,034), VS >25 mm/h (50,0% vs 23,7%, p-valor=0,015) e Fração- γ >1,50 g/dL (47,7% vs 21,1%, p-valor=0,041).

Não foram observadas diferenças estatísticas nos valores médios dos restantes parâmetros na comparação dos dois grupos.

Tabela 3. Comparação de valores médios de parâmetros laboratoriais entre doentes com e sem MEH.

Parâmetros	Doentes com CBP (média \pm DP)	Doentes com MEH (média \pm DP)	Doentes sem MEH (média \pm DP)	p-valor
LDH (U/L)	258,0 \pm 152,41	362,4 \pm 172,1	231,39 \pm 82,9	<0,001
FA (U/L)	391,43 \pm 287,0	457,8 \pm 387,3	316,32 \pm 260,4	0,061
GGT (U/L)	239,0 \pm 451,98	344,7 \pm 297,7	407,9 \pm 582,1	0,533
Colesterol total (mg/dL)	223,0 \pm 85,88	255,2 \pm 99,2	229,1 \pm 66,1	0,211
Triglicérides (mg/dL)	114,0 \pm 63,35	123,3 \pm 60,3	125,13 \pm 67,7	0,905
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,9 \pm 4,3	2,7 \pm 5,7	1,4 \pm 1,7	0,160
Albumina (g/dL)	4,1 \pm 0,6	4,0 \pm 0,6	3,9 \pm 0,5	0,573
TGO (U/L)	59,5 \pm 274,8	154,79 \pm 371,0	76,7 \pm 73,3	0,206
TGP (U/L)	77,0 \pm 322,7	181,3 \pm 422,6	97,2 \pm 143,7	0,247
VS (mm/h)	33,0 \pm 28,9	42,9 \pm 25,2	38,5 \pm 36,3	0,633
TP (seg)	13,7 \pm 2,5	13,9 \pm 2,6	14,5 \pm 2,5	0,288
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	206,0 \pm 78,5	184,7 \pm 71,8	213,9 \pm 83,4	0,099

IgM (g/L)	3,6 ± 5,7	6,1 ± 7,1	3,7 ± 2,4	0,116
IgG (g/L)	15,4 ± 6,7	18,1 ± 7,3	15,3 ± 5,5	0,130

Tabela 4. Comparação entre doentes com e sem MEH de alguns parâmetros laboratoriais.

Parâmetros	Total doentes (%) N=82	de Doentes com MEH (%) N= 44	Doentes sem MEH (%) N=38	p-valor
FA>200 (U/L)	55 (67,1)	34 (77,3)	21 (55,3)	0,034
VS >25 (mm/h)	31 (37,8)	22 (50,0)	9 (23,7)	0,015
GGT > 55 (U/L)	69 (84,1)	40 (90,9)	29 (76,3)	0,071
Fração γ >1.50 (g/dL)	29 (35,4)	21 (47,7)	8 (21,1)	0,041

Autoimunidade:

Os AMA's foram positivos em 76 doentes (92,7%) e negativos em 6 (7,3%). A fração M₂ do AMA (AMA-M₂) estava presente em 53 casos (64,6%). Os anticorpos antinucleares (ANA) foram positivos em 54 doentes (65,9%) e o padrão granular fino denso foi o mais frequente (15 casos, 18,3%).

Oitenta doentes (97,6%) apresentavam autoanticorpos. Contudo, e excluindo os AMA's, que são específicos da CBP, foram observados autoanticorpos em 61 casos (74,4%), principalmente em indivíduos com MEH (84,1% vs 63,2%), p-valor=0,030). O padrão granular médio disperso do ANA foi encontrado apenas em doentes sem MEH (p-valor=0,016), e o Fator Reumatóide apenas em doentes com MEH (p-valor=0,033). Não se verificaram outras diferenças estatisticamente significativas entre estes dois grupos em termos de autoimunidade. (Tabela 5)

