

Estudio etiopatogénico de las alteraciones en la resonancia magnética y RM espectroscópica en la encefalopatía hepática mínima. Relación con la producción intestinal de amonio.

Lourdes Grande Santamaría

Sevilla 2005

Tesis Doctoral

Estudio etiopatogénico de las alteraciones en la resonancia magnética y RM espectroscópica en la encefalopatía hepática mínima. Relación con la producción intestinal de amonio.

Presentada al programa de Doctorado “Avances en Medicina” del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla por

Lourdes Grande Santamaría

Licenciada en Medicina por la Universidad de Sevilla

Director: Dr. Manuel Romero Gómez.

**Co-Directores: Dr. Manuel Castro Fernández
Prof. Antonio Grilo Reina.**

Realizada en:

Sección de Aparato Digestivo del Hospital Universitario de Valme.

**Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario de Valme. Sevilla.
España.**

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Departamento de Medicina

Facultad de Medicina

Dr. D. Manuel ROMERO GÓMEZ, Facultativo Especialista de Área de Aparato Digestivo del Hospital Universitario de Valme.

Dr. D. Antonio GRILO REINA, Profesor titular de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Dr. D. Manuel CASTRO FERNÁNDEZ, Profesor Asociado de Medicina de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICAN

Que Doña Lourdes Grande Santamaría, Licenciada en medicina y cirugía por la Universidad de Sevilla, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo de investigación titulado “Estudio etiopatogénico de las alteraciones en la resonancia magnética y RM espectroscópica en la encefalopatía hepática mínima. Relación con la producción intestinal de amonio” y que reúne las condiciones necesarias para ser presentado para optar al grado de Doctora por la Universidad de Sevilla.

Sevilla, a 17 de Enero de 2005

Fdo: Prof. Dr. Antonio Grilo Reina
Co-director

Fdo: Prof. Dr. Manuel Castro Fernández.
Co-director

Fdo: Dr. Manuel Romero Gómez
Director

Fdo: Lourdes Grande Santamaría
Doctorando

*A mi marido,
siempre a mi lado*

*Mi agradecimiento al Dr. D. Manuel Romero
Gómez, director de esta tesis, cuya dedicación, esfuerzo e
inquietudes han hecho posible esta tesis doctoral*

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. I Camacho, por su labor incansable y siempre dispuesta.

A la Dra. A. Fernández Palacín y D^a C. Almeida González, por su orientación y trabajo conjunto en el estudio estadístico

Al Dr. M. López Artigue, por su colaboración desinteresada.

Al Dr. A. Cano, por su enorme labor en el estudio de neuroimagen.

Al Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario de Valme de Sevilla, por sus consejos y ánimo para que este trabajo haya sido posible.

Al Dr. D. Manuel Castro Fernández y Dr. D. Antonio Grilo Reina, codirectores de esta tesis, por su confianza en este proyecto.

ÍNDICE

-INTRODUCCIÓN	7
-MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	11
1. Test psicométricos	13
2. Pruebas neurofisiológicas	23
3. Resonancia magnética cerebral	32
4. Resonancia magnética espectroscópica cerebral	36
5. Función hepática	43
6. Hipertensión portal	46
7. Fisiopatología de la encefalopatía hepática	49
-HIPÓTESIS DE TRABAJO	59
-OBJETIVOS	61
-MATERIAL Y MÉTODOS	62
-METODOLOGÍA ESTADÍSTICA	76
-RESULTADOS	80
-DISCUSIÓN	114
-CONCLUSIONES	127
-RESUMEN	129
-BIBLIOGRAFÍA	132

INTRODUCCIÓN

La encefalopatía hepática (EH) es una grave complicación de la cirrosis hepática, tanto por las serias manifestaciones clínicas, como por las necesidades terapéuticas e implicaciones pronósticas. A pesar de ello, la ausencia de métodos diagnósticos que permitan su prevención y la fuerte implicación de la disfunción hepática en su patogenia, han hecho que sea la complicación mayor de la cirrosis hepática menos estudiada. La EH puede definirse como un complejo síndrome neuropsiquiátrico que acontece en pacientes con disfunción hepática. Recientemente, en una reunión de expertos se ha propuesto una nueva clasificación de la encefalopatía hepática¹. Existen tres tipos de EH: Tipo A asociada a insuficiencia hepática aguda grave, tipo B asociada a la existencia de comunicaciones porto sistémica sin enfermedad hepática intrínseca y tipo C asociada a cirrosis e hipertensión portal y comunicaciones porto sistémicas. La EH tipo C, se ha clasificado a su vez según la forma de presentación en *EH episódica*, *EH persistente* y *EH mínima* (Tabla 1).

El desarrollo de EH condiciona un mal pronóstico a la enfermedad, de forma que se estima que la supervivencia se sitúa en torno al 15-23% a los 3 años de sufrir un episodio de EH clínica². Por tanto, un reconocimiento precoz de alteraciones neuropsicológicas que puedan predecir el desarrollo de esta complicación es fundamental en el manejo del paciente cirrótico.

Desde 1978 se han comunicado diferentes estudios sobre el diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima, que inicialmente se denominó latente, posteriormente subclínica y recientemente EH mínima, dado que afecta la calidad de vida, deteriora la capacidad de conducción y se considera la antesala para el desarrollo de episodios de encefalopatía hepática. La encefalopatía hepática mínima (EHM) se define como una

situación en la que los pacientes con cirrosis hepática compensada muestran un número cuantificable de defectos neurofisiológicos, a pesar de un estado mental y neurológico normal en la exploración clínica rutinaria³. La importancia diagnóstica de la EHM radica, en cuatro aspectos: A) Una alta prevalencia que afecta aproximadamente a entre un 25% y un 33% de los pacientes con cirrosis hepática compensada. B) La EHM se ha relacionado con un elevado riesgo de desarrollar encefalopatía hepática clínica, por lo que se considera la primera manifestación en el espectro de alteraciones clínicas que tienen lugar en el síndrome de la EH^{4,5}. En un estudio prospectivo, incluyendo 63 cirróticos, se comprobó que 5 de cada 6 pacientes que desarrollaron encefalopatía hepática presentaban datos de EHM en el estudio basal⁶. Por tanto, el estudio de la presencia de EHM es fundamental en el manejo del paciente cirrótico. C) La EHM deteriora la capacidad de conducción. Inicialmente se postuló que la EHM podría tener un efecto negativo sobre la capacidad de conducir, basado en que un 60% de cirróticos no eran capaces de superar las pruebas de aptitud para la misma⁷; sin embargo, un estudio piloto posterior demostró que los pacientes con EHM no presentaban diferencias con un grupo control corregidos por edad, sexo y profesión⁸. Recientemente se ha demostrado que los pacientes con EHM requieren con más frecuencia la intervención del instructor para evitar accidentes de tráfico o errores en la conducción (36%) respecto a pacientes sin EHM (6%) y controles (8%)⁹. Las discrepancias entre los estudios pueden ser explicadas por el tamaño muestral, la selección de pacientes (incluyen pacientes con antecedentes de encefalopatía hepática) y la duración del test de conducción (90 minutos frente a 30 minutos). D) Por último, la EHM condiciona alteraciones en la calidad de vida. En un estudio holandés encuentra que cirróticos con EHM muestran un deterioro en las funciones de la vida diaria, valoradas mediante un cuestionario de Perfil de Impacto de la Enfermedad (SIP)¹⁰, con mayor alteración en las

categorías de tiempo libre, alerta, sueño/descanso, interacción social, gestión del hogar, comportamiento emocional y trabajo¹¹. El deterioro en la aptitud laboral se puede considerar como el mayor impacto en la calidad de vida, siendo especialmente importante la afectación en profesiones que requieren destreza manual ya que el déficit específico se aprecia en la función psicomotora e inteligencia práctica con preservación de la capacidad verbal¹².

Tabla 1. Propuesta de clasificación de la encefalopatía hepática (EH)

Tipos EH	Nomenclatura		
A	Encefalopatía en la insuficiencia hepática aguda grave		
B	Encefalopatía en pacientes con comunicaciones porto sistémicas sin disfunción hepática.		
		Categorías	Subtipos
C	Encefalopatía en la cirrosis hepática con hipertensión portal y comunicaciones porto sistémicas.	EH Episódica	Con factor precipitante
			Espontánea
			Recurrente
		EH Persistente	Leve
			Grave
			Tratamiento-dependiente
		EH mínima	

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Desafortunadamente los test diagnósticos utilizados en la EHM no son uniformes lo que da lugar a un debate respecto al diagnóstico y prevalencia real de ésta entidad. En cirróticos compensados la prevalencia de EHM depende del estadio de Child-Pugh estimándose en un 15% en estadio A y 30% - 40% en pacientes en estadio B de Child-Pugh. Los métodos más utilizados son combinaciones de test psicométricos asociado o no a test neurofisiológicos, como el EEG o potenciales evocados, no existiendo una prueba “oro”. La aplicación de estas pruebas, permiten comprobar que los pacientes con cirrosis hepática, independientemente de la etiología, muestran alteraciones en la ejecución de estas pruebas cuando se comparan con controles sanos de la misma edad y nivel de instrucción¹³. No obstante, estas pruebas psicométricas tienen un fuerte componente subjetivo, se ven influenciadas por la edad y nivel de instrucción y están poco estandarizadas, puesto que pocos estudios emplean un grupo control bien caracterizado en base a la edad, sexo, educación¹⁴ y consumo de alcohol, así también, sufren el efecto aprendizaje con la repetición de las mismas. Por todo ello, a pesar de su accesibilidad no han alcanzado gran predicamento entre los hepatólogos. El uso de técnicas neurofisiológicas aporta una cierta objetividad aunque presenta problemas metodológicos, están poco accesibles, requieren aparataje sofisticado y análisis especializado, y además, aportan una menor sensibilidad diagnóstica que los test psicométricos. Recientemente, se ha comunicado que el estudio de la frecuencia crítica de parpadeo (una técnica diagnóstica utilizada en la valoración neuropsicológica de diferentes enfermedades como la esclerosis múltiple, o el Alzheimer), permite diagnosticar correctamente la presencia de EHM comparado con los test psicométricos, aunque estos resultados son prometedores, requieren confirmación en futuros estudios¹⁵. Por último, surge la resonancia magnética cerebral (RM) como una técnica objetiva y no

invasiva, que aunque útiles para conocer la fisiopatología de la EH y probablemente rentables en la valoración de los efectos terapéuticos de nuevos fármacos, no se pueden usar en la clínica diaria por su alto coste y baja disponibilidad. Por todo ello, siguen siendo los tests psicométricos el arma diagnóstica fundamental en el manejo de pacientes con cirrosis hepática compensada.

1.- Test psicométricos:

1.1- Test de conexión numérica

Durante décadas los test psicométricos (TP) han sido utilizados ampliamente para la detección de EHM, siendo el más empleado el TCN. Este tipo de test ha existido bajo diferentes formas y nombres desde hace al menos 40 años. El test prototipo fue conocido como la serie de números de Taylor, posteriormente como Test de atención distribuida y a continuación como Pathway test. Se incluyó en la batería de test de aptitud de la armada USA y se le denominó por primera vez Trailmaking test. Más adelante, Partington y Leiter se referían al test como la Escala de rendimiento del adulto. Por último, Reitan utilizó nuevamente el nombre de Trailmaking test, aplicándolo como método para conocer el índice de daño cerebral.

Inicialmente, el TCN se utilizó para valorar el rendimiento mental de los pacientes, aunque no fue introducido en el diagnóstico de EH hasta Zeegan¹⁶, que en 1970 lo utilizó como un método de medida de disfunción cerebral en pacientes con encefalopatía hepática y para su valoración durante el tratamiento.

El TCN plantea dos problemas, el efecto aprendizaje y la influencia de la edad y del nivel de instrucción. En 1977 Conn¹⁷ resalta el efecto del aprendizaje con la repetición del test, se producía una mejoría de la puntuación con independencia de la disfunción cerebral. El autor desarrolló una serie de variantes del test que les permitieron repetidas mediciones sin que el efecto aprendizaje invalidara la prueba.

Respecto a la influencia de la edad y educación, los primeros estudios utilizan grupos de edad y nivel de instrucción a criterio del autor, normalmente eran límites rígidos, por décadas. Posteriormente, Zeneroli et al¹⁸, aplica un factor de corrección para analizar los resultados del TCN teniendo en cuenta la edad y el nivel de instrucción, evitando el uso de límites rígidos. Recientemente Weissenborn et al¹⁴ en 249 controles,

en vez de un factor de corrección expresan los resultados en base a una regresión multivariante teniendo en cuenta la edad y educación, calculando un factor de corrección continuo. Observan que el TCN-A depende fundamentalmente de la edad y secundariamente de la educación, mientras que el TCN-B muestra una similar dependencia de la edad y educación, no existiendo en ninguno de ellos influencia según la ocupación. Posteriormente, en un grupo de 169 pacientes cirróticos no alcohólicos, 130 sin signos clínicos de EH y 39 con grado I, determina los valores como una desviación estándar a partir de los datos esperados en función de la edad y nivel de educación, simplificando su interpretación y evitando la necesidad de dividir en subgrupos. Los datos obtenidos son comparados con otras series^{19,20}, donde Weissemborn et al encuentra que sus resultados, presentan una mayor especificidad y una menor sensibilidad, con inferior número de falsos positivos. Esta influencia de la edad es detectada por otros autores, de forma que de un 50% de TCN-A alterados desciende a una cifra del 7% cuando se valora la edad²¹, incluso las diferencias encontradas entre un grupo de 32 alcohólicos sin enfermedad hepática y otro de 36 con cirrosis alcohólica desaparecen al corregir los valores por la edad⁷. Otros factores como el estrés durante el examen, la motivación del sujeto o el personal examinador, no parecen influir en los resultados de esta prueba.

En conclusión, pocos estudios emplean un grupo control bien caracterizado en base a edad, sexo, educación y consumo de alcohol, pudiendo detectar falsos positivos.

1.2.-Escala de inteligencia de Wechler (WAIS)

Otros test utilizados son la escala de inteligencia del adulto de Wechler. Aunque es una batería de test de inteligencia no diseñada para la evaluación neuropsicológica, su uso en la clínica es muy frecuente. Está organizado en dos escalas, 6 subtest verbales y 5 subtest de rendimiento psicomotor. (WAIS-V y WAIS-P)

I.- Test verbales:

- Información: 29 ítems de información general que valoran los conocimientos de cada individuo. Evalúan la inteligencia y minimizan el efecto del nivel educacional, socioeconómico y cultural. Están distribuidos en una escala de dificultad creciente.
- Comprensión: Consiste en 14 ítems que valoran el sentido común. Plantea dificultades prácticas para usar un razonamiento lógico(abstracción de refranes populares).
- Aritmética: Se plantean 14 problemas matemáticos que han de resolverse con limitación de tiempo, midiendo la rapidez en la respuesta.
- Semejanzas: Este test consta de 13 ítems, en los que se establecen semejanzas entre dos palabras. No se emplean automatismos y requiere capacidad de abstracción.
- Dígitos: consiste en dictar al paciente una serie de números de 2 a 9 cifras, que deben ser evocados posteriormente en el mismo orden; explora la memoria inmediata. Luego, se han de reproducir las series invertidas, por lo que no es sólo una medida de memoria, sino también de planificación.
- Vocabulario: consiste en presentar de forma oral y escrita 40 palabras de dificultad creciente que el paciente ha de definir. Está muy influenciado por el nivel cultural.

II. Escala de rendimiento psicomotor:

- **Clave de números:** El paciente debe asociar cada dígito a un símbolo, de la manera más rápida posible, obedeciendo a una clave. Mide la velocidad y seguridad psicomotora, así como la atención visuográfica y la coordinación visuomotora.
 - **Figuras incompletas:** consiste en adivinar el elemento que no aparece en cada una de las 21 figuras para que estas adquieran un completo sentido. Valora la capacidad conceptual y perceptiva.
 - **Diseño de cubos:** Consiste en 9 cubos pequeños, de una pulgada de arista, con dos caras rojas, dos blancas y 2 mitad roja mitad blanca en forma diagonal. El paciente debe crear una serie de 10 diseños geométricos a partir de modelos abstractos. Es una medida de praxis constructiva y de funciones visuoespaciales.
 - **Historietas:** Una serie de viñetas han de ser ordenadas para crear una historia. Mide el razonamiento lógico secuencial.
 - **Rompecabezas:** El paciente ha de ensamblar 4 objetos de uso cotidiano. Se mide el número de aciertos y el tiempo empleado.
- Otros Test:
- **Test de memoria visual de Williams:** Se presenta la información visualmente como objetos en fichas, debiendo recordarlas después de un periodo de tiempo determinado. Mide la memoria.
 - **Test de exclusión de A:** El sujeto es invitado a excluir todas las palabras que contengan la letra “a” de una larga lista de términos, en un tiempo especificado. Valora el proceso preatencional visual.
 - **Escala de memoria del adulto de Wechler:** revisada por Russel.
 - **Alfabeto:** Mide el tiempo necesario para expresar ordenadamente las letras del alfabeto.

- Meses invertidos: El sujeto debe nombrar los meses del año en orden inverso, empezando por Diciembre.
- Habilidad visuoespacial: El sujeto debe realizar el dibujo de un reloj, indicando una hora fijada (10 min. pasadas las once).
- Finger tapping: Número de teclas golpeadas en un telégrafo durante 10 segundos, usando ambas manos. Mide la velocidad motora.
- Purdue Pegboard: Describe el número de ganchos colocados en un tablero en un periodo de 30 segundos. Es la suma de la puntuación de la mano derecha e izquierda y velocidad bimanual. Mide la función motora fina.

La utilización de test psicométricos distintos al TCN han mostrado una serie de limitaciones, por resultar incompletos, variables y analizando un limitado número de dominios cognocitivos²².

Zeegen en 1970¹⁶, observó en un grupo de pacientes cirróticos sin clínica de EH que el TCN A y B era superior al estudio del estado mental. Rikkers et al en 1978²³ evalúa una batería de test en un grupo de 30 pacientes sometidos a derivación portosistémica quirúrgica, determinando una prevalencia de EHM del 60% ante la existencia de uno o más test alterados, encontrando más sensibles el TCN A y B, un 53% y 60% respectivamente, así como en el WAIS-P, el test de exclusión de “a” y el tiempo de reacción a luz y el sonido, aconsejando el uso rutinario en pacientes sometidos a derivación quirúrgica. No obstante, la selección de tests a aplicar para diagnosticar EHM no ha sido consensuada, de forma que otros autores no incluyen el TCN y consideran el diseño de cubos, clave de números y el tiempo de reacción simple a la luz, como los que discriminan e identifican mejor la EHM²⁴. La prevalencia de EHM varía según los test psicométricos aplicados, de forma que el diseño de cubos detecta el 55% de EHM, el test de figuras incompletas el 50%, el rompecabezas el 40% y la clave de

número el 30%, si bien, otros autores encuentran este último test como el más sensible, tanto de forma aislada como en asociación con el diseño de cubos²³.

La naturaleza de los déficits cognoscitivos que caracterizan a la EHM no es conocida, lo que dificulta la elección de los test que serían más adecuados para su estudio. La presencia y caracterización de las alteraciones atencionales en pacientes con EHM ha sido investigado por Mc Crean et al²⁵, no encontrando alteración en la memoria, lenguaje, habilidad intelectual y visuoespacial, en contraposición con otro artículo¹⁹, probablemente porque estos estudios interpretan las alteraciones del TCN y clave de números como un déficit visuoespacial más que una disfunción en la atención. El deterioro en el rendimiento de la clave de números y el TCN-A se ha asociado a un déficit en la capacidad visuoespacial y la atención. En un estudio reciente²⁶, se ha demostrado que los test que requieren una mayor atención y elaboración de la información presentan diferente eficacia en la detección de EHM, lo que explicaría la mayor especificidad del TCN-B frente al TCN-A²⁷. La memoria ha sido inconsistentemente implicada en la EHM, describiéndose alterada en algunas series^{28,7,16} y en otras preservada¹⁹. Mediante tomografía con emisión de positrones se han identificado alteraciones en el metabolismo de la glucosa, a nivel del gyrus de la cíngula²⁹, que forma parte del sistema atención cerebral, apoyando la hipótesis de que los elementos del sistema atencional son selectivamente afectados en pacientes con EH grado I, explicando los deterioros encontrados en algunos test neuropsicológicos.

Por lo tanto, los test psicométricos que se han de emplear para un correcto diagnóstico de EHM no están definidos, ya que existe controversia respecto a la sensibilidad de los test y la naturaleza de los déficits cognitivos que caracterizan a la EHM, la mayoría de los pacientes con EHM muestran un deterioro psicomotor, estando

preservada la capacidad verbal, por lo que la medida de la misma puede infradiagnosticar la EHM.

Los test psicométricos que exploran la atención y habilidad motora fina deberían ser suficientes para el cribado de EHM. La asociación de varios test psicométricos podría mejorar la rentabilidad diagnóstica de EHM. No obstante, el TCN posee una serie de ventajas difíciles de superar, ya que es una prueba sencilla, económica, sensible y específica, con resultados similares a los obtenidos con el uso de test computerizados²¹. De todas formas, el uso del TCN de forma aislada parece insuficiente según la mayoría de los estudios, ya que sería incapaz de detectar las alteraciones en la construcción visuo-espacial, la habilidad motora fina, así como los defectos en la percepción y la atención. Los test psicométricos repetidamente seleccionados por su mayor capacidad para identificar la EHM son el test de conexión numérica, especialmente la parte A, el test de clave de número y el diseño de cubos, ambos de la escala de inteligencia de Weschler del adulto. Estos TP han sido los más empleados por su sensibilidad, su facilidad para realizarlo a nivel ambulatorio y su bajo coste²¹, permitiendo una clasificación correcta de los pacientes, siempre que se cuente con un grupo control bien estudiado (Figura 1).

En los últimos meses se ha intentado unificar criterios, diseñando una batería de test que aunase todas las carencias descritas, que fuesen fáciles de aplicar, realizables en papel y que explorasen cada una de las facetas neuropsicológicas habitualmente afectas en pacientes cirróticos³⁰ se trata de la Psychometric Hepatic Encephalopathy Score (PHES). El uso del TCN-A, TCN-B, CN, test de la línea quebrada y la serie de puntos permite diagnosticar correctamente la existencia de encefalopatía hepática mínima (Figura 2):

-*El test de serie de puntos(SD)* consiste en 10 filas de círculos distribuidas en una página, el sujeto debe poner un punto en el centro de cada círculo, tan preciso como sea posible, comenzando siempre por la parte de la izquierda de la fila. Se mide el tiempo y el número de errores.

-*El test trazado de líneas(LT)*: el sujeto debe dibujar una línea continua entre dos líneas dadas. Al hacerlo, no debe tocar ni cruzar las líneas pintadas. Se mide el tiempo en realizarla así como el número de errores.

En este estudio, estos cinco test se aplicaron a controles sanos, pacientes con enfermedad de Crohn, y cirróticos con y sin encefalopatía hepática. Tras la realización de los test se calcula la desviación de cada resultado, de forma que por cada desviación estándar se le aplica un punto, negativo o positivo según la desviación sea hacia una más correcta o incorrecta realización. De esta forma cada paciente puede obtener una calificación entre -15 y +3. Todos los pacientes con EH presentaban -5 puntos o menos, mientras que los pacientes con enfermedad de Crohn o los controles sanos presentaban más de -3 puntos. Por tanto, el límite que define la existencia de EH mínima es -4 puntos.

Esta serie de pruebas puede realizarse en unos 15-20 minutos, se ha confirmado que tiene validez y fiabilidad, y en la actualidad, parece confirmarse como la referencia para el diagnóstico de la EHM. La Red Temática de Encefalopatía ha realizado a cabo una validación de estos test en la población española, con la publicación de las tablas de normalidad en su página web ([http:// mangelito.dynalias.next/redeh](http://mangelito.dynalias.next/redeh)). Por tanto esta propuesta parece un buen acercamiento hacia una definición clara de los TP que se han de utilizar en el diagnóstico de EHM.

Figura 1. Test psicométricos para el diagnóstico de EHM, utilizados en el estudio: Test conexión numérica A, test de la clave de números y el test del diseño de cubos (de izquierda a derecha).

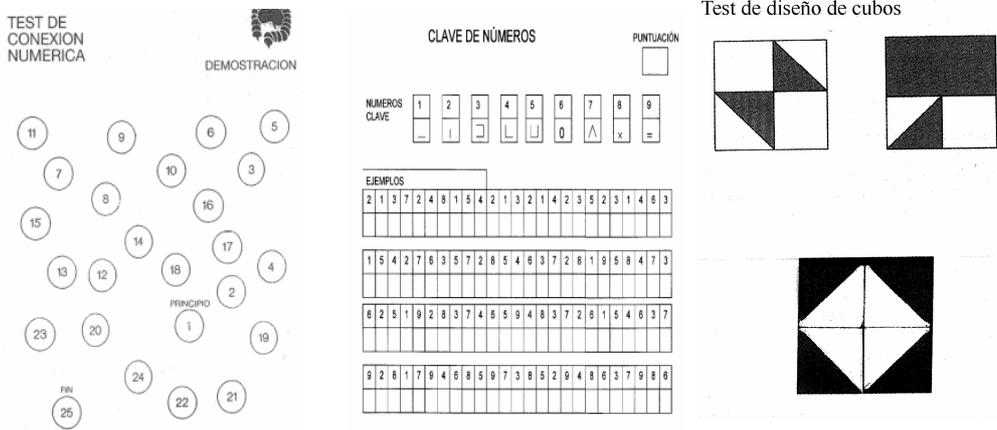
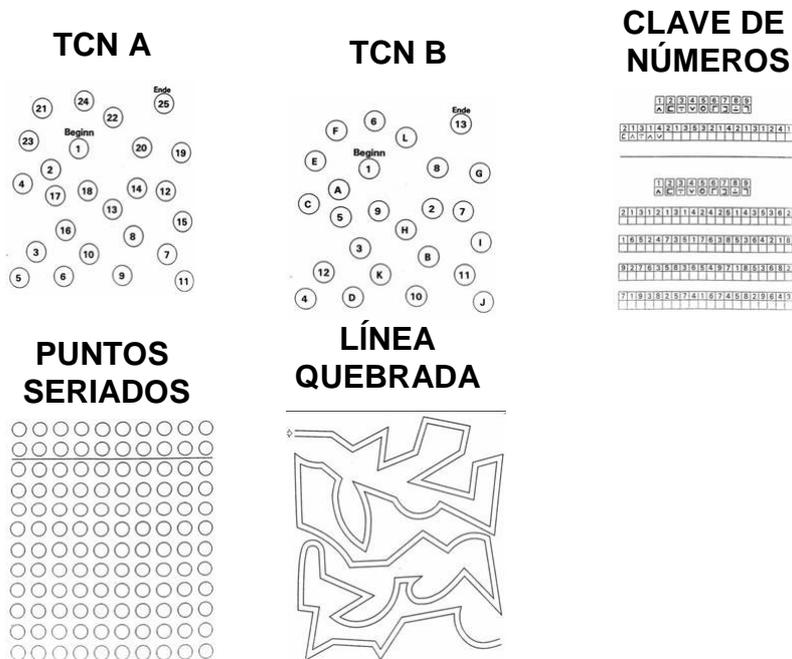


Figura 2. Test psicométricos para el diagnóstico de EHM: Test conexión numérica A, test conexión numérica B, test clave de números, test serie de puntos y test de la línea quebrada (de izquierda a derecha).



1.3-Test computerizados/ técnicas psicofisiológicas

Respecto a los TP computerizados, han demostrado ser tan efectivos como los TP estándar, aportan información pronóstica²⁶ y exploran campos específicos como “el test Posner”²⁷ y el de Sternberg paradigm³¹ que valoran selectivamente la atención y la memoria, con una buena correlación con el TCN y EEG. Por último, están las técnicas psicofisiológicas que están en relación con el campo de aptitud psicomotor³², empleándose para valorar los efectos secundarios de diversos psicofármacos, aunque han demostrado una gran sensibilidad en la detección de alteraciones presentan menor especificidad:

- El tiempo simple de reacción a la luz o al sonido, basado en la aplicación de 12 secuencias separadas en bloques para la luz y el sonido. Cada prueba comienza tras un intervalo preparatorio, y con la mano posicionada encima de una tecla, se pide al paciente que corte lo antes posible un tren de estímulos sonoros o visuales. Se mide la media de secuencias sucesivas del tiempo de reacción, excluyendo los dos tiempos más altos y los dos más bajos. Mide la velocidad psicomotora en respuesta a la luz y al sonido.

- La elección del tiempo de reacción al sonido y a la luz utiliza el mismo instrumento y estímulo, pero el sujeto responde a la luz con la mano derecha y al sonido con la izquierda, estímulos que aparecen de forma aleatoria alternante. Valora además el tiempo de decisión.

La limitada experiencia en estas pruebas, unido a que exigen un gran esfuerzo por parte del paciente, material computerizado, una experiencia previa del examinador para su correcta valoración y varias horas para su realización, impide su uso en la consulta médica habitual.

2.-Pruebas neurofisiológicas

Debido a las mencionadas desventajas de los test psicométricos varios autores han propuesto el uso de métodos neurofisiológicos como métodos más objetivos para la detección de EHM.

2.1.-El Electroencefalograma:

Desde la comunicación de Parson Smith en 1957 en que demostró la existencia de diferentes grados de EH en función de las alteraciones que aparecían en los registros del electroencefalograma (EEG) de pacientes con cirrosis hepática, es la prueba neuropsicológica más empleada en el estudio de la EH. Consiste en un análisis cualitativo del registro, donde se valora el porcentaje de actividad theta dominante. El EEG no ha jugado un claro papel en el diagnóstico de EHM, ya que presenta una escasa sensibilidad, de forma que en un grupo de cirróticos sometidos a una derivación porto-sistémica se detectaron alteraciones en el EEG en el 30% de los pacientes, mientras que el 60% presentaba algún TP alterado³³, concluyendo que el EEG es menos sensible que los TP e implica mayor alteración de la función cerebral, ya que el 80% de los pacientes con EEG anormal presentaban TCN parte B alterado, frente al 50% de pacientes con EEG normal. Además, la concordancia entre EEG y TP es muy baja, alrededor del 16%²¹.

El análisis espectral del EEG mediante técnicas computerizadas³⁴, que incluye cuantificación de la frecuencia media dominante y la potencia de un determinado ritmo, reduce la subjetividad del EEG con menor variabilidad inter-observador. El resultado del EEG espectral se correlaciona con el estado mental, lo que podría aportar un mejor diagnóstico de la EHM.

2.2.-Los potenciales evocados (PE)

Son señales eléctricas registradas por electrodos extracelulares generadas tras la estimulación adecuada de tejidos excitables. Podemos aplicar distintos estímulos recogiendo PE visuales con estimulación lumínica; auditivos con señales auditivas y somatosensoriales con la estimulación eléctrica de nervios somatosensitivos. En los últimos 20 años se han desarrollado tres modos de estimulación exógena, potenciales evocados visuales(PEV), potenciales evocados auditivos de tronco(PEATC) y potenciales evocados somatosensitivos(PES), además de un modo endógeno que permite la detección de potenciales retardados (onda P300) auditivos y visuales. Aunque todas estas técnicas han demostrado por separado su utilidad, queda por confirmar cual es la más sensible y hasta qué punto se ven influenciadas por las disfunciones cerebrales secundarias al alcoholismo.

2.2.1 Potenciales evocados visuales:

Son estudios paraclínicos que proporcionan una medida objetiva de la función del órgano visual y de sus vías sensoriales. Para obtenerlos estimulamos visualmente uno o ambos ojos, con un flash luminoso o con un damero, registrando las ondas a nivel de la corteza occipital. Se recomienda un registro unipolar para los estudios de rutina. Para ello, situaremos el electrodo activo entre 3-5 cm. por encima de la protuberancia occipital externa (posición OZ) y el de referencia en la frente, oreja o mastoides. Los potenciales con mayor valor diagnóstico son los más tardíos, llamados complejo N2-P2-N3, atendiendo a su polaridad, o N80-P100-N145 atendiendo además a sus latencias. La onda P100 (sobre 100ms, onda P2) es la de conformación más regular y la que presenta menores variaciones intra e interindividuales respecto a su latencia. Esta latencia constante no se ve afectada por parámetros de difícil control, como el nivel de

concentración y la agudeza visual, lo que la hacen ser el parámetro de mayor sensibilidad para detectar condiciones patológicas³⁵.

El papel de los potenciales evocados visuales (PEV) en la EHM³⁶ es limitado, ya que muestra una gran variabilidad y escasa sensibilidad; en pacientes sin EH se detectaron PEV alterados en un 11% comparado con un 19% del TCN-A. Además, la alteración de los PEV no se relaciona con el desarrollo posterior de encefalopatía, a diferencia de los PEATC³⁷.

2.2.2 Potenciales evocados auditivos:

Están constituidos por una serie de ondas que individualmente representan la activación de las distintas estructuras de la vía auditiva aferente. La primera onda en esta secuencia representa el potencial de acción del nervio auditivo. Posteriormente, se suceden sobre unas catorce ondas que se clasifican, atendiendo a sus latencias, en potenciales tempranos (1.3-8 ms), medios (15-50ms) y tardíos (50-250 ms). Los componentes que aparecen dentro de los primeros 10 ms tras la presentación del estímulo, son generados por estructuras del tronco cerebral, que, en orden de presentación, corresponden con el núcleo coclear, nervio coclear, núcleo superior olivar, lemnisco lateral, colliculus inferior y cuerpo geniculado medial. Estos potenciales son ondas positivas, en número de 5 a 7, representadas clásicamente por números romanos. Se desconoce el origen topográfico de los componentes medios y tardíos por lo que no se utilizan en los estudios rutinarios.

El estímulo auditivo más efectivo es la secuencia rápida de clicks (entre 1.000 y 2.000), monoaurales y a 60-70 dB por encima del umbral auditivo individual. El oído contralateral se enmascara con un “ruido blanco” de unos 30 dB para permitir diferenciarlo del estimulado. Los PEATC son muy sensibles a la localización de los electrodos, cambiando la latencia y morfología de sus ondas. Se recomienda situar los

electrodos de referencia en la línea media por debajo del vértex para detectar correctamente los tres principales componentes, los potenciales I, III y V, y sus latencias interpicos I-III, III-V y I-V. Otro factor que hace modificar la latencia de las ondas y, por tanto, los intervalos entre ellas, es la intensidad del estímulo aplicado. Por regla general, el intervalo I-III y III-V suele ser de 2 ms, mientras que el I-V es de unos 4 ms

Los primeros estudios realizados para evaluar el papel de los PEATC en la EHM fueron realizados por Yang³⁸ y Tarter³⁹ en 1.986. Estos estudios fueron dispares a la hora de seguir una clasificación en el grado de encefalopatía (de Conn y Parsons-Smith) por lo que no se pueden realizar comparaciones directas entre los resultados. En conjunto, los pacientes con encefalopatía grado 0-I no mostraban prolongaciones significativas de los picos I-V o de sus latencias interpicos, aunque Tarter si encontró una clara correlación entre latencias prolongadas y deterioro de la función hepática.

Por contrario, otros estudios realizados por Martines⁴⁰, Rosa⁴¹ y Mehndiratta⁴² si encontraron retardos en las latencias, sobre todo en la interpicos I-V, sugestivos de afectación subcortical, independientemente de la etiología de la cirrosis y del estado funcional hepático. Mehndiratta considera la determinación de PEATC como el test más sensible para detectar EHM al encontrar alteraciones en el 41% de los pacientes.

La etiología de la cirrosis influye de forma importante en la mayoría de estudios realizados, presentan la desventaja de verse influidos por el consumo de alcohol. En la cirrosis alcohólica con hipertensión portal y EH se suelen registrar latencias más retardadas que en las de origen no alcohólico³⁸. Esto se ha relacionado con la desmielinización que produce el alcoholismo, ya que se ha descrito alteración de los PEATC en alcohólicos no cirróticos. En la enfermedad de Wilson, los depósitos de cobre son responsables de la desmielinización en la mielinolisis central pontina y en la

sustancia blanca cerebral, lo que traduce una afectación importante de los PEATC. Sin tener en cuenta etiologías, en la cirrosis, la acumulación de sustancias neurotóxicas por el shunt portosistémico así como los cambios en el metabolismo energético, pueden ser los causantes del retardo de latencias.