Tabela 5. Autoimunidade em doentes com CBP com e sem MEH

Parâmetros	Todos os doentes (%) N=82	Doentes com MEH (%) N=44	Doentes sem MEH (%) N=38	p-valor
Autoanticorpos	80 (97,6)	43 (97,7)	37 (97,4)	0,916
Autoanticorpos (sem AMA)	61 (74,4)	37 (84,1)	24 (63,2)	0,030
AMA				
Negativo	6 (7,3)	3 (6,8)	3 (7,9)	
Positivo	76 (92,7)	41 (93,2)	35 (92,1)	0,852
AMA-M ₂	53 (64,6)	26 (59,1)	27 (71,1)	0,473
ANA positivo	54 (65,9)	33 (75,0)	21 (55,3)	0,167
Padrão Granular Fino Denso	15 (18,3)	7 (15,9)	8 (21,1)	0,072
Padrão Centrômero	13 (15,9)	10 (22,7)	3 (7,9)	0,072
Padrão Mosqueado	12 (14,6)	8 (18,2)	4 (10,5)	0,155
Padrão Pontos Nucleares	5 (6,1)	2 (4,5)	3 (7,9)	0,104
Padrão Homogéneo	5 (6,1)	3 (6,8)	2 (5,3)	0,171
Padrão Granular Médio	3 (3,7)	0 (0,0)	3 (7,9)	0,016
Disperso				
Anti-Músculo Liso	4 (4,9)	2 (4,5)	2 (5,3)	0,983
Anti-SSA (Ro)	7 (8,5)	6 (13,6)	1 (2,6)	0,160
Anti-SSB (La)	2 (2,4)	2 (4,5)	0 (0,0)	0,345
Fator Reumatóide	4 (4,9)	4 (9,1)	0 (0,0)	0,033
Anti-TRAB's	7 (8,5)	6 (13,6)	1 (2,6)	0,075
Anti-TG	4 (4,9)	3 (6,8)	1 (2,6)	0,236

Scores de Prognóstico:

Quanto à avaliação do prognóstico no momento do diagnóstico, o valor médio do MELD *score* foi de $9,8 \pm 4,3$ (mínimo e máximo: 6,4-27,7). Como variável numérica, o *score* Child-Turcotte-Pugh teve como valor médio $5,7 \pm 1,2$ (intervalo: 5-12). Quando categorizado, neste

score, 67 casos (81,7%) apresentavam a classe A, 13 casos (15,9%) classe B e 1 caso (1,2%) na classe C. O *Mayo Risk score* teve como valor médio $5,1 \pm 1,5$ (mínimo e máximo: 2,6-9,7). Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre doentes com e sem MEH em nenhum destes *scores* de prognóstico.

Avaliação do Prognóstico:

O impacto das MEH no prognóstico da CBP foi avaliado pelo desenvolvimento e nº de complicações de cirrose hepática, neoplasias extra-hepáticas, mortalidade global e por CBP, pela necessidade de transplantação hepática e sobrevida global.

1.Morbilidade e Mortalidade:

Trinta e seis doentes (43,9%) desenvolveram complicações de cirrose hepática, e destes, 13 (15,9%) apresentaram-nas no momento do diagnóstico de CBP. O tempo médio entre o diagnóstico de CBP e a presença destas complicações foi de $3,9 \pm 5,0$ anos (mínimo e máximo: 0-22 anos). O nº médio de complicações foi de $2,2 \pm 1,1$ (mínimo e máximo: 1-4).

A ascite foi a mais frequente (25 casos, 30,5%), seguida da HDA por rotura de varizes esofágicas e/ou gástricas (19 casos, 23,2%).

Os doentes com MEH desenvolveram em maior número e de forma estatisticamente significativa complicações de cirrose hepática ao longo do tempo (54,5% vs. 31,6%, p-valor=0,037), o que não se verificou nos casos de complicações desenvolvidas no momento do diagnóstico de CBP (20,5% vs 10,5%, p-valor=0,220).

Os dois grupos em estudo não apresentaram diferenças significativas quanto ao tipo e nº de complicações (p-valor=0,322) e o tempo entre o diagnóstico de CBP e as complicações (p-valor=0,274).

Doze doentes (14,6%) tinham como antecedente patológico neoplasia extra-hepática, parâmetro que não mostrou ser influenciado pela presença de MEH (p-valor=0,109).

No período temporal de estudo, dezassete doentes (20,7%) faleceram. Destes, 8 (9,8%) tiveram como causa de morte complicações associadas a CBP, 7 (8,5%) faleceram por causas não relacionadas com a doença hepática e em 2 casos (2,4%) o motivo foi desconhecido. Dos casos de mortalidade relacionados com CBP, o tempo médio entre o diagnóstico e a morte foi de $12 \pm 8,7$ anos (mínimo e máximo: 0-25 anos). Contudo não se verificaram resultados significativamente distintos entre os dois grupos em estudo, quer ao nível da mortalidade global (p-valor=0,084), mortalidade por CBP (p-valor=0,180), e tempo entre o diagnóstico de CBP e morte (p-valor=0,137).

Os resultados anteriores encontram-se descritos na tabela 6.