2.2.3 Potenciales evocados somestésicos:

Son sensibles, muy específicos y no dependen de la etiología. La estimulación eléctrica de un territorio cutáneo o de un nervio periférico genera una secuencia de potenciales resultado de la transmisión del impulso a lo largo de la vía somestésica y de la descarga de grupos neuronales de la corteza cerebral. Se distinguen así numerosos componentes que se pueden dividir en potenciales subcorticales, aquellos que ocurren en los primeros 18 ms., y corticales, traducción de la actividad postsináptica y que se clasifican en precoces y tardíos. Estos componentes se pueden registrar mediante electrodos de superficie colocados en las regiones frontal, rolándica y parietal contralaterales al estímulo, obteniéndose distintos PES según el lugar de registro. El nervio periférico estimulado suele ser el mediano, 1 cm por encima de la muñeca. Para ello, utilizaremos electrodos de superficie y aplicaremos estímulos eléctricos de 100 ms de duración separados por 200ms (5 estímulos). Para este nervio, los potenciales subcorticales son por orden de aparición: P9, N13-P13, P14 y N18. A nivel cortical y precoz, encontraremos: P14, P20 y N30 en la región frontal; P15, P22 y N35 en la rolándica, y P14, N20 y P27 en la parietal. Los potenciales corticales tardíos serían: P45 y N80 en región frontal; P50 y N90 en región rolándica, y N45 y P80 en región parietal. Estos potenciales tardíos presentan gran variabilidad intra e interindividual y se ven altamente influenciados por la atención y otras tareas discriminativas, por lo que no suelen analizarse en los estudios rutinarios.

Aunque las latencias están fuertemente influenciadas por la temperatura en las extremidades o por la presencia de neuropatías periféricas (muy prevalentes en alcohólicos), lo que ocasiona diferencias interindividuales, se trata de un método objetivo para estudiar la vía central somatosensitiva y sus estructuras funcionales, como explicamos para los PEATC.

De forma global se acepta que los potenciales evocados somatosensoriales (PES) y potenciales endógenos (P300) parecen ser las pruebas neurofisiológicas más objetivas para el diagnóstico de EHM⁴³. En un estudio prospectivo, donde se incluyen 44 pacientes con cirrosis descompensada, un 93% de los pacientes con PES alterados desarrollaron posteriormente EH, frente al 70% de los pacientes con TCN alterado, sugiriendo que los PES son más específicos, con superior valor predictivo positivo pero menos sensibles⁴⁴. En el estudio de Mehndiratta⁴² se compararon los valores diagnósticos de PEV, PEATC y PES en la EHM, evidenciando una limitada sensibilidad para los PES al encontrar retardos en las latencias corticales tempranas (N19 y P23) sólo en el 5% de los pacientes.

Los potenciales evocados convencionales dependen en gran medida de las propiedades físicas del estímulo, de aquí las discrepancias respecto a la sensibilidad en el diagnóstico de la EHM registradas entre los diferentes estudios. Por contrario, los potenciales endógenos relacionados con eventos son dependientes del significado que un determinado estímulo tiene para el paciente, dentro de un contexto experimental prefijado, más que de las características físicas de dicho estímulo. Son, por tanto, reflejo del mecanismo de procesamiento endógeno de un estímulo.

2.2.4 Potenciales evocados endógenos:

El más estudiado es la onda P300 que puede ser generada por cualquiera de las modalidades de estímulos habitualmente utilizados (auditivos, visuales o somatosensitivos). Dicha onda refleja la discriminación selectiva de un estímulo y su evaluación, pudiendo estar provocada por la no aparición de dicho estímulo (estímulo esperado) o por la llegada de un estímulo de la misma modalidad pero de distinta cualidad que el esperado o frecuente (estímulo inesperado o infrecuente). Toda onda P300 tardía va precedida de potenciales evocados precoces o exógenos, informándonos a la vez de la integridad en la conducción subcortical y cortical de dicho estímulo. La atención es un factor muy importante en estas respuestas, precisando que el paciente mantenga un buen nivel de conciencia para su realización, por lo que limita su uso en EH de grado avanzado. La influencia de la atención es más marcada en los componentes tardíos de la respuesta, desde 200 a 450 ms. Particularmente se refleja sobre P300 cuando se le pide al paciente que realice una tarea relacionada con el estímulo(por ejemplo, pulsar un botón cuando escucha el estímulo infrecuente). Hasta 250 ms se muestra la cantidad de información recibida y P300 refleja la atención prestada a esa información.

Una respuesta típica tardía muestra los siguientes componentes:

P1 ó P50: primera pequeña onda positiva con latencia entre 50 y 75 ms.

N1 ó N100: primera onda negativa con latencia entre 100 y 150 ms.

P2 ó P200: segunda onda grande positiva con latencia entre 150 y 200 ms.

N2 ó N250: pequeña inflexión negativa con latencia entre 200 y 250 ms.

P3 ó P300: pequeña inflexión positiva con latencia de 300 ms o algo más.

CNV: cambio lento de polaridad conocido como contingente de variación negativa con latencia entre 300 y 750 ms.

Como ya hemos comentado, la detección voluntaria de un estímulo infrecuente en una serie de estímulos frecuentes, que puede ser la ausencia de dicho estímulo frecuente o rítmico, genera una onda positiva de gran amplitud o P300. Atendiendo a sus características, la amplitud será mayor cuanto más difícil sea discriminar entre ambos estímulos y cuanto más aleatorio e infrecuente sea el estímulo raro. Los mayores voltajes se logran colocando los electrodos en regiones medias posteriores (Cz y Pz). La latencia varía con la edad, disminuyendo desde la infancia hasta los 20 años y aumentando progresivamente hasta la vejez. Existe una variabilidad inter e intraindividual muy acusada dependiendo del grado de atención o motivación por la tarea discriminativa. Se discute sobre su origen situándolo en el hipocampo⁴⁵ o en regiones límbicas, aunque se piensa que es la suma de varios generadores, algunos de ellos localizados en el sistema límbico y en corteza parietal asociativa.

Las alteraciones de la onda P300 no son específicas de la EH. Goodin y Aminoff⁴⁶ comunicaron en 1986 los cambios registrados en demencias subcorticales, donde se evidenciaba un aumento de la latencia de la onda P300, de los componentes precoces y de la onda N1, a diferencia de lo que se registra en la demencia cortical tipo Alzheimer donde sólo se enlentece la onda P300. En pacientes esquizofrénicos se han detectado caídas de la amplitud y, en menor grado, latencias alargadas. También se registran alteraciones en la enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, niños hiperactivos, insuficiencia renal crónica y en intoxicaciones experimentales con etanol.

Weissenborn y col.³⁶ fueron los primeros en examinar pacientes con cirrosis no alcohólica mediante registro de P300. Estos investigadores encontraron una latencia alargada de P300 en el 30% de los pacientes con EHM, definida ésta por anormalidades en los test psicométricos. Trabajos posteriores, como el realizado por Hollerbach⁴⁷ en 1.997, muestran un mayor porcentaje de pacientes con ondas alargadas (hasta el 40% de

los pacientes cirróticos sin EH y el 85% de los que tienen EHM) que puede ser atribuido a la inclusión de pacientes con cirrosis enólica. Por tanto, puede sumarse un efecto adicional del alcoholismo crónico en el retardo de latencias P300, que precisa de confirmación en estudios más amplios.

Davies y col⁴⁸ encontraron aumento de latencias sólo en los estadios I y II de EH, sin cambios significativos en los pacientes con EHM, por lo tanto podría ser útil en el diagnóstico de estadios iniciales de EH leve pero no EHM.

Aunque se ha comunicado que los P300 visuales son más sensibles que los auditivos, ya que detecta alteraciones en el 78% de los cirróticos sin EH⁴⁹, este estudio presenta un problema metodológico, ya que utiliza la media más 2 desviaciones estándar como dintel de normalidad, a pesar de que se recomienda usar 2,5 o 3 DS sobre la media según la Sociedad Americana de Neurofisiología.

Las desventajas de las pruebas electrofisiológicas comparado con los TP es la necesidad de un equipo sofisticado, personal cualificado, lo que implica un mayor coste y dificultad para su realización. Por tanto, el estudio neurofisiológico es complementario al estudio neuropsicológico y no deben compararse sus resultados, sino analizar de forma complementaria, ya que exploran funciones y áreas cerebrales diferentes. Por ello, los pacientes con alteración de algún TP deben ser diagnosticados de EHM, mientras que los que presenten resultados normales deben estudiarse mediante estudios de potenciales evocados somatosensoriales, auditivos o P300.

3.-Resonancia magnética cerebral

En los últimos años la calidad de las exploraciones de neuroimagen se ha incrementado, y en la actualidad, disponemos de exploraciones capaces de realizar un estudio rápido y no invasivo del sistema nervioso central, capaz de determinar alteraciones estructurales, fisiológicas y bioquímicas. Diversas exploraciones de neuroimagen pueden ser de utilidad en el estudio de la EH.

La RM cerebral ha detectado una anomalía característica en pacientes con cirrosis hepática sin evidencia clínica de EH, se trata de una señal hiperintensa bilateral y simétrica a nivel de los ganglios basales en las imágenes potenciadas en T1, oscilando su prevalencia entre el 52 –100% (figura 3). Se ha llegado a considerar que el aumento de la intensidad en los ganglios basales en pacientes con cirrosis hepática, podría ser un marcador morfológico de la EH y que su detección en ausencia de trastornos neuropsicológicos indicaría la existencia de EHM⁵⁰. Esta anomalía es más frecuente en cirróticos con enfermedad avanzada, probablemente por la relación encontrada con la hipertensión portal / comunicaciones porto sistémicas⁵¹, incluso se ha llegado a considerar las varices esofágicas como variable independiente⁵². Además, existe una clara correlación entre la señal hiperintensa en globos pallidus y el tamaño de las colaterales porto-sistémicas valoradas por angiología⁵³, al encontrar una relación con la presencia y el tamaño de las colaterales⁵⁴ (>10mm).

Sin embargo, la implicación de la función hepática es menos clara, con sólo diferencias sutiles entre pacientes en estadio A y C⁵⁵ de Child-Pugh en algunos estudios aunque no de forma franca en otros trabajos^{56, 57}, hay datos sugerentes a favor de esta relación como es la existencia de HIGP en todos los pacientes con un volumen hepático menor de 1000 cc⁵⁸. Así mismo, la regresión de la lesión tras el trasplante hepático^{59, 60} puede relacionarse tanto con la mejora de la función hepática como con la desaparición

de las comunicaciones porto-sistémicas. Aunque la relación de la señal hiperintensa en los ganglios basales con la función hepática y la existencia de comunicaciones porto-sistémicas es analizado en menos del 50% de los estudios, con resultados conflictivos, ambos factores son probablemente factores determinantes en el desarrollo de esas alteraciones.

Los estudios que intentan relacionar síntomas neurológicos con las alteraciones de la RM, no son concluyentes, normalmente el estado neuropsiquiátrico está pobremente definido, especialmente en los primeros, proporcionando pocos datos respecto al tratamiento; cuyo déficit neurológico puede ser mínimo y enmascarar resultados. Taylor y colaboradores en 1995⁵⁵ encontraron una relación significativa entre los cambios en la señal hiperintensa en T1 y la presencia de encefalopatía, no así con el grado. Se ha correlacionado con síntomas neurológicos como el temblor postural⁵², adiadococinesia y akinesia⁶¹. No encontrándose correlación con los test psicométricos, salvo un estudio que observa relación con el “ tiempo de reacción” y el Purdue pegboard⁵⁰

Parece que existe un consenso respecto a que las alteraciones en fase T1 de la RM pueden ocurrir en pacientes con cirrosis con poca o ninguna alteración cerebral y el grado de hiperintensidad en globus pallidus no se correlaciona con el grado de deterioro neurológico.

señal permanece sin resolver, puede reflejar intoxicación o la existencia de un proceso adaptativo designado a mejorar la eficacia de la detoxificación del amonio por los astrocitos, pues dentro del SNC, este metal es uno de los componentes integrales de enzimas importantes, incluida la glutamina sintetasa, importante en la detoxificación del amonio en la insuficiencia hepática, representando el 80% aproximadamente del Mn cerebral. Se ha demostrado una relación⁶⁸ entre las alteraciones de la RM y los signos parkinsonianos, lo que podría sugerir el efecto patogénico de la lesión a nivel de los ganglios basales y explicaría una parte del espectro de signos y síntomas de la EH. La hiperintensidad de los ganglios basales, puede reflejar probablemente un depósito de Mn, no siendo claro el papel del mismo.

4.-Resonancia magnética espectroscópica (RMs)

La RMs permite detectar la concentración cerebral de metabolitos implicados en la alteración de la neurotransmisión que acontece en la encefalopatía hepática. Se han realizado dos tipos de estudios, según los dos diferentes núcleos emisores de protones empleados, el Fósforo-31 y el Hidrógeno-1.

El espectro ^{31}P -MRS del cerebro humano presenta al menos siete resonancias o picos de captación:

1. - Tres son asignadas a las moléculas de ATP alfa, beta y gamma.
- 2.- Fosfato inorgánico (Pi).
- 3.- Fosfocreatina (PCr).

Estos tres compuestos juegan un importante papel en el metabolismo energético cerebral.

4.- Fosfomonoéster (PME). Este pico incluye la captación de fosforetanolamina y de fosforilcolina, que son metabolitos intermediarios en la síntesis de los fosfolípidos de membrana, así como las moléculas de ADP y los azúcares-fosfatos.

5.- El fosfodiéster (PDE), este pico incluye moléculas de glicerol-fosforil-colina y de glicerol-fosforil-etanol-amina, intermediarios en el ensamblaje de los fosfolípidos de membrana. El pH intracelular se mide de forma indirecta a partir de la concentración de fósforo inorgánico.

Mediante ^{31}P -MRS cerebral se han observado cambios en la resonancia del fósforo inorgánico y la fosfocreatina con descenso de los niveles de ATP, como marcadores del trastorno del metabolismo cerebral subyacente⁶⁹. Otras alteraciones descritas son una reducción en los picos de PME y PDE, posiblemente como reflejo del deterioro en el metabolismo de los fosfolípidos de membrana (barrera hemato-encefálica).

Estos cambios en el espectro se han correlacionado con la presencia de las alteraciones neuropsiquiátricas, no así con el grado⁷⁰.

El espectro típico de ¹H-MRS en el cerebro humano, incluye resonancias asignables a:

1. - N-acetilaspártato, un derivado aminoacídico localizado en la neurona.
2. - Creatina y fosfocreatina, moléculas importantes en la regulación del metabolismo energético cerebral.
3. - Colina, amina cuaternaria que participa en la síntesis e hidrólisis de las membranas.
4. - Glutamato, importante neurotransmisor excitatorio.
5. - Glutamina, aminoácido sintetizado por la aminación del glutamato y muy estrechamente relacionado con el metabolismo cerebral del amoníaco.
6. - Mioinositol, hexol de función incierta, que puede jugar un importante papel en el control de la osmolaridad cerebral.
7. - Lactato, producto del metabolismo anaeróbico de la glucosa.

La señal del amonio no puede ser captada ya que cambia su protón muy rápidamente con el agua.

En la modalidad protónica(RMs-¹H) las alteraciones más frecuentemente detectadas en pacientes con EH, son niveles elevados de glutamina (o cociente glutamina/glutamato(Glx)) y niveles descendidos de mioinositol(mI) y colina (figura 4). Los pocos estudios existentes dan resultados conflictivos no conociéndose el significado fisiopatológico de estas alteraciones, por un lado pueden traducir un disturbio en la osmoregulación celular a nivel cerebral y por otro un trastorno en el metabolismo energético.

La depleción de mioinositol tiene una sensibilidad del 90% en el diagnóstico de EH⁶⁷. Aún no está aclarado si el descenso de mioinositol es causa o consecuencia de la encefalopatía hepática o si se trata de un simple epifenómeno metabólico. Así también, se correlaciona inversamente con los niveles de amonio en sangre⁷¹. Por otro lado, el mioinositol puede ejercer un papel fundamental como osmolito activo e implicarse en el desarrollo de edema cerebral⁷². El mI y la colina se han identificado como sustancias importantes en la regulación de la osmolaridad intracelular de los astrocitos, por lo que su descenso se interpreta como una alteración de la osmoregulación secundario al acúmulo de glutamina, la cual podría ser debido a un aumento de la actividad glutamina sintetasa astrocitaria (que requiere Mn como cofactor) como un mecanismo de detoxificación cerebral del amonio, contrarrestado por una liberación de mI y colina intracelular. Esto se ve apoyado por la correlación encontrada entre el mI y Glx en pacientes cirróticos independientemente de la existencia o no de EH, con un coeficiente de correlación del 60%⁷³, así como el incremento de la glutamina y descenso de mI encontrado en pacientes con cirrosis hepática tras la inducción de hiperamoniemia mediante la administración de una solución oral de aminoácidos⁷⁴. El pico de resonancia elevada del cociente Glx/Cr (hasta cuatro veces mayor en los pacientes que en controles) era esperado, ya que la síntesis de glutamina es la única vía metabólica de eliminación del amonio cerebral. Además, se habían encontrado niveles de glutamina elevados en la corteza cerebral de pacientes con cirrosis hepática que fallecían en coma hepático y en líquido cefalorraquídeo de pacientes con encefalopatía hepática.

La utilidad de la RMs en el diagnóstico de la EHM ha sido cuestionada por algunos autores, debido a que estas alteraciones se han detectado en pacientes con cirrosis hepática sin EHM, y a pesar de que demuestra una alta sensibilidad tiene una baja especificidad. Por otro lado, a raíz de resultados similares, otros autores interpretan

que la RMs permite el diagnóstico precoz de EHM con mayor sensibilidad y especificidad que los TP(>90%), ya que pone de manifiesto alteraciones metabólicas antes de que aparezcan alteraciones en los TP⁷⁵.

Existen una clara correlación entre las alteraciones de la RMs y los TP, con una concordancia del 94%⁷⁶, en concreto aquellos que valoran la región frontal y la esfera motora. Además, se considera que la detección del cociente mI/Cr es muy sensible para detectar EHM y puede ser coste-efectiva alternativa a la batería de TP para valorar el grado de la EH⁷⁷. Se han valorado las modificaciones en la RMs que inducen ciertos tratamientos, como la lactulosa, empleados en la EH, lo que apoyaría el uso de la RMs como una técnica en la investigación farmacológica y pruebas clínicas. Los resultados no son concluyentes, ya que el tratamiento minimiza los síntomas clínicos de la EH pero no restaura las alteraciones detectadas por RMs, especialmente el descenso del cociente mI/Cr⁷⁸.

En los estudios topográficos se han detectado diferencias regionales en la aparición de alteraciones, se han comunicado niveles inferiores de Cho/Cr en el córtex occipital y niveles más altos en ganglios basales, lo que sugiere que la información de más de una región es más útil para valorar la EH⁷⁹ pudiendo explicar los resultados contradictorios. Las regiones más estudiadas son la sustancia blanca o gris parieto occipital.

Tanto las comunicaciones porto-sistémicas como la función hepática actúan como factores fundamentales en el desarrollo de estas alteraciones bioquímicas intracerebrales. La triada consistente en elevación de Glx y descenso de Colina y mI se detecta en pacientes tras la colocación de una derivación porto sistémica percutánea intrahepática⁷⁹, así también, las alteraciones se correlacionan con la función hepática y desaparecen tras el trasplante hepático^{76,77}.

A pesar de las discrepancias parece existir un consenso, donde la presencia de EH clínica y mínima, se acompaña de una reducción en los niveles de Co/Cr y mI/Cr con un incremento intracerebral de glutamina, sin poder distinguir entre ambas, aunque la acumulación de Glx/Cr en pacientes con EH clínica parece ser superior^{80,76}.

Se ha intentado relacionar RMs-H1 y la RM-T1 sin que se haya podido evidenciar un origen patogénico común al ser pocos los estudios y con resultados divergentes. En un inicio la señal hiperintensa no se relacionó con los disturbios metabólicos cerebrales⁸¹, para posteriormente⁸² encontrar una correlación entre los niveles de Glx/mI +Cho, y la hiperintensidad en los ganglios basales.

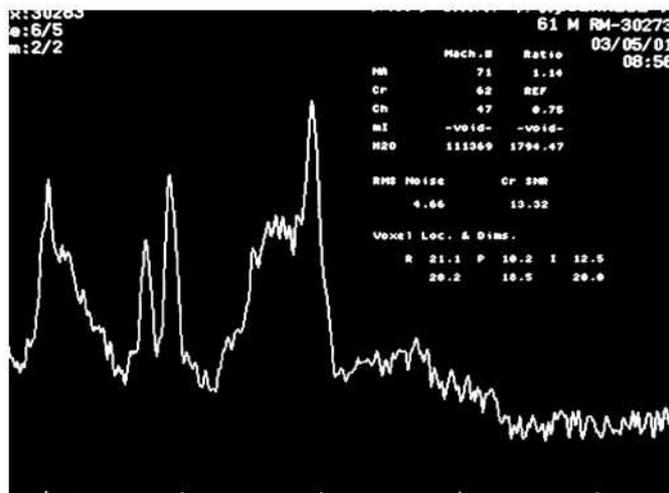
En conclusión, no se conoce el significado fisiopatológico de las alteraciones detectadas por RMs, las dos hipótesis más apoyadas son una alteración de la osmoregulación a nivel cerebral y por otro un trastorno del metabolismo energético. Aunque existen pocos estudios parece existir correlación con los TP, pero existen discrepancias respecto a su relación con las alteraciones detectadas en fase T1 de la RM. Son necesarios futuros estudios utilizando la RMs para obtener información de la función cerebral y bioquímica, con el propósito de conocer la patogenia de la EH y evaluar el efecto de un tratamiento, ya que en el momento actual sólo disponemos de escasos estudios, con tamaños muestrales pequeños y resultados conflictivos, con pequeños grupos control y sin un criterio diagnóstico claro de EHM.

El edema cerebral de bajo grado se ha implicado en la patogenia de la EH, y por tanto de la EHM, edema que no se detecta normalmente por las técnicas de neuroimagen habituales. Mediante aplicaciones de la RM se han detectado otras anomalías que sugieren un aumento del agua cerebral y la existencia de un edema cerebral de bajo grado. El análisis de la tasa de transferencia de magnetización mediante RM (MTR) es una técnica más sensible a cambios en el contenido de agua en el tejido

cerebral a nivel de la sustancia blanca. En pacientes con cirrosis hepática se ha descrito un descenso de la señal, no detectada por la RM convencional, señal que se ha relacionado con el incremento de glutamina/glutamato en la RMs y con la existencia de alteraciones neuropsicológicas (EHM)⁷⁴. También se ha observado la existencia de una señal hiperintensa bilateral en la sustancia blanca de los hemisferios y tractos corticoespinales, en las imágenes potenciadas en T2 de la RM pero mediante una técnica más sensible, denominada “Fast FLAIR” que se relaciona con la MTR⁸³. Todas estas alteraciones son compatibles con el desarrollo de edema de bajo grado cerebral, al observar una normalización de ellas tras el transplante hepático⁸⁴.

En resumen, la EH condiciona una baja supervivencia al paciente cirrótico, una vez que aparecen los signos y síntomas típicos el diagnóstico no suele plantear problemas. Por ello, todos los esfuerzos deben ir encaminados a intentar un diagnóstico en fases iniciales que permita la instauración de un tratamiento que modifique la historia natural de esta complicación. En el momento actual sabemos que la EHM es la primera manifestación clínica en el espectro de la EH. Para su diagnóstico contamos con una batería de TP estandarizados que se pueden aplicar en 15 minutos, los test neurofisiológicos que deberían ser utilizados cuando estén disponibles, con un papel complementario y las técnicas de imagen que a pesar de su gran potencial en la investigación el coste de los estudios limita su aplicabilidad clínica.

Figura 4. Resonancia magnética espectroscópica del globo pálido. El espectro de los pacientes con EHM muestra una disminución de mioinositol y colina y un incremento de glutamina.



5.-Función hepática

Con el trasplante hepático y la existencia de fármacos eficaces para el tratamiento de varias enfermedades del hígado, es fundamental utilizar criterios que permitan determinar el pronóstico en un paciente, de la forma más correcta.

El desarrollo de una descompensación de la enfermedad hepática y la clasificación de Child modificada por Pugh⁸⁵ son los parámetros más ampliamente aceptados para evaluar el pronóstico en pacientes con cirrosis hepática. Una vez que sucede el primer episodio de descompensación, la supervivencia a los 5 años es inferior al 40%⁸⁶. En el otro extremo, puede ser tan alta como del 90% en la cirrosis en ausencia de ascitis, ictericia y hemorragia digestiva.

La facilidad, disponibilidad, bajo coste y poder predictivo han hecho de la puntuación de Child-Pugh un método muy útil no sólo como predictor de la supervivencia sino también como un índice fiable de ocurrencia de complicaciones.

Esta clasificación está basada en la combinación de variables clínicas (encefalopatía y ascitis) y de laboratorio (albúmina, bilirrubina y tiempo de protombina), subjetivas y semicuantitativas. En cada paciente se han de estudiar los cinco parámetros, dando la puntuación correspondiente que oscilará entre 5 y 15 puntos. Según los puntos obtenidos se clasifican en tres estadios distintos: (tabla de Child)

Estadio A: 5-6 puntos.

Estadio B: 7-9 puntos.

Estadio C: 10-15 puntos.

La utilización del Child-Pugh como índice pronóstico de la enfermedad para determinar la prioridad de asignación de un órgano para trasplante hepático, ofrece una serie de limitaciones:

a) Capacidad limitada de discriminar e igual peso de todos los parámetros: Un paciente con albúmina de 3.5 gr/dl puede obtener la misma puntuación que un paciente con encefalopatía hepática espontánea y tener un pronóstico diferente.

b) Inclusión de parámetros subjetivos en su cálculo: la ascitis y la encefalopatía hepática son difíciles de estandarizar.

c) Existencia de variaciones en los valores de laboratorio, principalmente albúmina y tiempo de protombina.

d) Los límites superiores de las variables objetivas se encuentran decapitadas, de tal forma que un valor de bilirrubina de 3mgr/dl es equivalente a uno de 23, es lo denominado “efecto cielo”.

Recientemente se ha publicado la validación de un nuevo Modelo para la enfermedad hepática en estadio terminal (MELD)⁸⁷, como índice pronóstico de mortalidad en pacientes incluidos en lista de espera de transplante hepático. Este modelo fue inicialmente desarrollado para valorar la supervivencia a corto tiempo en paciente sometidos a una derivación porto-sistémica intrahepática transyugular (TIPS). El modelo clasifica a los pacientes en base a los niveles de bilirrubina, creatinina sérica, INR (Razón internacional normalizada) y etiología de la cirrosis, variables seleccionadas mediante un análisis de regresión de Cox, mediante la fórmula:

$$3.8 * \log_e (\text{bilirrubina mgr/dl}) + 11.2 * \log_e (\text{INR}) + 9.6 * \log_e (\text{creatinina mgr/dl}) + 6.4 * (\text{etiología: } 0 \text{ colestasis o alcohol, } 1: \text{ otras})$$

Los mismos autores, en un estudio retrospectivo, validaron el modelo para predecir la mortalidad en pacientes con enfermedad hepática avanzada, comprobando que la etiología y las complicaciones derivadas de la hipertensión portal no influyen en la capacidad predictora del MELD.

El MELD es similar a la clasificación de Child-Pugh en la capacidad de predicción de la mortalidad a los 3 meses (0.85 vs. 0,84, respectivamente), independientemente de la etiología de la cirrosis y de la existencia de complicaciones, aunque la mortalidad varía mucho entre los pacientes incluidos en los estudios de Kamath et⁸⁸, Malinchoc⁸⁸ et al, al y Wiesner et al⁸⁹: 21, 30 y 12% respectivamente. Las ventajas que aporta:

a)Utilización de una escala continua, sin un límite superior, teniendo en cuenta la importancia de cada una de las variables utilizadas al ser un modelo estadístico.

b)Basado en parámetros objetivos y no dependientes del laboratorio.

Entre las limitaciones, no se ha validado en estadio iniciales de la cirrosis y aunque el modelo ha demostrado no influenciarse por la edad, sexo y masa corporal, la utilización de otros parámetros más directos de la función renal, podría mejorar la capacidad de predicción del mismo, existe preocupación en relación a los cambios en la concentración de creatina, especialmente entre pacientes que toman diuréticos y tienen ascitis.

En conclusión el MELD sería un modelo de medida del riesgo de mortalidad a corto plazo, en pacientes con cirrosis hepática avanzada.

6.-Hipertensión portal

Las dos alteraciones principales subyacentes a la aparición de la EH son por un lado la insuficiencia hepática, y por el otro las derivaciones porto- sistémicas, en donde la apertura de vasos colaterales es consecuencia de la hipertensión portal (HTP).

La HTP es un síndrome clínico caracterizado por un incremento de la presión hidrostática en el sistema portal, lo que se traduce en un gradiente portal elevado, consistente en la diferencia de presión entre la vena porta y el sistema venoso (vena hepática o vena cava inferior), que en condiciones normales es entre 2-6 mm Hg. Este síndrome es importante porque es responsable directa o indirectamente de las principales complicaciones clínicas de la cirrosis hepática, como son la hemorragia digestiva por varices esofágicas, la gastropatía de la hipertensión portal, ascitis, PBE, síndrome hepatorenal y hepatopulmonar, circulación hiperdinámica y la encefalopatía hepática.

En la evaluación del paciente con hipertensión portal, la endoscopia digestiva alta es el método princeps y más difundido en la evaluación de la circulación colateral y, dada la alta incidencia de hemorragia por varices y la eficacia de los tratamientos preventivos de la misma, es de realización obligatoria en todos los pacientes en los que se sospeche hepatopatía crónicas y/o HTP. Sin embargo, la prevalencia de la misma en la cirrosis quedaría subestimada si su reconocimiento se basara sólo en la presencia de varices gastro-esofágicas.

Otra técnica invasiva consiste en la medición de la presión portal, que es el procedimiento clave. El método más sencillo, y bien tolerado de medición repetida de la HTP es el cateterismo de venas suprahepáticas. Consiste en la determinación del gradiente entre la presión suprahepática libre (PSHL) y la presión suprahepática enclavada (PSHE, equivalente a la presión portal), mediante la introducción de un

catéter por vía femoral o yugular hasta la vena suprahepática donde se enclava de forma manual o con balón en el extremo del catéter (catéter-balón). El principal inconveniente de la técnica radica en el hecho de que la PSHE es en realidad la presión de los sinusoides hepáticos más que la presión portal en sí. El uso rutinario de esta técnica es difícil por ser invasiva y de naturaleza compleja.

Existen técnicas no invasivas, como la ultrasonografía- Doppler, presenta una alta rentabilidad y aplicabilidad. Proporciona datos hemodinámicos de la circulación portal, así como datos sugestivos de HTP (esplenomegalia, aumento del diámetro portal, presencia de colaterales porto sistémicas, repermeabilización de la vena umbilical y presencia de ascitis). Diversos autores han constatado una disminución de la velocidad del flujo portal en los pacientes cirróticos con respecto a los sujetos normales⁹⁰, así como un incremento del índice de resistencia en la arteria hepática⁹¹. No existe una cifra de la velocidad media portal que permita definir por debajo de que rango se puede establecer un diagnóstico de HTP (9.7-15 cm/s)⁹². Las diferencias entre los diversos autores, pueden justificarse por la metodología empleada, la ausencia de homogeneidad de los pacientes estudiados o el tipo de equipo ultrasonográfico utilizado. Así mismo, la ultrasonografía no sólo podría tener un papel diagnóstico de la HTP sino también pronóstico. Algunos signos ecográficos de HTP (diámetro de vena porta >13mm y diámetro longitudinal del bazo >145 mm) se han identificado como factores de riesgo independientes para predecir la mortalidad en pacientes en estadio A de Child-Pugh, con un riesgo relativo de 6.02⁹³.

La estimación de los ácidos biliares totales se ha utilizado como medida indirecta de HTP. La cirrosis hepática se asocia a elevación de ácidos biliares a pesar de un decremento de la síntesis hepática. Los dos principales ácidos biliares, el cólico y quenodesoxicólico, se producen en el hígado, se conjugan con glicina o taurina y se

excretan por la bilis. Se reabsorben en íleon terminal pero una pequeña cantidad escapa al colon en donde se convierte el ácido cólico en desoxicólico y el quenodesoxicólico en litocólico. Estos ácidos biliares secundarios se absorben a partir del colon y llegan al hígado a través de la vena porta. Con todo ello se completa la circulación entero-hepática de los ácidos biliares. La medición más simple de los ácidos biliares es la determinación de su concentración total, ya sea en ayunas o postpandrial.

La existencia de comunicaciones porto-sistémicas se ha relacionado con la concentración de los ácidos biliares totales en sangre periférica ($r= 0.79$; $p<0.001$)⁹⁴, así como la colocación de una anastomosis portocava se asocia a un aumento de los niveles de ácidos biliares⁹⁵; lo que sugiere un importante papel de las mismas en la elevación de los ácidos biliares en pacientes con cirrosis hepática. Las comunicaciones determinarían una reducción y distorsión del flujo hepático, lo que va en línea con la observación de que un test de función hepática, ICG-K (dependiente del flujo) muestra una correlación con el grado de comunicaciones portosistémicas.

Por lo tanto, la alteración funcional del hígado y/o existencia de comunicaciones porto-sistémicas, disminuye la extracción de los ácidos biliares de la sangre portal, lo que aumenta los niveles de éstos en plasma, especialmente después de las comidas. Se ha demostrado una buena correlación entre los niveles de ácidos biliares postpandrial y signos ecográficos de HTP así como con la función hepática, valorada mediante la clasificación de Child-Pugh⁹⁶.

7.-Fisiopatología de la encefalopatía hepática.

7.1.- Papel del metabolismo del amonio.

En la patogenia de la encefalopatía hepática se han involucrado una serie de sustancias que podrían actuar solas o de forma sinérgica causando disfunción cerebral y alteraciones estructurales o metabólicas que modifican la función neurotransmisora. El amonio es la toxina mejor caracterizada e implicada en la patogenia de la encefalopatía hepática⁹⁷. Hace más de 50 años se comprobó como la administración de sales amónicas a pacientes con cirrosis hepática producía alteraciones neurológicas.

El amonio alcanza en grandes concentraciones la barrera hematoencefálica y produce daño cerebral por diferentes mecanismos: 1. - Interfiere el metabolismo energético cerebral. El amonio cerebral estimula la glucólisis, inhibe el ciclo de los ácidos tricarbónicos y la ruta malato-aspartato. El ácido alfa-cetoglutarico es metabolizado hacia ácido glutámico y por acción de la glutamina sintetasa incorpora una molécula de amonio, se produce glutamina y queda interrumpido el ciclo aeróbico. Esto se ve avalado por las altas concentraciones de lactato descritas en LCR de pacientes con encefalopatía hepática⁹⁸. 2. - Altera el transporte de aminoácidos a través de la barrera hematoencefálica. El amonio intracerebral es detoxificado sintetizando glutamina a partir de glutamato. La concentración de glutamina aumenta en el líquido cefalorraquídeo. Un mecanismo de eliminación de la glutamina intracerebral es su intercambio activo con aminoácidos neutros (leucina, isoleucina, valina, tirosina, fenilalanina y triptófano) a través de la barrera hematoencefálica, lo que conlleva un aumento de aminoácidos neutros intracerebrales, así como un aumento del transporte de triptófano hacia el cerebro⁹⁹. El glutamato es un aminoácido con una actividad neuroexcitadora muy potente que sólo es metabólicamente activo cuando se encuentra dentro de las neuronas. En las células gliales o astrocitos, se

utiliza para la síntesis de glutamina y por tanto para la detoxificación del amonio; la hiperamoniemia conlleva una depleción del glutamato metabólicamente activo o neuronal¹⁰⁰. 3. - El amonio puede por se modificar la neurotransmisión inhibiendo la formación del potencial de acción excitador y del potencial postsináptico inhibitor¹⁰¹. 4. - El amonio estimula la captación de L-arginina, el aminoácido precursor de la síntesis de óxido nítrico .5. - El amonio en exceso contribuye a la alteración del estado redox intracelular. El glutathione es uno de los más importantes antioxidantes intracelulares, sintetizado a partir de aminoácidos glutamina/glutamato. El cerebro es especialmente susceptible al daño oxidativo y glutathione es el principal protector contra los efectos perjudiciales de los radicales libres. Si ambos aminoácidos se encuentran alterados en la hiperamoniemia, no favorecen la síntesis de éste antioxidante, con las implicaciones patológicas que ello conllevaría¹⁰².

La teoría de la neurotoxicidad del amonio tiene diferentes elementos a favor:

- a) El 90% de los pacientes con encefalopatía hepática presentan niveles altos de amonio en sangre.
- b) La hiperamoniemia origina disfunción cerebral tanto en animales de experimentación como en personas con alteraciones del ciclo de la urea.
- c) En líquido cefalorraquídeo se encuentran cifras altas de glutamina, ruta de detoxificación cerebral del amonio. Los niveles de glutamina en líquido cefalorraquídeo se correlaciona con el grado de encefalopatía.
- d) Situaciones que aumentan la producción de amonio intestinal (dieta rica en carnes, hemorragia digestiva, estreñimiento, etc.) son factores desencadenantes de la encefalopatía hepática.

e) Los tratamientos encaminados a descender los niveles de amonio en sangre son efectivos en el tratamiento de la encefalopatía hepática. Sustancias inhibitoras de la actividad ureasa como el ácido nicotínico-hidroxámico, también mejoran los síntomas de la encefalopatía, bloqueando únicamente la producción de amonio.