2. Tratamento:

A terapêutica médica com AUDC foi prescrita em todos os doentes após o diagnóstico de CBP. No entanto, em 17 casos (20,7%) houve necessidade de transplantação hepática. O tempo médio entre o diagnóstico de CBP e a realização de transplante foi de $6,4 \pm 4,9$ anos (mínimo e máximo: 0-18 anos). Dos doentes transplantados, 5 (6,1%) tiveram recidiva da doença hepática e desses, 3 (3,7%) foram retransplantados.

A presença de MEH não mostrou influenciar o tempo entre o diagnóstico de CBP e a realização do transplante (p-valor=0,482) nem a necessidade de transplante hepático (p-valor=0,116). (Tabela 6)

Tabela 6. Comparação entre doentes com e sem MEH em relação às manifestações associadas à cirrose hepática, complicações de cirrose hepática, mortalidade, realização de transplante hepático e ocorrência de neoplasias extra-hepáticas.

Parâmetros	Todos os Doentes com doentes (%) N=82	Doentes com MEH (%) N=44	Doentes sem MEH (%) N=38	p-valor
Manifestações de Cirrose:	42 (51,2)	28 (63,6)	14 (36,8)	0,015
Ao diagnóstico de CBP	14 (17,1)	11 (25,0)	3 (7,9)	0,040
Varizes Esofágicas	35 (42,7)	22 (50,0)	13 (34,2)	0,149
Pequenas	11 (13,4)	7 (15,9)	4 (10,5)	
Grandes	24 (29,3)	15 (34,1)	9 (23,7)	
Varizes Gástricas	6 (7,3)	5 (11,4)	1 (2,6)	0,130
Gastropatia Hipertensiva	23 (28,0)	17 (38,6)	6 (15,8)	0,022
Colopatia Hipertensiva	1 (1,2)	1 (2,3)	0 (0,0)	0,350
Circulação Colateral	5 (6,1)	3 (6,8)	2 (5,3)	0,769
Esplenomegália	16 (19,5)	12 (27,3)	4 (10,5)	0,056
Pancitopenia	3 (3,7)	3 (6,8)	0 (0,0)	0,101
Anemia	2 (2,4)	2 (4,5)	0 (0,0)	0,183
Trombocitopenia	10 (12,2)	6 (13,6)	4 (10,5)	0,668
Leucopenia	4 (4,9)	2 (4,5)	2 (5,3)	0,880
INR elevado (>1,7)	4 (4,9)	3 (6,8)	1 (2,6)	0,061
Complicações de Cirrose:	36 (43,9)	24 (54,5)	12 (31,6)	0,037
Ao diagnóstico de CBP:	13 (15,9)	9 (20,5)	4 (10,5)	0,220
Ascite	25 (30,5)	16 (36,4)	9 (23,7)	0,214
Encefalopatia Hepática	15 (18,3)	11 (25,0)	4 (10,5)	0,091
Grau I	4 (4,9)	4 (9,1)	0 (0,0)	
Grau II	3 (3,7)	2 (4,5)	1 (2,6)	
Grau III	7 (8,5)	5 (11,4)	2 (5,3)	
Grau IV	1 (1,2)	0 (0,0)	1 (2,6)	
HDA	19 (23,2)	10 (22,7)	9 (23,7)	0,918
Hidrotórax Hepático	8 (9,8)	3 (6,8)	5 (13,2)	0,335
PBE	3 (3,7)	1 (2,3)	2 (5,3)	0,472
Síndrome Hepatopulmonar	2 (2,4)	2 (4,5)	0 (0,0)	0,183

Carcinoma Hepatocelular	2 (2,4)	2 (4,5)	0 (0,0)	0,183
Morte	17 (20,7)	13 (29,5)	4 (10,5)	0,084
Morte por CBP	8 (9,8)	5 (11,4)	3 (7,9)	0,180
Transplante Hepático	17 (20,7)	12 (27,3)	5 (13,2)	0,116
Neoplasia Extra-Hepática	12 (14,6)	9 (20,5)	3 (7,9)	0,109

3. Grupo de pior prognóstico:

O nosso estudo considerou um grupo de pior prognóstico que englobou doentes com pelo menos 1 das seguintes condições: ter complicações de cirrose, necessidade de transplante hepático e/ou morte. Quando comparados os doentes com e sem MEH, verificou-se uma diferença estatisticamente significativa, quer para mortalidade global (63,6% vs 36,8%; p-valor=0,015), quer para mortalidade por CBP (61,4% vs 36,8%; p=0,027).