Y en contra:

a) El 10% de los pacientes con encefalopatía hepática no muestran niveles elevados de amonio en sangre, así como muchos pacientes que presentan niveles altos de amonio en sangre no tienen datos de encefalopatía hepática.

b) Los niveles de amonio no se correlacionan con el grado de encefalopatía. En animales de experimentación, las dosis requeridas para producir encefalopatía son muy superiores a las determinaciones encontradas en pacientes con hepatopatía y encefalopatía hepática.

Los estudios del papel del amonio en la encefalopatía hepática mínima son escasos y la mayoría de ellos únicamente determinan si existe o no correlación lineal de Pearson entre los niveles de amoniemia venosa en ayunas y los resultados obtenidos mediante los diferentes métodos psicométricos o técnicas neurofisiológicas en el diagnóstico de la EHM.

La relación entre los niveles de amonio y el test de conexión numérica es diferente según diversos estudios. Zeegen¹⁶ en su estudio inicial en pacientes con cirrosis hepática sometidos a derivación portosistémica, no encontró relación entre los niveles de amonio y el tiempo empleado en la ejecución del trailmaking test tipo A. En cambio Rikkers²³, estudió el estado del metabolismo nitrogenado en pacientes con cirrosis hepática sometidos a derivación portosistémica y estudiados para detectar EHM. Se realizó una batería de test psicométricos y se determinó la amoniemia, la capacidad máxima de síntesis de urea y un test de tolerancia al amonio, detectando relación entre el test de Williams, el

TMT B y el tiempo de reacción a la luz y al sonido con los niveles de amonio en plasma. La capacidad máxima de síntesis de urea se relacionó con otros cinco test (Test cancelling A, la clave de números, y el tiempo de reacción a la luz y al sonido). El test de tolerancia al amonio no se relacionó con ninguno de los test psicométricos utilizados en el diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima. Estas discrepancias podrían explicarse porque el amonio existe en dos formas, por un lado la forma iónica y la forma gaseosa, siendo su proporción dependiente del pH, de ahí que el pH plasmático influye en la capacidad neurotóxica del amonio, y concentraciones similares de amonio plasmático pueden jugar un papel diferente en el desarrollo de EH en situación de alcalosis o no.

7.2-Prueba de la sobrecarga oral de glutamina

Aunque el amonio es una de las principales neurotoxinas implicadas en la patogénesis de la EH, la determinación de la amoniemia venosa muestra una baja utilidad diagnóstica debido a la existencia de factores que alteran su medición ya que debe realizarse una correcta extracción, el transporte debe ser rápido y en un medio apropiado y la determinación debe hacerse inmediatamente. Siguiendo estas normas, el valor diagnóstico de la hiperamoniemia aumenta claramente. Por otro lado, el pH plasmático influye en la capacidad neurotóxica del amonio y concentraciones similares de amonio plasmático pueden jugar un papel diferente en el desarrollo de EH en situación de alcalosis o no. Recientemente se ha demostrado que la presión parcial de amonio¹⁰³(concentración de amonio según el pH plasmático) se correlaciona estrechamente con la encefalopatía hepática pero no parece jugar ningún papel diagnóstico o pronóstico en la EHM¹⁰⁴.

Así mismo, la correlación entre el amonio plasmático y función neurocognitiva no está claramente establecida. A pesar de que la EHM es la primera manifestación dentro del espectro de EH, la prevalencia de alteraciones detectadas en

los TP es muy superior al número de episodios de EH clínica a corto plazo, de forma que si bien los pacientes sin datos de EHM no sufren EH en el seguimiento, son muchos los pacientes que a pesar de tener pruebas alteradas, no desarrollaran EH. Se requeriría el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos que permitan conocer el riesgo de EH en cada paciente.

Por ello se ha desarrollado una prueba de provocación con glutamina oral para valorar el estado del metabolismo del amonio y como prueba diagnóstica. La sobrecarga oral de glutamina¹⁰⁵ (SOG) provoca una hiperamoniemia evidente a los 60 minutos de ingerir 10 g de glutamina en pacientes cirróticos. La hiperamoniemia tras la SOG no tiene lugar en controles sanos ni en cirróticos trasplantados, además, se hace más patente cuando se administra la glutamina por vía oral que cuando se administra por vía parenteral¹⁰⁶, y por último, esta respuesta puede ser bloqueada por la administración de lactitol o L-ornitina-L-aspartato¹⁰⁷. Aunque esta prueba es “antifisiológica”, se ha mostrado segura, sin que ningún paciente haya desarrollado signos de EH, alteraciones de los test psicométricos, a pesar de la elevación de la amoniemia¹⁰⁸. Por ello, podría ser empleada en el estudio del metabolismo del amonio.

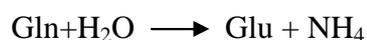
El mecanismo por el cuál se eleva el amonio no es conocido, aunque se han implicado, por un lado un aumento de la actividad glutaminasa del enterocito, provocando la síntesis de mayores concentraciones de amonio en territorio portal; junto a una menor capacidad de detoxificación del amonio en el hígado debido a la reducción de la actividad del ciclo de la urea por la disfunción hepática y a la existencia de comunicaciones porto-sistémicas que evitan el paso del amonio por el hígado. Todo ello podría indicar una actividad glutaminasa diferente en pacientes con cirrosis hepática frente a pacientes con función hepática conservada. En un modelo experimental con ratas sometidas a shunt porto cava, presentan una mayor concentración de amonio desde

la glutamina junto a un 57% más de actividad glutaminasa, respecto a un grupo control¹⁰⁹. Por lo tanto la actividad glutaminasa del enterocito puede ser crucial para la estabilidad del metabolismo nitrogenado en pacientes con cirrosis hepática, ya que provocaría un aumento de la producción del mismo que tendría que detoxificar el hígado cirrótico, cuya capacidad está francamente reducida. Esta hipótesis explicaría el motivo por el que persisten la hiperamonemia y los signos de EH una vez eliminada la causa desencadenante del episodio.

El 50% del amonio alcanza el hígado a través del sistema portal desde el intestino delgado, donde el amonio es producido como resultado de la degradación de glutamina. El amonio es formado en la luz intestinal por dos vías: a partir de la urea obtenida por la degradación bacteriana de aminas, aminoácidos y purinas; y por la desaminación de la glutamina por la glutaminasa del enterocito. El amonio formado es detoxificado mediante el ciclo de la urea y el que escapa a las células periportales es utilizado para la síntesis de glutamina. En el hígado las enzimas del ciclo de la urea y la actividad glutaminasa se localizan a nivel periportal y las glutamin sintetasa, que es escasa (sólo en el 5-7% de los hepatocitos) a nivel pericentral¹¹⁰.

La síntesis e hidrólisis de la glutamina, fue descrita por primera vez por Krebs en 1935. Depende de dos enzimas la glutamina sintetasa y la glutaminasa. La glutamina es la principal fuente de energía de la mucosa intestinal, es sustrato para la síntesis de nucleótidos de purina y pirimidina y es esencial para mantener la integridad, estructura y función de la mucosa..

Bajo la denominación de L-glutaminasa se engloba una serie de proteínas que catalizan la siguiente reacción



Existen fundamentalmente los siguientes tipos:

1. Glutaminasas fosfato-dependientes (PAG), que requieren la presencia de fosfato para desarrollar su actividad catalítica. Cuya localización tisular es preferentemente en hígado, riñón, intestino y cerebro. La PAG presentan in vitro un pH óptimo alcalino entre 7.7 y 9, según la fuente natural de obtención. Su localización celular es en la mitocondria, en dos formas, una forma soluble en la matriz con actividad específica baja y otra en la cara externa de la membrana interna con alta actividad específica.

2. Glutaminasa independiente del fosfato. Su localización tisular es en hígado y riñón, y celular en citoplasma, es decir extramitocondrial. Es estimulada por malato. Su actividad representa tan sólo un pequeño porcentaje de la actividad glutaminasa total de dichos tejidos.

Dentro de la PAG, se describen a su vez, dos isoformas de glutaminasa, la glutaminasa hepática(sólo en el hígado) y la renal o extrahepática(ampliamente distribuida a nivel extrahepático). Las diferencias radican en cuanto a sus requerimientos de activador, a sus características cinéticas y a sus propiedades reguladoras.

a) La PAG hepática (forma L):

- Localización tisular: exclusivamente hepática.
- Km para el fosfato= 20-30mM.
- Presente en su forma activa como dímero (PM=333.000daltons).
- Inhibida por glutamato y reactivos bloqueantes de grupos sulfidrilos.
- Activada por fosfato, borato, acetil CoA, a algunos acil-CoA. In vivo se estimula en situación de acidosis metabólica.

b) PAG extrahepática o renal (forma K)

- Localización tisular: ampliamente distribuida por los tejidos.
- Km fosfato =5mM.
- Estructura: Heterotetrámero compuesto de 3 péptidos de 66-Kda y uno de 68 Kda (PM=266.000daltons).
- Inhibida por acidosis.
- Activada por fosfato y NH₄.
- Su actividad se estimula por glucagón y todas las situaciones que conlleven elevados niveles de glucagón tales como diabetes mellitus, epinefrina y en situación de alcalosis metabólica.

En humanos, la actividad glutaminasa se localiza a nivel hígado, cerebro, riñón y tracto gastrointestinal. Encontrándose el 84% de la actividad del tracto gastrointestinal en el intestino delgado proximal¹¹¹, concretamente en la unión de las criptas con las vellosidades. Respecto a la actividad glutaminasa en otros órganos, existen estudios que han observado una mayor actividad glutaminasa a nivel intestinal respecto a otros órganos como el riñón y el cerebro¹¹². Datos apoyados por un estudio reciente sobre el metabolismo aminoácido de pacientes con cirrosis hepática sometidos a comunicaciones intrahepáticas por vía transyugular, los autores demuestran una mayor producción de amonio en el drenaje portal de vísceras respecto al riñón (555±87 vs. 92±28 nmol/Kg de peso/min; p< 0.001), relacionándose con la captación de glutamina (r =-0.809; p<0.001), cuya mayor fracción de extracción se observa a nivel de la vena mesentérica superior, principalmente del intestino delgado, respecto a la vena mesentérica inferior, estos resultados apoyarían el papel del intestino delgado, concretamente la glutaminasa del enterocito en el metabolismo nitrogenado¹¹³.

Sin embargo, existe un estudio posterior¹¹⁴, donde observan un aumento en la producción renal de amonio y su liberación al torrente circulatorio en pacientes con hemorragia digestiva alta por varices esófago-gástrica. Así también, se ha demostrado que la reposición de volumen en pacientes cirróticos con EH secundaria a hemorragia digestiva alta por varices o por diuréticos, se acompaña de una mayor excreción de amonio junto a un descenso de la amoniemia plasmática, lo que avalaría ésta vía de eliminación de amonio¹¹⁵.

La producción intestinal y renal de amonio a partir de la glutamina mediante la actividad glutaminasa mitocondrial dependiente del fosfato, deberían ser las principales dianas terapéuticas para evitar la aparición de hiperamoniemia. El origen de la hiperamoniemia sería diferente según el factor desencadenante de la EH. En casos de hemorragia digestiva alta por varices y diuréticos la amoniogénesis renal sería producción más importante, mientras que en pacientes con comunicaciones portosistémicas espontáneas, ingesta proteica excesiva o estreñimiento sería la intestinal.

La glutaminasa puede ser rápidamente activada por un número de hormonas, en particular el glucagón, catecolaminas, vasopresina y angiotensina II. Así como, determinadas situaciones como el ayuno, sepsis, hipotiroidismo y glucocorticoides la disminuyen; la lactancia, nutriciones enterales o parenterales enriquecidas con glutamina o aminoácidos ramificados la estimulan cuando existe un estado catabólico¹¹⁶.

En pacientes con cirrosis hepática e hipertensión portal, existe un incremento del flujo portal, causado por una pronunciada vasodilatación de todo el territorio esplénico. El incremento del flujo determina una mayor elevación de la presión portal causada primariamente por la elevada resistencia. La patogenia de esta vasodilatación es

multifactorial, el más importante factor implicado es al glucagón y factores endoteliales como el NO, CO y PGI₂. Al igual que el glucagón, el cual está descrito como un factor que incrementa la actividad glutaminasa, el NO podría estar también implicado en la regulación de la misma¹¹⁷.

La glutamina sintetasa es una enzima que cataliza la síntesis de glutamina a partir de glutamato y amonio, para lo cual requiere la energía liberada de la hidrólisis de una molécula de ATP. La reacción requiere la presencia de un ión divalente, Mg²⁺, Mn²⁺ o Co²⁺, aunque el Magnesio es el cofactor metálico fisiológico.

El equilibrio de la reacción global está claramente desplazado hacia la síntesis de glutamina, siendo el valor de la constante de equilibrio de 1.200 a pH 7 y 37°C.

La glutamina sintetasa está compuesta por 8 subunidades de entre 44.000 y 49.000 daltons de peso molecular. El octámero está formado por asociación de dos tetrameros, que presentan disposición cúbica al microscopio electrónico.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

El hecho de que las alteraciones detectadas por RM con y sin espectroscopia se hayan descrito en ausencia de trastornos neuropsicológicos y sean reversibles tras trasplante, podría apoyar su uso como un marcador de enfermedad metabólica cerebral en pacientes con cirrosis hepática, como diagnóstico de EHM.

En la cirrosis hepática parece existir una alteración en el metabolismo del manganeso, que se acumularía especialmente en los núcleos de la base debido muy probablemente a un déficit de la eliminación biliar por la insuficiencia hepatocelular y por la existencia de comunicaciones portosistémicas. El depósito de manganeso en los núcleos de la base podría condicionar toxicidad neuronal y alteración en el sistema dopaminérgico, responsables de los síntomas neurológicos en la EHM; o significar la existencia de un mecanismo adaptativo designado a mejorar la eficacia de la detoxificación del amonio por los astrocitos, a través de un aumento de la actividad glutamin sintetasa, que requiere altos niveles de Mn(cofactor de esta enzima) produciría glutamina, dando lugar una situación hiperosmolar en el interior del astrocito, compensado con la liberación intracelular de mioinositol y colina, lo que unifica las diferentes alteraciones descritas en los pacientes con cirrosis hepática. No obstante estos escalones causales, no están suficientemente aclarados. Terapéuticas dirigidas a movilizar el Mn podrían ser de valor potencial en la prevención y tratamiento de la encefalopatía hepática.

A pesar de que la EHM es la primera manifestación dentro del espectro de EH, la prevalencia de alteraciones detectadas en los TP es muy superior al número de episodios de EH clínica a corto plazo, de forma que si bien los pacientes sin datos de EHM no sufren EH en el seguimiento, son muchos los pacientes que a pesar de tener

pruebas alteradas, no desarrollaran EH. Esto puede deberse a dos factores principalmente, por un lado a que los seguimientos siguen siendo cortos y no podemos predecir si estos pacientes en seguimientos suficientemente largos desarrollarían encefalopatía o no y, por otro lado, podría relacionarse con una falta de especificidad de estas pruebas, lo que requeriría el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos que permitan conocer el riesgo de EH en cada paciente.

La determinación de amonio en sangre venosa antes y después de la administración oral de glutamina probablemente por la glutaminasa del enterocito sobre éste aminoácido, podría utilizarse para el diagnóstico de EHM a partir del cálculo de un dintel de elevación, así como una prueba indirecta de la actividad glutaminasa del enterocito. Por tanto esta prueba podría utilizarse junto a los test psicométricos en el diagnóstico y la valoración de la respuesta al tratamiento.

OBJETIVOS

1. - Objetivo principal:

- Desarrollar una nueva prueba diagnóstica que nos permita, evaluar el riesgo de EH en los pacientes con cirrosis hepática en relación con la EHM, así como conocer el impacto de la misma en la supervivencia de los pacientes con cirrosis hepática.

2.-Objetivos secundarios:

- Valorar el rendimiento diagnóstico de la RM/RMs en la EHM con el test psicométricos, así como conocer el significado fisiopatológico de las alteraciones presentes en ambas mediante su relación con el metabolismo nitrogenado, función hepática, hipertensión portal y manganeso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se consideraron los pacientes diagnosticados de cirrosis hepática seguidos en nuestras consultas externas. De un total de 170 pacientes evaluados, sin datos clínicos de EH ni derivación porto-cava, 13 no realizaron test psicométricos, 10 no se consideraron aptos para realizar los test psicométricos por alteraciones en la agudeza visual, y 22 no se consideraron candidatos por la edad avanzada o por enfermedades extrahepáticas graves. Al final del estudio se incluyen 126 pacientes.

- **Criterios de inclusión:** Pacientes con cirrosis hepática, entre 18- 65 años de edad, valorados y seguidos en la consulta externa de hepatología del Hospital Universitario de Valme, desde Enero de 1998 a Marzo 2003.

El diagnóstico de cirrosis se basa en criterios clínico-ecográficos-endoscópicos o mediante biopsia hepática. Los diagnósticos clínicos son la presencia de estigmas de hepatopatía junto a índices bioquímicos de descompensación de enfermedad hepática (albúmina sérica baja, TP prolongado, plaquetopenia. Los signos endoscópicos o ecográficos de hipertensión portal (HTP) o historia de episodios de descompensación (ascitis, ictericia, HDA por varices esofágicas. Clasificándolos respecto a la etiología y calculando el estadio de Child-Pugh y la puntuación de MELD.

- **Criterios de exclusión:** Presencia de enfermedad sistémica grave (EPOC con P02 <60 mm Hg. o PCO>50 mm Hg.; insuficiencia renal con creatinina >2mg/dl, cardiopatía con NYHA >I), AVC u otra enfermedad neurológica, historia psiquiátrica, abuso de psicotropos en los 3 meses previo al estudio, derivación porto-cava y alcoholismo activo (abstinencia de 3 meses).

Los pacientes seleccionados para el estudio, tras firmar el consentimiento informado, se les realizó anamnesis completa (presencia de EH previa y cirugía

derivativa), incluyendo la valoración del nivel de estudios que dependerá de los años de escolarización (nivel I: menos de ocho años de estudios y nivel II mas de ocho años).

Se investiga el consumo diario de alcohol en gramos y los años de duración de éste.

Posteriormente se les realizó exploración clínica general y neurológica, para ser sometidos a continuación a una batería de test psicométricos, análisis de laboratorio, gastroscopia, ecografía, RM y RMs.

Método:

1.- Evaluación clínica: Todos los pacientes fueron examinados clínica y neurológicamente (tabla 2), con evaluación clínica de EH de acuerdo a el índice de EH porto-sistémica de Conn (tabla 3).

Tabla 2. Evaluación del estado mental.

ESTADO MENTAL		ALTERACIÓN NEUROMUSCULAR
Grado I	Inversión del ritmo del sueño. Bradipsiquia	Incoordinación
Grado II	Desorientación en el tiempo.	Asterixis
Grado III	Desorientación en el espacio.	Hiperreflexia
Grado IV	Coma.	Ausencia de reflejos

Tabla 3.- Índice de encefalopatía portosistémica.

		Puntos
ESTADO MENTAL (x3)	normal	0
	bradipsiquia	1
	desorientación tiempo	2
	desorientación espacio	3
	coma	4
ASTERIXIS	ausente	0
	aislado	1
	irregular	2
	frecuente	3
	continuo	4
EEG	normal	0
	8,5-12	1
	7-8,5	2
	3-7	3
	<3	4
TCN	<30	0
	31-50	1
	51-80	2
	81-120	3
	>120	4
AMONIEMIA	<150	0
	151-200	1
	201-250	2
	251-300	3
	>300	4
TOTAL		

Índice de encefalopatía: 0% - 100%.

1.1.-Test psicométricos: Entre las 8:00-10:00 de la mañana en un día conveniente para el paciente:

- Test de la clave de números (CN): el paciente debe asociar cada dígito a un símbolo, de la manera más rápida posible, obedeciendo a una clave.

- Test del diseño de cubos (DC): consiste en 9 cubos pequeños, con dos caras rojas, dos blancas y dos mitad roja mitad blanca en forma diagonal. El paciente debe crear una serie de 10 diseños geométricos a partir de modelos abstractos.

En ambos test la escala de medición es en puntos, a mayor puntuación mejor realización.

- Test de conexión numérica A (TCN A): Serie de círculos numerados del 1 al 25, distribuidos en una página. El sujeto debe conectar los números lo más rápidamente posible. Se mide en segundo y a menor tiempo mejor realización.

Los tres test psicométricos fueron realizados en los 126 pacientes. El DC y TCN requirieron una transformación logarítmica para establecer la normalización de la distribución.

Criterios diagnósticos de encefalopatía hepática mínima:

Los resultados de los test psicométricos son expresados en valores Z, que expresan la diferencia entre los valores observados con los esperados basado en la edad y el nivel educacional. Valores de $Z > 2.3$ en al menos uno de los test psicométricos, test de conexión numérica, test del diseño de cubos o test de la clave de números, se consideraron patológicos.

Grupo control (para el diagnóstico de EHM): familiares de pacientes ingresados en el Hospital, acompañantes de personas que acuden a consultas externas o centros de salud del área hospitalaria de Valme. Los criterios de exclusión son los mismos que los

pacientes con cirrosis hepática. Se incluyen personas sin antecedentes personales de interés y sin ningún dato de hepatopatía ni otra patología sistémica.

Realizamos 248 test de conexión numérica y de la clave de números y 120 test del diseño de cubos, en personas sanas de ambos sexos, diferentes edades y nivel de instrucción. Los controles se dividieron en cuatro subgrupos en función de la edad ("A" mayor de 50 años y "B" menor de 51 años) y del nivel de estudios (nivel I o II).

Denominamos los siguientes subgrupos:

A1: Edad menor de 51 años y nivel I. N 29

A2: Edad menor de 51 años y nivel II. N 136

B1: Edad mayor de 50 años y nivel I N 55

B2: Edad mayor de 50 años y nivel II N 28

2.- Determinaciones bioquímicas:

Se tomaron muestras de sangre venosa periférica, preferentemente en la vena antecubital, tras la exploración clínica, para estudiar:

- Hemograma y estudio de coagulación.
- Glucemia para descartar Diabetes Mellitus.
- Urea, creatinina, sodio y potasio para valorar la función renal.
- Pruebas de función hepática: AST, ALT, GGT, FA, colinesterasa, bilirrubina total y directa.
- Electroforesis de proteínas séricas para determinar la albúmina y gammaglobulinas.
- Manganeso mediante espectrofotometría de llama de absorción atómica (Perkin-Elmer AAS 4100 2E, Norwalk, CT). Los niveles normales oscilan entre 7.1-10.5 µgr/L.

- Zinc mediante un sistema de espectrofotometría de llama de PERKIN ELMER 1100B- (Perkin-Elmer Corps Analytical Instruments, Norwalk, CT). Los niveles normales oscilan entre 50 y 120 $\mu\text{gr/ml}$.
- Niveles de ácidos biliares en suero mediante un método de cromatografía, como marcador de la existencia de comunicaciones porto-sistémicas. Los niveles normales hasta 8.1 $\mu\text{mol/L}$.
- Niveles de aminoácidos plasmáticos. mediante un sistema autoanalizador de BECKMAN 6300 (Instrumento de Beckman, Palo Alto, CA). Los niveles normales en nuestro laboratorio son en mg/dl:

Taurina	0.34-2.10	Arginina	0.10-0.40
OH-prolina	0.00-0.55	Aspartato	0.10-0.40
Serina	0.68-2.03	Treonina	0.77-2.20
Glutámico	0.21-2.82	Asparagina	0.40-0.41
Prolina	1.17-3.86	Glutamina	5.78-10.38
Alanina	1.87-5.88	Glicina	0.90-4.016
Cistina	0.40-1.40	Valina	1.87-5.88
Isoleucina	0.48-1.28	Metionina	0.09-0.60
Tirosina	0.40-1.57	Leucina	0.98-2.29
Triptófano	0.51-1.49	Fenilalanina	0.61-1.45
Lisina	1.21-3.47	Ornitina	0.40-1.40
Histidina	0.50-1.66		

3.- Función hepática:

Valoramos el grado de función hepática mediante el estadio de Child-Pugh, descrita en la introducción, los pacientes con 5-6 puntos pertenecen al estadio A, entre 7-9 puntos al B y entre 10-15 puntos al C de Child-Pugh(tabla 4), y la puntuación de MELD calculada a través de la página WEB desarrollada por la clínica Mayo (<http://www.mayo.edu/int-med/gi/model/mayomodl-5.htm>).

Tabla 4. Clasificación de Child-Pugh

PARÁMETRO	Un punto	Dos puntos	Tres puntos
Encefalopatía Hepática	No	Grado I-II	Grado III-IV
Ascitis	No	Tratable	Refractaria
Bilirrubina Total	<2 mg/dl	2-3	>3
Albúmina	>3.5 gr/dl	2.8-3.5	<2.8
Tiempo de protombina	> 50% (1-3'')	50-35% (4-6'')	<35% (>6'')

4.- Prueba de la sobrecarga oral de glutamina:

Se realizó en el mismo día de los test psicométricos. Inicialmente para demostrar la variación en los niveles de amonio plasmático tras una sobrecarga oral de glutamina, realizamos una evaluación preliminar en un grupo de ocho pacientes cirróticos, con una media de edad de 53±8.8 años (cinco hombres y tres mujeres), cinco en estadio A de Child y tres en estadio B, dos pacientes presentaban EHM. También estudiamos 10 controles sanos. Las muestras se tomaron a los 30, 60 y 90 minutos tras la ingesta de 10gr de glutamina (L- Glutamine, SHS S.A., España)diluida en 100ml de agua.. Se observó un incremento de amonio a los 60 minutos, para decrecer posteriormente en el grupo de pacientes, no así en el grupo control (figura 5). Ante estos resultados, en 101

pacientes (25 de los 126 pacientes no se realizaron la prueba), se optó por medir los niveles de amonio basal y los 60 minutos.

El amonio se midió usando el método Dafonseca- Wholheim mediante un autoanalizador de Hitachi 911 (Roche diagnostics mannheim, Germany). Los valores de referencia para la concentración venosa de amonio en sujetos sanos son <94 µg/dl en varones y <82 µg/dl en mujeres.

Interpretación test:

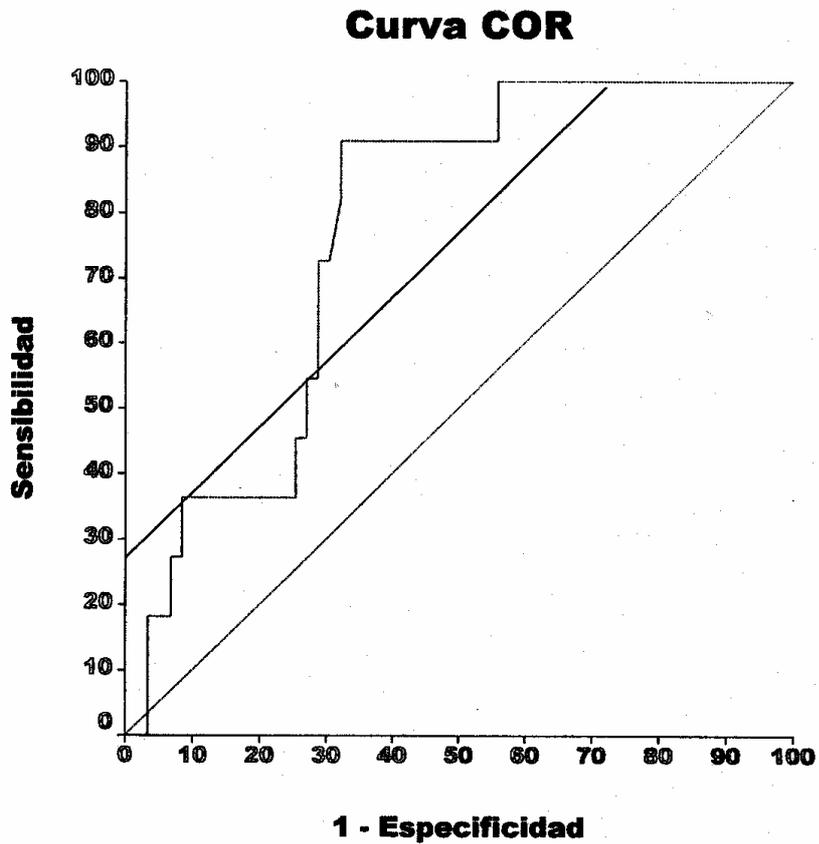
Una respuesta patológica se definió como un incremento superior a 128 mcgr a los 60 minutos después de la ingestión de glutamina. Este punto de corte se definió en un grupo preliminar de 47 pacientes con cirrosis hepática (tabla 5), como la mejor especificidad (61%) y sensibilidad (89%) en predecir EH utilizando una curva ROC seleccionados con dos criterios: 1. proximidad al vértice superior izquierdo de la curva ROC; 2.tasa de verdaderos positivos(sensibilidad) superior al 60% (figura 4).

El test fue bien tolerado sin desarrollarse efectos adversos y ningún paciente presentó síntomas de EH como resultado de la sobrecarga oral de glutamina, ni vómitos.

Tabla 5. Grupo diagnóstico para la Curva ROC.

	Pacientes
Variable	
Número	47
Edad(años)	56±8,53
Sexo	
Hombre	30(63,8%)
Mujer	17(36,2%)
Etiología	
Alcohol	23(50%)
Otras	24(50%)
Child-Pugh	
A	36(76,6%)
B/C	11(23,4%)
MELD	10,57±3,82
Varices esofágicas	
F0/F1	22(55,3%)
F2/F3	21(44,7%)
EHM	12(25,5%)
EH seguimiento	6(12,8%)
Éxito	4(8,5%)

Figura 5. Curva COR. Determina el punto de corte (128 $\mu\text{g}/\text{dl}$) que sirve para clasificar a los pacientes con EHM o sin ella, en base al desarrollo de EH en el seguimiento. (sensibilidad 90.9%, especificidad 66,3% y área bajo la curva 0.77; $p < 0.005$)



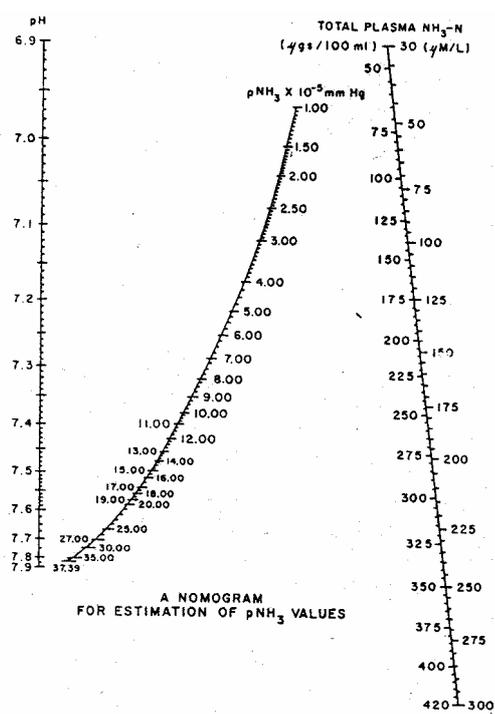
4.1- Presión parcial de amonio:

Para la determinación del PH se utilizaron jeringas de gasometría (Becton-Dickinson), conteniendo heparina-litio en forma sólida.

La medición de forma rápida del pH de la sangre venosa obtenida se realizó en un analizador de gases en sangre Ciba Corning modelo 840. La cuantificación de amoniaco se realizó de forma enzimática mediante el procedimiento de Da Fonseca-Wollheim, F. (Klin. Chem. Klin. Biochem. 1973; 11:421-426), basado en la conversión de cetoglutarato + (NH_4^+) en glutamato. Se utilizarán los reactivos proporcionados por la firma Roche Diagnóstica en un analizador automático Hitachi 911.

La presión parcial de amonio fue calculada de la concentración total de amonio y el pH basado en la fórmula y nomograma propuesto por Manning et al¹¹⁸(figura 6).

Figura 6. Normograma para la estimación de los valores de la pNH_3 .



5- Pruebas complementarias :

5.1- Endoscopia oral para valoración de varices esofágicas.

5.2-Ecografía abdominal para valorar hipertensión portal y descartar la existencia de hepatocarcinoma.

5.3-Resonancia Magnética Espectroscópica:

Un total de 58 pacientes se les realizó resonancia magnética cerebral para determinar la existencia de hiperintensidad y a 26 pacientes RMN espectroscópica. El estudio de RM y RMs fue realizada con RM Alto Campo Modelo Signa 1.5 T con bobina de cuadratura de cráneo.

Para la RM se han utilizado las ondas de radiofrecuencia (RF), mediante las secuencias spin eco (SE), spin eco rápida (FSE) e inversión-recuperación rápida (FMPIR), potenciando las señales de T1, densidad protónica (DP) y T2 (TR, TE: 400/15ms, espesor del corte 4-5mm con un intervalo entre 1-2mm, 256 X256 matriz y NEX = 2).

Las series realizadas fueron las siguientes:

- Plano axial con secuencias potenciadas en T1, T2 y DP.
- Plano coronal con secuencias potenciadas en T1, T2 y DP .
- Plano sagital con secuencias potenciadas en T2 .

La RMs consiste en una valoración cuantitativa en un voxel de 8 con 3 ml, imagen axial, con presaturación de agua en el voxel. La localización de los voxels fueron cortical-subcortical derecha y globus pallidus bilateral (TR,TE 2000/37, 256x128 matriz y NEX= 2).

Los picos fueron identificados como N-acetilaspártato (NAA) a 2.02 ppm, creatinina (Cr) a 3.03 ppm, colina (Co) a 3.22 ppm, mioinositol (mI) a 3.56 ppm y α

glutamina (Glx) a 3.72-3.49 ppm. Los resultados son expresados en relación a la creatinina.

6.-Seguimiento

Los pacientes fueron seguidos cada seis meses en la consulta de digestivo, hasta que desarrollaron un episodio de EH, fueron transplantados, fallecieron o hasta el final del estudio sino se desarrollan ninguno de estos eventos. No se prescribió ningún tratamiento específico a los pacientes con EHM o SOG alterada. La hemorragia por varices esofágicas, ascitis (confirmada por paracentesis o ecografía), síndrome hepatorenal, y peritonitis bacteriana espontánea, fueron diagnosticada siguiendo las definiciones aceptadas en consensos previos.

METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

I. Tamaño muestral

Se desea estimar la prevalencia de EHM en una población, que suponemos de tamaño infinito a efectos prácticos. Realizamos una estimación inicial del 50%, que es la que origina el mayor tamaño muestral, con un nivel de confianza del 95% y una imprecisión máxima de ± 20 valor epsilon. El tamaño muestral mínimo estimado fue de $n=29$.

El tamaño muestral se obtuvo con el programa nQuery Advisor 4.0¹¹⁹.

II. Interpretación de los test psicométricos

En la interpretación de los test psicométricos utilizamos inicialmente un grupo control sano de 248 personas para el test de conexión numérica A y la clave de números y 120 controles en el diseño de cubos. A partir de esta población estudiamos la distribución de la variable que era normal en el diseño de cubos, requiriendo una transformación logarítmica en los otros dos test para conseguir la distribución normal(test de Kolmogorov-Smirnov para la normalidad). A continuación los resultados de los test psicométricos fueron expresados como valores Z corregidos para la edad y el nivel educacional. El nivel educacional se codificó como 0 (< 8 años) o 1 (8 años o más). La expresión en valores Z, consiste en la tipificación de una distribución normal, con media 0 y desviación estándar 1, donde el valor Z indica cuantas desviaciones estándar se aleja un valor de la media de la distribución. Valores de $Z > 2.3$ fue considerado patológico lo que significa que la probabilidad de que un valor esté comprendido entre la media poblacional $\pm 2,3$ DS es del 98,9%.

III. Análisis de los datos

1. Depuración estadística. En primer lugar se realizará una ***exploración*** de los datos, generándose estadísticos de resumen y representaciones gráficas para todos los casos y de forma separada, para grupos de casos. Este procedimiento se utilizó para identificar valores atípicos y caracterizar diferencias entre subpoblaciones (grupos de casos), y puede mostrar que existen valores inusuales o extremos en las observaciones. Asimismo, puede ayudar a determinar si son adecuadas las técnicas estadísticas que se están considerando en el análisis e indicar la necesidad de transformar los datos o utilizar pruebas no paramétricas.