4. Curvas de Sobrevida:

As curvas de sobrevida global *Kaplain-Meier* não apresentaram diferenças significativas, comparando indivíduos com e sem MEH, tanto quando se considerou qualquer causa de morte (p-valor=0,470), como nos casos em que o falecimento esteve associado à CBP (p-valor=0,383). (Figura 2)

O número de MEH também não influenciou de forma significativa a sobrevida global dos doentes (MEH \geq 2: p=0,297; MEH \geq 3: p=0,247; MEH \geq 4: p=0,412; e MEH \geq 5: p=0,546).

Os doentes com e sem MEH, pertencentes ao grupo de pior prognóstico descrito anteriormente, não apresentaram diferenças estatísticas na sua sobrevida global, quer para mortalidade global (p-valor=0,542) ou associada a CBP (p-valor=0,455). (Figura 3)

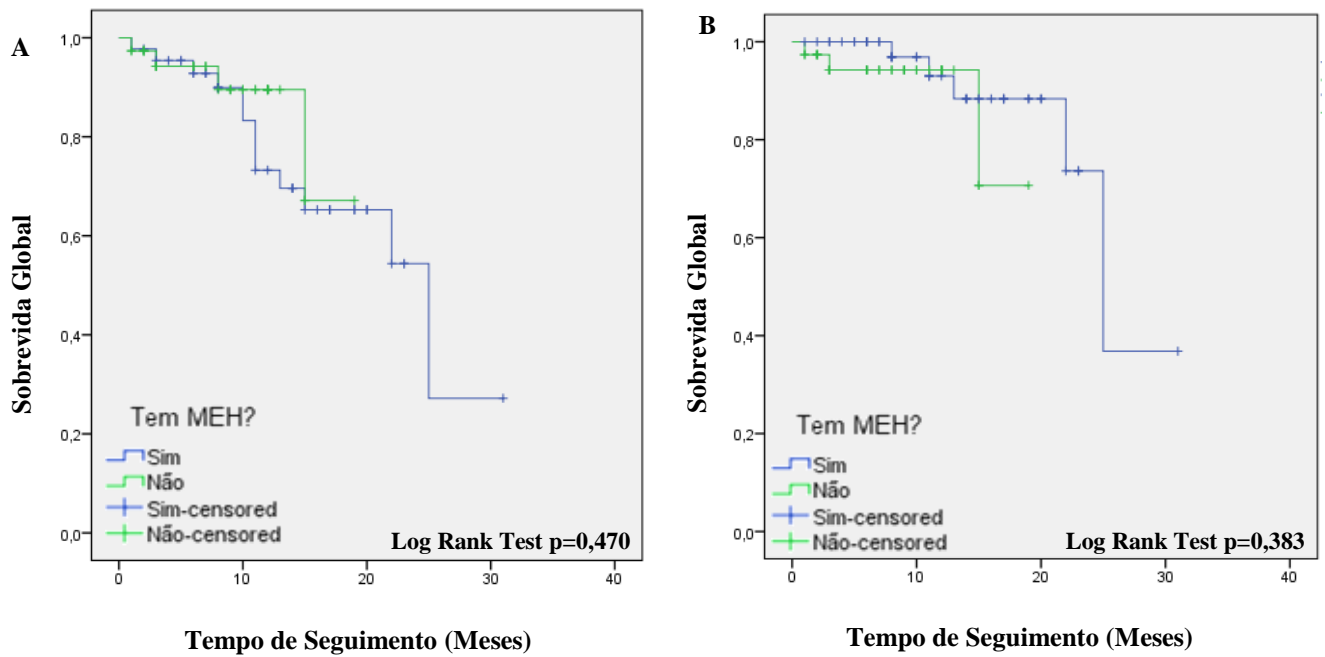


Figura 2. Curvas de sobrevida *Kaplain-Meier* entre doentes com e sem MEH, (A) considerando qualquer causa de morte e (B) morte associada a CBP.