2. Análisis descriptivo. Las variables numéricas se resumieron con medias y desviaciones típicas o, si las distribuciones son muy asimétricas, medianas y percentiles P_{25} y P_{75} , mientras que las variables no numéricas con porcentajes. Estas medidas se determinaron globalmente y para grupos de casos. La descripción de la muestra se completa con distintas representaciones gráficas según el tipo de información (numérica/ no numérica).

3. Análisis inferencial.

2.1. ***Comparación de proporciones.*** Para estudiar la relación entre variables no numéricas, se realizaron tests de la Chi-cuadrado con corrección por continuidad o test exacto de Fisher (tablas 2x2 poco pobladas). Los resultados de estas pruebas de hipótesis se complementaron con intervalos de confianza para diferencia de proporciones al 95% (siempre que el contraste anterior sea significativo).

2.2. ***Comparación de medias.*** Para la comparación de variables numéricas entre dos grupos se realizaron tests de comparación de medias t-Student, o en su

defecto la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney (según proceda). En el caso de detectarse diferencia significativas, se determinaron intervalos de confianza para diferencias de medias al 95% que cuantificaron dichas diferencias.

2.3. **Análisis de Kaplan-Meier.** Se obtuvieron las probabilidades de supervivencia, la media y mediana de supervivencia y los cuartiles. Se generaron estadísticos separados por grupo de estudio y se representaron las funciones de supervivencia para cada uno de estos grupos.

El test Log-rango se utilizó para comparar la igualdad de las distribuciones del tiempo de supervivencia¹²⁰.

2.4. **Análisis de regresión de Cox.** La regresión de Cox se utilizó para crear modelos para datos de tiempos de espera hasta un evento (supervivencia, recidiva, etc) cuando existen casos censurados. En estos modelos se incluyeron variables predictoras (covariables) tanto categóricas como continuas y para las variables seleccionadas por el mismo se calcularon odds ratio e intervalos de confianza al 95%.

2.5. **Análisis de la Regresión Logística.** El modelo de regresión logística se aplicó para relacionar una variable dependiente dicotómica (presencia/ ausencia de un evento) con un conjunto de variables independientes (factores pronósticos). El método seleccionará el mejor conjunto de variables predictoras del evento. Para dichas variables el modelo calcula la razón de las ventajas (odds ratio) y sus intervalos de confianza al 95%.

2.6. **Regresión lineal.** La regresión lineal múltiple estudió la relación entre varias variables numéricas independientes para predecir el valor de la variable dependiente. La bondad del modelo obtenido se cuantificó mediante el coeficiente de correlación múltiple.

Los datos fueron analizados con el programa SPSS 11.5 para Windows¹²¹.

RESULTADOS

I. Grupo control

El grupo control se compuso de 248 personas para el test de conexión numérica y la clave de números y de 120 personas en el diseño de cubos.

La edad media fue de 41,64 años \pm 13,43 años, entre 18-80 años con un rango de 67 y un intervalo de confianza IC 95%: 39,96-43,32.

El 44% fueron varones y el 56% mujeres.

El tiempo medio empleado en nuestro grupo control para los tres test fue:

Test de conexión numérica: 45,64 \pm 28,17 segundos, rango de 188 y con un IC 95%: 45,12-55,50 segundos.

Test de la clave de números: 41,72 \pm 18 puntos, rango de 71 e IC 95% 35,76-42 puntos.

Test del diseño de cubos: 30,64 \pm 8,76 puntos, rango de 59 e IC 95% 29,10-32,18 puntos.

Analizamos la influencia de la edad, sexo y nivel de instrucción en los test psicométricos:

Los resultados de los tres test se relacionaron con la edad, con los siguientes coeficientes de correlación: el LogTCN $r=0,55$; $p=0,0001$, la LogCN $r=0,68$; $p=0,0001$ y el DC $r=0,46$; $p=0,0001$ (Figura 7,8).

El grupo control con nivel de instrucción I mostró un alargamiento significativo del TCN 1,76 \pm 0,20 respecto al nivel II de 1,50 \pm 0,18; $p=0,0005$, así como una menor puntuación en la CN (1,36 \pm 0,19 vs. 1,67 \pm 0,16; $p=0,0005$) y en el DC (26,22 \pm 6,43 vs 33,90 \pm 8,88; $p=0,0005$)(Figura 9, 10).

Encontramos diferencias significativas en el sexo en relación con el TCN ($1,63\pm 0,21$ mujeres frente a $1,54\pm 0,23$ en hombres; $p=0,02$) y la CN ($1,54\pm 0,21$ en mujeres frente a $1,60\pm 0,23$ en hombres; $p=0,008$)(figura 11), no así en el DC ($30,56\pm 7,94$ en mujeres frente a $30,79\pm 10,33$ en hombres; $p=0,88$).

En el análisis de regresión lineal múltiple las dos variables independientes en relación con los tres test psicométricos fueron la edad y el nivel de estudios (tabla 6):

- LogTCN: $r=0,78$; $p=0,005$
- LogCN: $r=0,77$; $p=0,005$
- DC: $r=0,576$; $p=0,0005$

Figura 7. Relación entre el test del diseño de cubos y la edad.

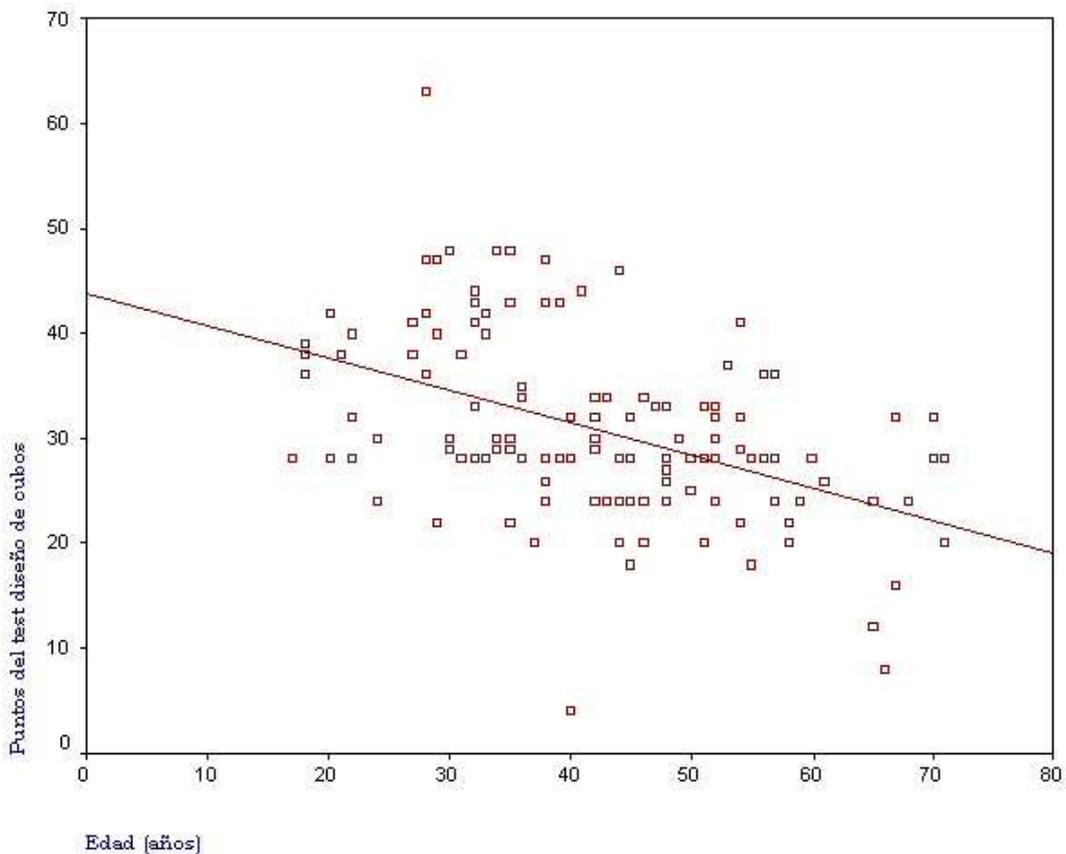


Figura 8. Relación entre el test de conexión numérica y la edad (línea continua marrón) y el test de la clave de números con la edad (línea discontinua azul).

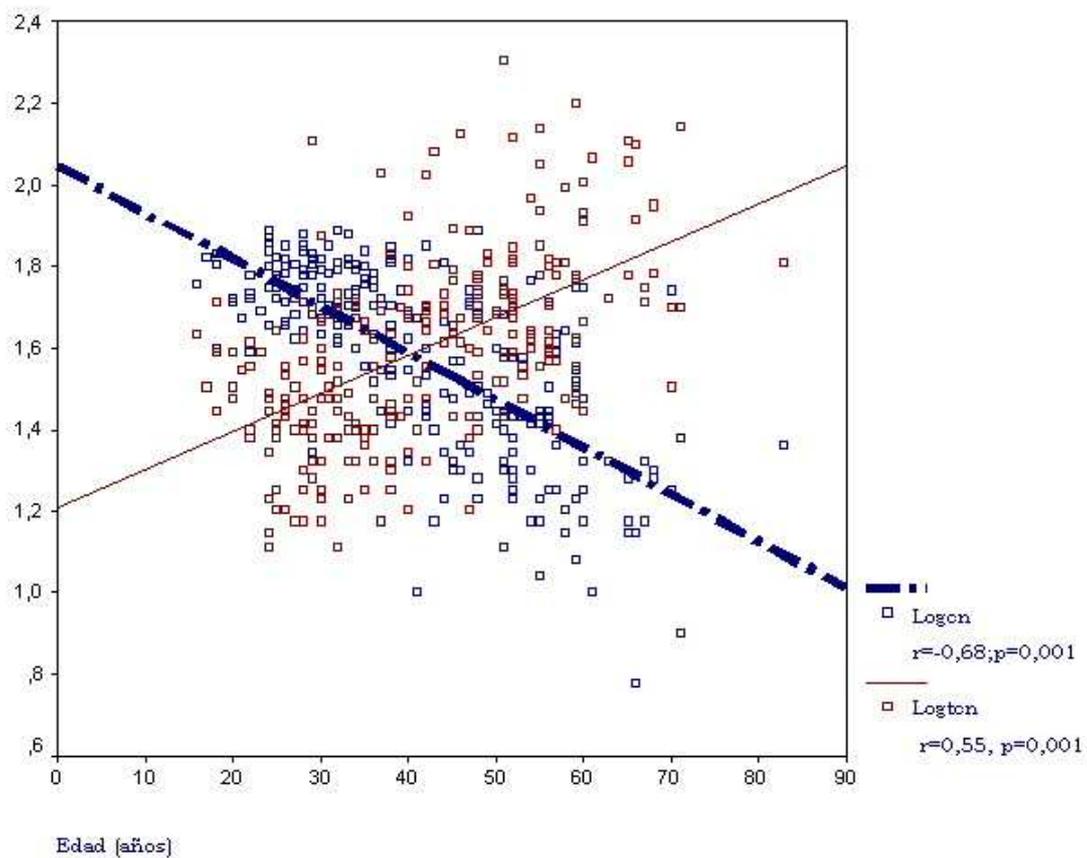


Figura 9. Relación entre el test del diseño de cubos y el nivel de instrucción

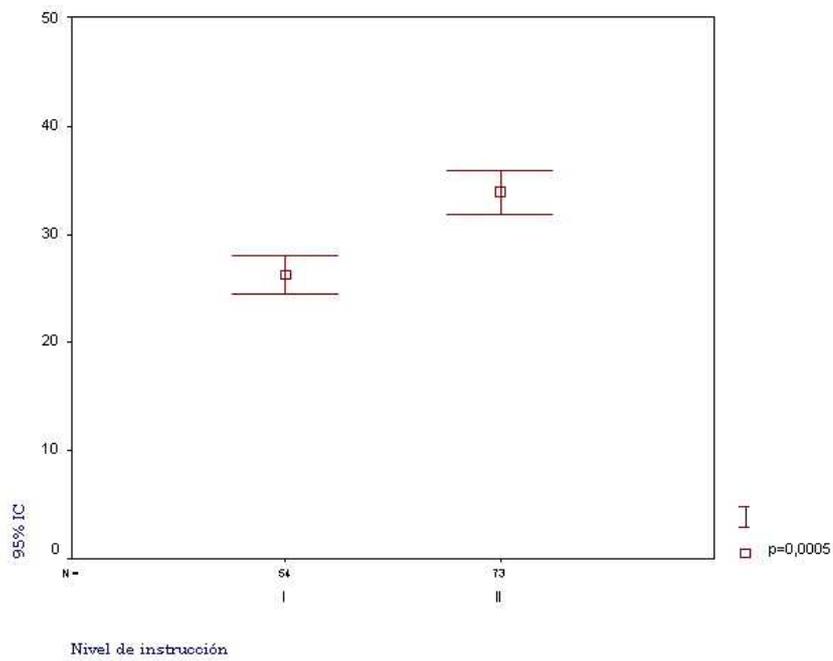


Figura 10. Relación entre el test de conexión numérica y la clave de números con el nivel de instrucción.

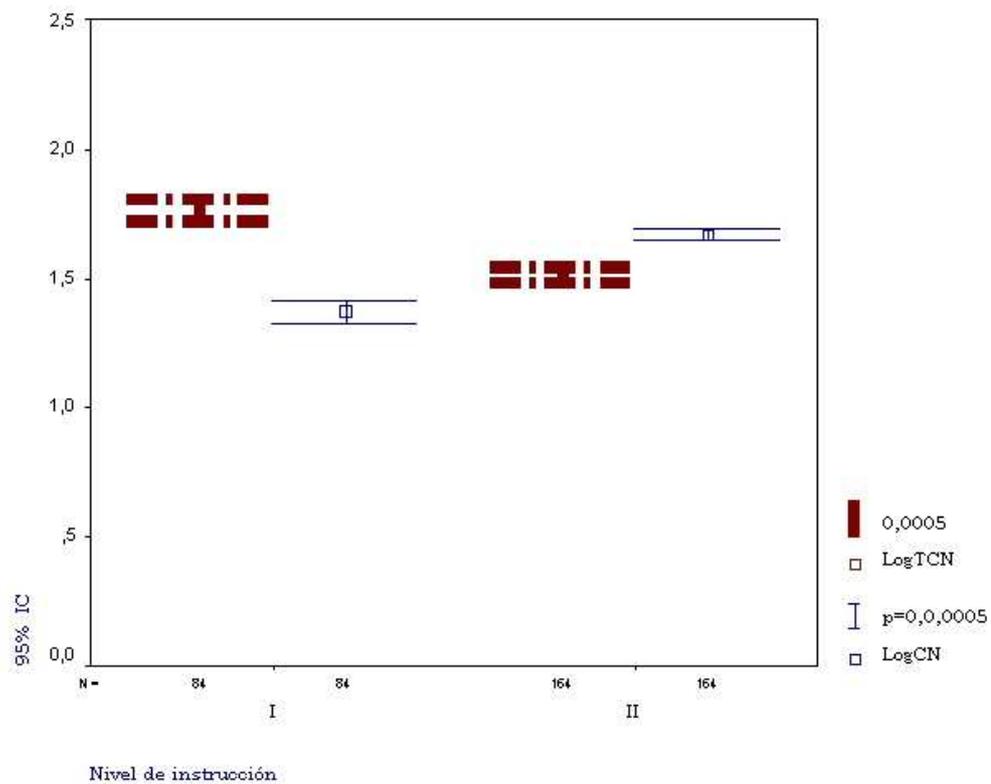


Figura 11. Relación entre el test de conexión numérica y la clave de números con el sexo.

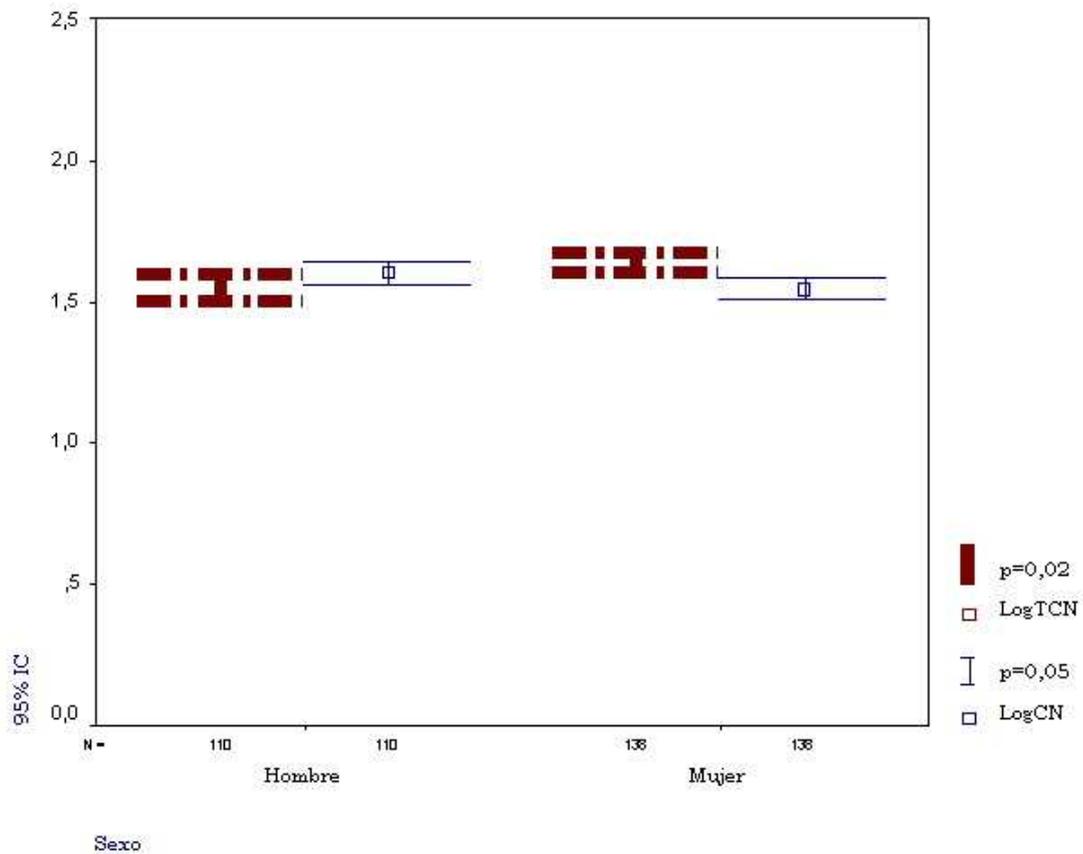


Tabla 6. Análisis de regresión lineal múltiple de los tres test psicométricos:

Variables			Variables	Regresión lineal múltiple		
	r	p		Beta	t	p
Log TCN	0,78	0,005	Edad	$5,09 \cdot 10^3 \pm 0,001$	5,35	0,0005
			Estudios	$-2,39 \cdot 10^2 \pm 0,003$	-8,40	0,0005
Log CN	0,77	0,005	Edad	$-7,61 \cdot 10^3 \pm 0,001$	-9,48	0,0005
			Estudios	$2,18 \cdot 10^2 \pm 0,002$	9,04	0,0005
CN	0,57	0,0005	Edad	$-0,16 \pm 0,058$	-2,8	0,005
			Estudios	$1,16 \pm 0,25$	4,66	0,0005

II. Datos demográficos de los pacientes

De los 126 pacientes finalmente incluidos, la edad media fue de $54,43 \pm 9,11$ años, 95 hombres y 31 mujeres, con una edad media de $53,03 \pm 8,94$ y de $58,74 \pm 8,48$ respectivamente.