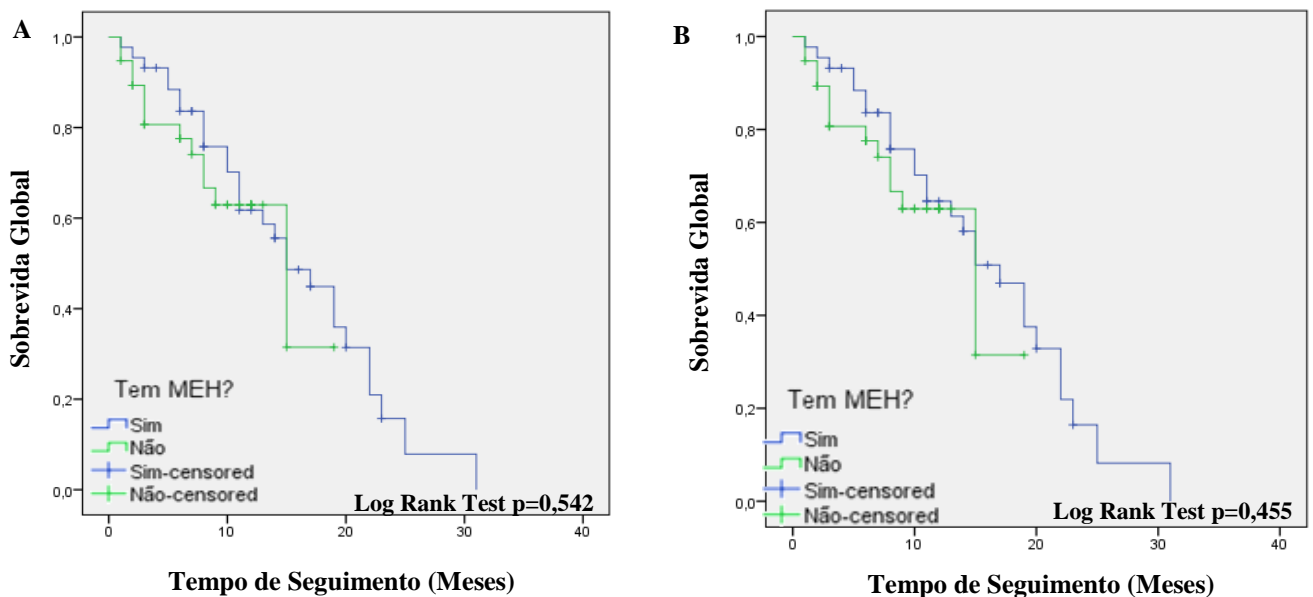


Figura 3. Curvas de sobrevida *Kaplain-Meier* entre doentes com e sem MEH, com complicações de cirrose, necessidade de transplante e/ou morte (A) global e (B) associada a CBP.

IV. Discussão e Conclusão:

Neste estudo verificou-se a associação de CBP com MEH em 53,7% da amostra. Esta prevalência elevada, numa proporção de 1 em cada 2 doentes, poderá estar em relação com mecanismos de afeção sistémica da CBP, também corroborado por estudos prévios.(9, 11, 12) Contudo, alguns trabalhos publicados apresentaram prevalências mais baixas (entre 33 a 37%), (8, 13, 38, 39) o que se pode justificar pelo facto de estes só considerarem os distúrbios autoimunes e não, por exemplo, a patologia óssea e também por diferenças metodológicas ao nível dos critérios de diagnóstico utilizados para estas condições sistémicas.

Quando os doentes foram classificados como sintomáticos ou não ao diagnóstico, só foram considerados os sintomas hepáticos, tendo sido os mais comuns o prurido e a fadiga, à semelhança do descrito na literatura.(3, 6, 40) Nenhum estudo anterior considerou a sintomatologia extra-hepática para esta distinção. No entanto, neste estudo, em 15 doentes (18,3%) a 1ª MEH apresentada surgiu antes do diagnóstico de CBP. À luz deste resultado e perante a elevada prevalência de MEH, a inclusão dos sintomas extra-hepáticos na definição de um doente com CBP sintomático poderá ser relevante. Além disso, seria importante considerar a CBP no diagnóstico diferencial de doentes com estas MEH, após exclusão das principais causas relacionadas com sintoma específico.

A MEH mais frequente nesta amostra foi a osteoporose e seguidamente a osteopenia (26,8% e 15,9%, respetivamente). A prevalência destas doenças ósseas associadas à CBP tem vindo a aumentar (14) e diversos trabalhos já descreveram incidências de osteoporose entre 21 e 44%.(41-44) Existe ainda alguma controvérsia quanto ao facto da osteoporose ser ou não mais frequente na CBP do que na população em geral,(14) apesar de estudos realizados por Guañabens et al.(43) e Mounach et al.(45) mostrarem uma maior incidência da doença óssea

em indivíduos com acometimento hepático. Serão necessárias investigações futuras para esclarecer esta questão, nomeadamente com comparação com um grupo controlo sem doença hepática.

Dentro das condições autoimunes, o SS foi a MEH mais frequente, presente em 13,4% dos casos. Este resultado está em conformidade com outros trabalhos (9, 11, 12, 39), nos quais, contudo, se verificou uma frequência maior da mesma doença (entre 20,6% e 36,2%). A coexistência da CBP e o SS compreende-se pois estas 2 condições apresentam em comum o mecanismo imunopatogénico (11) e caracterizam-se por uma destruição dos tecidos epiteliais, progressiva e imunomediada, mais especificamente nos ductos biliares intra-hepáticos no caso da CBP, e nas glândulas lacrimais e salivares no SS.(9, 46)

Os estudos que apresentaram percentagens elevadas, consideraram o diagnóstico de SS quando o doente cumpria os critérios de classificação, independentemente da existência ou não de anti-SSA e/ou anti-SSB.(9, 11, 12) Contudo, a verdadeira sobreposição CBP+SS ocorre quando os autoanticorpos estão presentes.(9, 38) Esta incongruência nos critérios de classificação pode justificar as diferentes frequências da doença na literatura.

A ESP foi descrita em diversos estudos (13, 38) como a MEH associada à CBP mais frequente, o que não se confirmou com o nosso trabalho, estando esta doença presente apenas em 8,5% da amostra. Mais uma vez, os diferentes critérios de classificação aplicados poderão influenciar os resultados.

Os indivíduos com MEH apresentaram com maior frequência autoanticorpos (quando excluídos os AMA's, específicos de CBP), o que já tinha sido verificado por Marasini et al.(13) Estes resultados reforçam não só o grande peso que as doenças imunológicas têm nas

MEH consideradas mas também a possível etiologia comum autoimune destas condições em doentes geneticamente suscetíveis.(8, 12)

A nível laboratorial, verificaram-se níveis mais elevados de LDH e mais frequentemente valores de FA>200 U/L, VS>25 mm/h, e Fração- γ >1,50 g/dL em doentes com MEH. Shi TY et al.(39) definiu a elevação de FA como fator de risco para a descompensação hepática e uma meta-análise recente(47) que incluiu mais de 4800 doentes, concluiu que o fator preditor mais forte de morte ou de transplantação hepática era a elevação da FA mais de duas vezes acima do valor normal. Assim, estes resultados podem sugerir que as MEH estão associadas a um pior prognóstico da doença hepática e ainda que estes parâmetros bioquímicos podem, numa fase inicial do diagnóstico, indicar uma possível suscetibilidade para o desenvolvimento de MEH.

Por outro lado, fica claro que a combinação da CBP com outra patologia exacerba os parâmetros inflamatórios, o que se compreende pois a autoimunidade quando persistente, provoca lesões teciduais inflamatórias crónicas.(2)

O mesmo grupo de doentes foi o que mais complicações de cirrose hepática desenvolveu, o que contraria o resultado de outros estudos.(11, 38) Além disso, estes pacientes também apresentaram de forma mais significativa pelo menos 1 das 3 condições do grupo de pior prognóstico anteriormente definido. No entanto, e de acordo com Floreani et al.,(11) a presença de MEH não mostrou influenciar individualmente a mortalidade, a necessidade de transplante hepático, a incidência de neoplasias extra-hepáticas, nem a sobrevivência global dos doentes. Será necessário desenvolver novos trabalhos neste âmbito, para que se compreenda a possível influência das MEH na evolução e no prognóstico da CBP.

O presente estudo apresenta algumas limitações. O número reduzido da amostra impossibilitou que alguns resultados francamente mais frequentes em indivíduos com MEH se tornassem estatisticamente significativos. Além disso, o fato de ser apenas um estudo retrospectivo fez com que algumas variáveis não estivessem disponíveis para a análise estatística e para a obtenção de resultados mais verídicos. Um seguimento a longo prazo destes doentes seria imprescindível para colmatar este ponto fraco e para averiguar se surgiam MEH em indivíduos que não as apresentavam.

Seria também bastante interessante que novos estudos comparassem os fatores genéticos envolvidos quer na CBP como nas diferentes MEH, de forma a compreender a etiopatogenia existente em comum nestas condições e, assim, atuar farmacologicamente de modo cada vez mais eficaz e individualizado.

Concluindo, existe uma frequente associação entre a CBP e várias MEH, principalmente condições autoimunes, que se parece relacionar com um pior prognóstico da doença hepática sem, no entanto, influenciar a sobrevida global dos doentes. No momento do diagnóstico da CBP, todos os médicos devem estar alerta para a possibilidade de coexistência com manifestações sistêmicas várias, devendo ser efetuada uma investigação clínica, laboratorial e imunológica orientada não só pelos sintomas hepáticos, mas também sistêmicos.

Em estudos futuros, seria importante avaliar se a presença e gravidade da CBP influi negativamente no prognóstico das MEH associadas.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor Luis Tomé, o meu muito obrigada por me permitir realizar esta tese de mestrado e pelo saber que me transmitiu tanto enquanto meu professor de Gastrenterologia como durante o acompanhamento neste trabalho. Todo o seu apoio e disponibilidade constantes foram essenciais.

À minha co-orientadora, Dra. Marta Soares pela motivação, esclarecimento de dúvidas e colaboração que me prestou em todas as etapas deste projeto.

À Dra. Elisa Soares pelo interesse que sempre mostrou e por todas as sugestões bastante úteis.

À minha amiga Daniela Falcão, pelos conselhos e ajuda essencial na criação da base de dados e na análise estatística.

Ao meu namorado, aos meus pais e à minha irmã, por sempre me incentivarem a fazer o meu melhor, pelo apoio desmedido que me deram e pela paciência e compreensão que sempre tiveram.

Um agradecimento especial a todos os doentes que participaram neste estudo.

Referências

1. Selmi C, Bowlus CL, Gershwin ME, Coppel RL. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* (London, England). 2011 May 7;377(9777):1600-9.
2. Hohenester S, Oude-Elferink RP, Beuers U. Primary biliary cirrhosis. *Seminars in immunopathology*. 2009 Sep;31(3):283-307.
3. Carey EJ, Ali AH, Lindor KD. Primary biliary cirrhosis. *The Lancet*. 2015;386(10003):1565-75.
4. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *The New England journal of medicine*. 2005 Sep 22;353(12):1261-73.
5. Beuers U, Gershwin ME, Gish RG, Invernizzi P, Jones DE, Lindor K, et al. Changing nomenclature for PBC: From 'cirrhosis' to 'cholangitis'. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2015 Oct;39(5):e57-9.
6. Reshetnyak VI. Primary biliary cirrhosis: Clinical and laboratory criteria for its diagnosis. *World journal of gastroenterology*. 2015 Jul 7;21(25):7683-708.
7. Purohit T, Cappell MS. Primary biliary cirrhosis: Pathophysiology, clinical presentation and therapy. *World journal of hepatology*. 2015 May 8;7(7):926-41.
8. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology*. 2005 Nov;42(5):1194-202.
9. Wang L, Zhang FC, Chen H, Zhang X, Xu D, Li YZ, et al. Connective tissue diseases in primary biliary cirrhosis: a population-based cohort study. *World journal of gastroenterology*. 2013 Aug 21;19(31):5131-7.

10. Teufel A, Weinmann A, Kahaly GJ, Centner C, Piendl A, Worns M, et al. Concurrent autoimmune diseases in patients with autoimmune hepatitis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2010 Mar;44(3):208-13.
11. Floreani A, Franceschet I, Cazzagon N, Spinazze A, Buja A, Furlan P, et al. Extrahepatic autoimmune conditions associated with primary biliary cirrhosis. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2015 Jun;48(2-3):192-7.
12. Watt FE, James OFW, Jones DEJ. Patterns of autoimmunity in primary biliary cirrhosis patients and their families: a population-based cohort study. *Qjm*. 2004;97(7):397-406.
13. Marasini B, Gagetta M, Rossi V, Ferrari P. Rheumatic disorders and primary biliary cirrhosis: an appraisal of 170 Italian patients. *Annals of the rheumatic diseases*. 2001 Nov;60(11):1046-9. PubMed PMID: 11602476.
14. Raszeja-Wyszomirska J, Miazgowski T. Osteoporosis in primary biliary cirrhosis of the liver. *Przegląd gastroenterologiczny*. 2014;9(2):82-7.
15. Shen M, Zhang F, Zhang X. Primary biliary cirrhosis complicated with interstitial lung disease: a prospective study in 178 patients. *Journal of clinical gastroenterology*. 2009 Aug;43(7):676-9.
16. Sakamaki Y, Hayashi M, Wakino S, Fukuda S, Konishi K, Hashiguchi A, et al. A case of membranous nephropathy with primary biliary cirrhosis and cyclosporine-induced remission. *Internal medicine (Tokyo, Japan)*. 2011;50(3):233-8.
17. Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. *The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. Hepatology*. 2000 Apr;31(4):1005-13..

18. European Association for the Study of the L. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *Journal of hepatology*. 2009 Aug;51(2):237-67.
19. Ludwig J, Dickson ER, McDonald GS. Staging of chronic nonsuppurative destructive cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis). *Virchows Archiv A, Pathological anatomy and histology*. 1978 Aug 22;379(2):103-12.
20. Scheuer P. Primary biliary cirrhosis. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1967 Dec;60(12):1257-60.
21. Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR, Fisher LD, Langworthy A. Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making. *Hepatology*. 1989 Jul;10(1):1-7.
22. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *The British journal of surgery*. 1973 Aug;60(8):646-9.
23. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*. 2000 Apr;31(4):864-71.
24. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*. 2001 Feb;33(2):464-70.
25. Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W, Practice Guidelines Committee of the American Association for the Study of Liver D, Practice Parameters Committee of the American College of G. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Sep;46(3):922-38.

26. Conn HO, Leevy CM, Vlahcevic ZR, Rodgers JB, Maddrey WC, Seeff L, et al. Comparison of lactulose and neomycin in the treatment of chronic portal-systemic encephalopathy. A double blind controlled trial. *Gastroenterology*. 1977 Apr;72(4 Pt 1):573-83.
27. Kanis JA, Melton LJ, 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltsev N. The diagnosis of osteoporosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1994 Aug;9(8):1137-41.
28. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Annals of the rheumatic diseases*. 2002 Jun;61(6):554-8. PubMed PMID: 12006334.
29. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, Baer A, Challacombe S, Lanfranchi H, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjogren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis care & research*. 2012 Apr;64(4):475-87.
30. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1988 Mar;31(3):315-24.
31. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and rheumatism*. 2010 Sep;62(9):2569-81.

32. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*. 1997 Sep;40(9):1725.
33. Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*. 2012 Aug;64(8):2677-86.
34. Rigamonti C, Shand LM, Feudjo M, Bunn CC, Black CM, Denton CP, et al. Clinical features and prognosis of primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis. *Gut*. 2006 Mar;55(3):388-94.
35. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *The New England journal of medicine*. 1975 Feb 13;292(7):344-7.
36. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis and rheumatism*. 1999 Jul;42(7):1309-11.
37. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2006 Feb;4(2):295-306.
38. Mari-Alfonso B, Amengual-Guedan MJ, Vergara-Gomez M, Simeon-Aznar CP, Fonollosa-Pla V, Jove-Buxeda E, et al. [Prognostic implications of extra-hepatic clinical manifestations, autoimmunity and microscopic nail capillaroscopy in patients with primary biliary cirrhosis]. *Medicina clinica*. 2015 May 12. PubMed PMID: 25978920. Implicacion

pronostica de las manifestaciones clinicas extrahepaticas, autoinmunidad y capilaroscopia ungueal microscopica en pacientes con cirrosis biliar primaria.

39. Shi TY, Zhang LN, Chen H, Wang L, Shen M, Zhang X, et al. Risk factors for hepatic decompensation in patients with primary biliary cirrhosis. *World journal of gastroenterology*. 2013 Feb 21;19(7):1111-8.

40. Abbas G, Jorgensen RA, Lindor KD. Fatigue in primary biliary cirrhosis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2010 Jun;7(6):313-9.

41. Pares A, Guanabens N, Rodes J. Gene polymorphisms as predictors of decreased bone mineral density and osteoporosis in primary biliary cirrhosis. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2005 Mar;17(3):311-5.

42. Guanabens N, Cerda D, Monegal A, Pons F, Caballeria L, Peris P, et al. Low bone mass and severity of cholestasis affect fracture risk in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(7):2348-56.

43. Guanabens N, Pares A, Ros I, Caballeria L, Pons F, Vidal S, et al. Severity of cholestasis and advanced histological stage but not menopausal status are the major risk factors for osteoporosis in primary biliary cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2005 Apr;42(4):573-7.

44. Guichelaar MM, Kendall R, Malinchoc M, Hay JE. Bone mineral density before and after OLT: long-term follow-up and predictive factors. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2006 Sep;12(9):1390-402.

45. Mounach A, Ouzzif Z, Wariaghli G, Achemlal L, Benbaghdadi I, Aouragh A, et al. Primary biliary cirrhosis and osteoporosis: a case-control study. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2008;26(4):379-84.
46. Selmi C, Meroni PL, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis and Sjogren's syndrome: autoimmune epithelitis. *Journal of autoimmunity*. 2012 Aug;39(1-2):34-42.
47. Lammers WJ, van Buuren HR, Hirschfield GM, Janssen HL, Invernizzi P, Mason AL, et al. Levels of alkaline phosphatase and bilirubin are surrogate end points of outcomes of patients with primary biliary cirrhosis: an international follow-up study. *Gastroenterology*. 2014 Dec;147(6):1338-49 e5; quiz e15.