La etiología de la cirrosis hepática fue alcohol en 69 pacientes lo que representa un 54,8% de las cirrosis, hepatitis virus C en 45 pacientes (35,7%), hepatitis virus B en 6 pacientes (4,6%), autoinmune en 4 (3,2%) y en 2 pacientes la etiología fue criptogénica(1,6%).

Para valorar la función hepática utilizamos dos parámetros, por un lado el estadio de Child-Pugh que fue A en 81 pacientes (64,3%), B en 41 (32,5%) y C en 4(3,2%), y por otro el índice de Mayo (MELD) con una media del mismo de $10,81 \pm 5,03$.

La existencia de comunicaciones porto sistémicas la determinamos mediante gastroscopia para la presencia de varices esofágicas, con 16 pacientes (12,7%) sin varices esofágicas, 56 (44,4%) de pequeño tamaño (F1) y 54 de gran tamaño (F2-F3) (42,8%); y con la medición de los niveles de ácidos biliares en suero, los cuales están mas elevados en presencia de comunicaciones portosistémicas, con una media de $33,42 \pm 20,10$ en nuestros pacientes.

De los 126 pacientes cirróticos 38 mostraban algunos de los tres test psicométricos con un $Z > 2,3$, lo que nos llevó al diagnóstico de EHM en un 30,2% de los pacientes. La media de duración del test de conexión numérica fue de $90,97 \pm 49,37$ segundos en los pacientes frente a $45,64 \pm 28,17$ en el grupo control , de $22,51 \pm 11,31$ puntos en la clave de números frente a $41,72 \pm 18$ en los controles y de $22,66 \pm 8,22$ puntos en el test de diseño de cubos frente a $30,64 \pm 8,76$ los controles, diferencias estadísticamente significativas.

La prueba de la SOG fue realizada en 101 pacientes, con una media en el amonio basal de $72,59 \pm 4,21$ mg/dl y de $136,43 \pm 7,67$ mgr/dl a los sesenta minutos, considerando el punto de corte 128mgr/dl como patológico, la prueba estuvo alterada en 48 de 101 cirróticos lo que representa el 47,5%. (tabla 7).

El tiempo medio de seguimiento del estudio fue de $25,2 \pm 15,09$ meses. En este periodo fallecieron 25 pacientes, 18 de causa hepática, cuatro por hepatocarcinoma avanzado, tres al desarrollar PBE, otros tres en EH secundaria a el fallo hepático, cuatro en shock hipovolémico secundario a HDA por varices esofagogástricas, en un caso por infección posttransplante, uno por trombosis venosa portal sin relación con hepatocarcinoma; y por último dos por síndrome hepatorenal tipo II y 7 pacientes por causa no hepáticas, como fueron dos por cáncer de pulmón, uno por neumonía herpética, uno por shock séptico de origen urinario, dos por infarto agudo de miocardio y uno por accidente de trafico.

Durante el seguimiento recogimos 100 episodios de descompensación de la cirrosis, en concreto: 24 hemorragias digestivas por varices esofágicas de las cuales cuatro fallecieron, 30 desarrollaron ascitis, 5 un síndrome hepatorenal donde dos murieron, 11 peritonitis bacteriana espontánea con tres muertes, 8 carcinoma hepatocelular con cuatro fallecidos y 22 encefalopatías hepáticas grado II-IV con dos éxitus. Los factores desencadenantes de EH fueron estreñimiento en 3 casos, sedantes en 3, infección en 5 casos, tratamiento diurético en 3, hemorragia digestiva en 5 y espontánea en 3 casos.

Tabla 7. Datos demográficos y características clínicas de los pacientes cirróticos

Características	Pacientes cirróticos
Sexo (mujer / varón)	31/95
Edad (años)	54,43±9,11
Etiología	
Alcohol	69
Hepatitis C	45
Hepatitis B	6
Hepatitis autoimmune	4
Criptogenética	2
Child-Pugh A/B/C	81/41/4
Varices esofágicas	
F0	16
F1	56
F2-F3	54
MELD	10,81±5,03
EHM (si/no)	38/126
SOG alterada (si/no)	48/101
Muertes	25
Hepáticas	18
No hepáticas	7
Ascitis (si/no)	30/126
Hemorragia digestiva alta (si/no)	24/126
Peritonitis bacteriana espontánea (si/no)	11/126
Síndrome hepatorenal (si/no)	5/126
Carcinoma hepatocelular (si/no)	8/126
Encefalopatía hepática (si/no)	22/126

III. Relación entre la EHM y la función hepática, comunicaciones porto-sistémicas y la EH.

De los 126 pacientes 38 fueron diagnosticados de EHM (30,2%), al presentar uno de los tres test alterado. La presencia de EHM se relacionó con el desarrollo de EH en el seguimiento, 13 de 38 (34,21%) pacientes con EHM presentaron EH frente a 9 de 88 (10,22%) de los pacientes sin EHM ($p < 0.01$), con un riesgo actuarial del 35% al año y del 53% a los 3 años en los pacientes con EHM frente al 11% y 14% respectivamente en los pacientes sin EHM(log rank 9,55;p=0,002). (figura 12).

En relación con las comunicaciones portosistémicas, la existencia de EHM fue independiente del tamaño de las varices esofágicas, 16 de 66 pacientes (24,24%) con varices pequeñas (F0/F1) presentaron EHM y 19 de 54 pacientes (35%;p=0,19) en el grupo de varices grandes(F2/F3), sin embargo se correlacionó con los niveles de ácidos biliares $53,27 \pm 50,23$ en pacientes con EHM frente a $23,05 \pm 29,97$ sin EHM.

En la función hepática, los pacientes en estadio B de Child mostraban más EHM, 19 de 45 (42,22%) que los pacientes en estadio A 19 de 81(23,45%; $p < 0,02$), así como una mayor puntuación del índice de MELD, $12,75 \pm 6,68$ en EHM frente a $9,95 \pm 3,85$ ($p < 0,002$) sin EHM.

Respecto a los parámetros bioquímicos se encontró una correlación entre la presencia de EHM con los niveles de bilirrubina ($2,73 \pm 2,20$ vs. $1,77 \pm 1,43$; $p = 0,009$), albúmina ($3,32 \pm 0,70$ vs. $3,63 \pm 0,66$; $p = 0,012$) e INR ($1,49 \pm 0,49$ vs. $1,28 \pm 0,19$; $p = 0,05$).

Factores relacionados con la EHM : análisis multivariante

En el análisis de regresión logística, incluimos la EHM como variable dependiente y todas las variables con valores $p < 0,15$ en el análisis univariante. Al existir colinealidad entre las variables INR y albúmina con el Child-Pugh e índice de MELD, se extrajeron del análisis final.

El índice de MELD fue la única variable independiente relacionada con la presencia de EHM (OR:1,12; 95% CI:1,03-1,23)(tabla 8).

Figura 12. Curva actuarial de Kaplan-Meier para el desarrollo de EH en el seguimiento en relación con la EHM. Los pacientes con EHM muestran un riesgo significativamente mayor de desarrollar EH en el seguimiento (línea discontinua marrón) en comparación con los pacientes sin EHM (línea continua azul). Log-Rank 9,55; $p=0,002$.

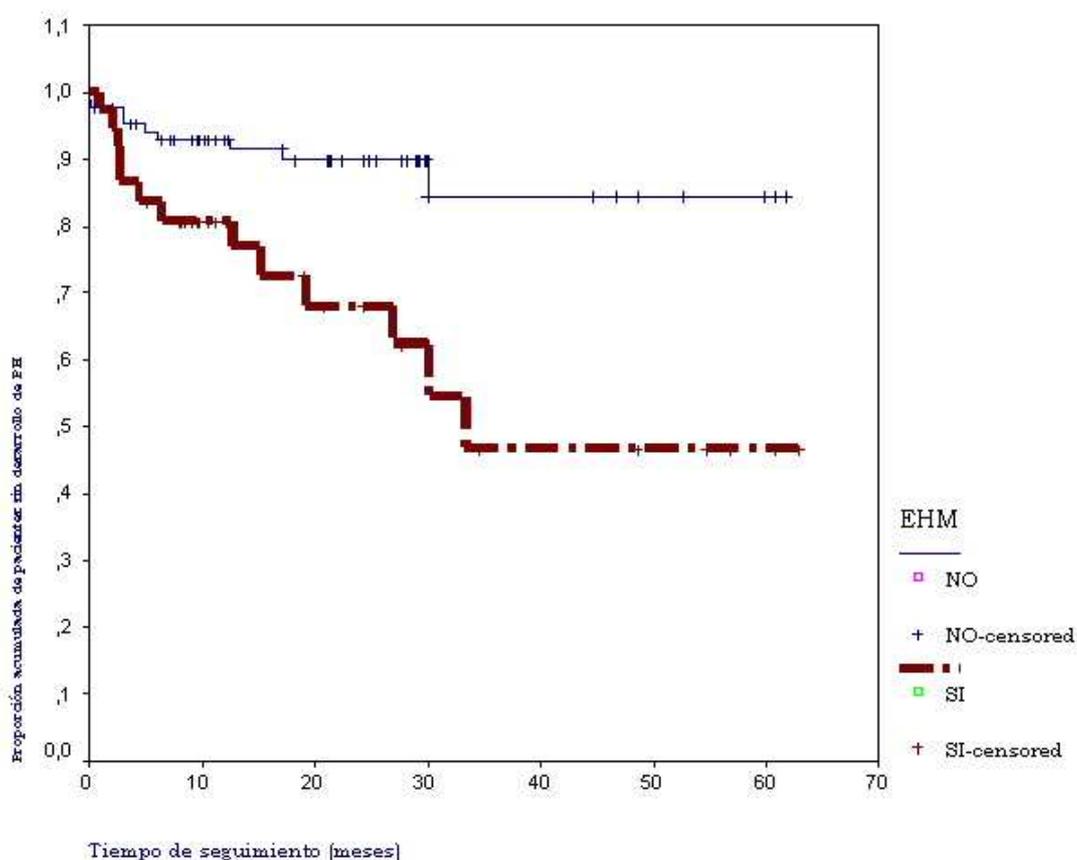


Tabla 8. Análisis de regresión logística de las variables independientes relacionadas con la EHM.

Variables	EHM			Regresión logística	
	Si (n=38)	No (n=82)	P	OR (95%IC)	P
Edad (años)	53,34±09,29	54,90±9,08	NS		NS
Sexo	Varón	30	65	NS	NS
	Mujer	8	23		
Ácidos biliares	53,27	23,05	<0,014		NS
INR	1,49±0,49	1,28±0,1	<0,05		NS
Albúmina	3,32±0,70	3,63±0,66	<0,002		NS
Bilirrubina total	2,73±2,20	1,77±1,43	<0,009		NS
Child-Pugh	A	19	62		NS
	B	19	26		
MELD	12,75±6,68	9,95±3,85	<0,002	1,2(1,03-1,23)	<0,01

IV. Relación entre la señal hiperintensa bilateral en globus pálido y el manganeso, la función hepática, comunicaciones porto-sistémicas, la EHM y la EH .

En 58 pacientes se realizó RM cerebral para valorar la existencia de la señal hiperintensa a nivel de los ganglios basales. Presentaron hiperintensidad 44 de 58 pacientes (75.9%).

Los pacientes con la señal hiperintensa mostraban niveles más elevados de Mn (8.39 ± 7.30 vs. 3.31 ± 2.27 ; $p=0.007$).

En la función hepática, todos los pacientes en estadio B de Child-Pugh presentaron HIGP 11/11 (100%) frente a 33/47 (56.9%; $p=0.05$) en estadio A. No encontramos relación con el MELD como otro parámetro de función.

Con la presencia de comunicaciones portosistémicas, los pacientes con varices esofágicas grandes (F2-F3) mostraron la señal hiperintensa más frecuentemente 22/26 (92,30%) que los pacientes con varices pequeñas o sin ellas (F0-F1) 20/32 (62,5%; $p= 0,012$). Los niveles de ácidos biliares fueron mas elevados en el grupo que presentó la señal hiperintensa pero sin alcanzar significación ($23,49 \pm 22,66$ vs. $13,96 \pm 14,25$; $p=0,35$).

En el diagnóstico de EHM, no encontramos relación entre la presencia de la hiperintensidad y la existencia de EHM, donde 14/16(87,5%) pacientes con EHM presentaron la alteración estructural frente a 30/42(71,42%; $p=0.308$) pacientes sin EHM. Tampoco encontramos relación en la presencia de la lesión y el desarrollo posterior de EH, fue similar en ambos grupos, con un desarrollo del 18,18% en los pacientes con la hiperintensidad y del 14,28% en los pacientes sin la alteración (log rank 0,02; $p=0,89$)

Dentro de los parámetros bioquímicos sólo obtuvimos relación con la albúmina ($3,44 \pm 0,604$ vs. $3,95 \pm 0,42$; $p=0,002$).

Factores relacionados con la señal hiperintensa bilateral en globus pálido: análisis multivariante

En el análisis, incluimos la señal hiperintensa a nivel de los ganglios basales como variable dependiente y todas las variables con una $p < 0,15$ como independientes (sexo, edad, manganeso, Child-Pugh, varices esofágicas y albúmina). La albúmina se extrajo del estudio por la existencia de colinealidad con el estadio de Child-Pugh.

La presencia de varices esofágicas y los niveles de manganeso fueron variables independientes en relación a la existencia de la señal hiperintensa en los ganglios basales (OR: 1,13; 95% CI:1,83-71,42; $p=0,008$ y OR: 1,3; 95% CI:1,01-1,72; $p=0,04$). (tabla 9).

Tabla 9. Análisis de regresión logística de las variables independientes relacionadas con la HIGP.

Variables	HIGP			Regresión logística	
	Si (n=44)	No (n=14)	P	OR (95%IC)	P
Edad (años)	54,70±8,64	54,57±9,42	NS		NS
Sexo	Varón	31	10	NS	NS
	Mujer	13	4		
Manganeso	8,39±7,30	3,31±2,27	<0,007	1,3(1,01-1,72)	0,04
Albúmina	3,44±0,60	3,95±0,42	<0,002		NS
Child-Pugh	A	33	14		NS
	B	11	0		
Varices esofágicas				1,13(1,83-71,42)	<0,008
	F0-F1	20	12		
	F2-F3	24	2		

V. Relación entre las alteraciones detectadas en la RMs y el Manganeso, la función hepática, comunicaciones porto-sistémicas, la EHM y EH.

La RM espectroscópica cerebral se realizó en 28 pacientes. Encontramos niveles más elevados de Glx/Cr ($0,77\pm 0,25$ vs. $0,66\pm 0,00984$; $p=0,01$), junto a niveles descendidos de Mi/Cr ($0,37\pm 0,0092$ vs. $0,59\pm 0,165$; $p=0,01$) en pacientes con EHM. De los 6 pacientes que desarrollaron EH en el seguimiento, presentaron niveles más elevados de Glx/Cr ($0,79\pm 0,00748$ vs. $0,67\pm 0,10$; $p=0,02$) y descendidos de Mi/Cr ($0,33\pm 0,055$ vs. $0,58\pm 0,162$; $p=0,01$).

En relación con la otra alteración detectada en la RM, la señal hiperintensa se asoció con niveles descendidos de Cho/Cr ($0,76\pm 0,23$ vs. $1,00\pm 0,16$; $p=0,04$). El cociente Mi/Cr se relacionó de forma inversa con los niveles de manganeso ($r=-0,581$; $p=0,01$).

No encontramos relación con el estadio de Child-Pugh pero sí se relacionaron de forma inversa niveles descendidos de Mi/Cr ($r=-0,569$; $p=0,01$) y de Cho/Cr ($r=-0,387$; $p=0,01$) con el índice de MELD.

No encontramos relación entre las alteraciones bioquímicas de la RMs y la existencia de comunicaciones portosistémicas, valorada mediante el tamaño de las varices esofágicas y los niveles de ácidos biliares.

Respecto a parámetros bioquímicos, niveles descendidos de Mi/Cr se relacionaron inversamente con la bilirrubina ($r=-0,56$; $p=0,01$) y directamente con el cociente AAR/AAA ($r=0,684$; $p=0,01$), y los niveles inferiores de Cho/Cr con la creatinina plasmática ($r=0,46$; $p=0,05$) y al igual que el mioinositol con el cociente AAR/AAA ($r=0,597$; $p=0,01$).

Factores relacionados con la RMS : análisis multivariante

En el análisis de regresión lineal múltiple incluimos como variable dependiente los niveles de Mi/Cr y como variables independientes (edad, albúmina, INR, bilirrubina total, creatinina, manganeso, cociente AAR/AAA y la presencia de EHM).

La presencia de EHM, los niveles de manganeso, albúmina y bilirrubina total fueron las variables independientes relacionadas con el descenso de Mi/Cr ($r=0,88;p=0,0001$)(tabla 10).

Realizamos el mismo análisis pero con los niveles Cho/Cr como variable dependiente y las variables independientes (edad, albúmina, bilirrubina total, INR, creatinina, EHM, cociente AAR/AAA y HIGP).

El cociente AAR/AAA fue la variable independiente relacionada con los niveles descendidos de Cho/Cr ($r=0,598;p=0,003$)(tabla 11).

En el análisis multivariante de los niveles de Glx/Cr como variable dependiente, la presencia de EHM y edad fueron las dos variables independientes relacionadas con la elevación de los niveles de Glx/Cr ($r=0,614;p=0,01$)(tabla 12).

Tabla 10. Análisis de regresión lineal múltiple de las variables independientes relacionadas con los niveles de Mioinositol/creatinina.

Variables	Mi/Cr		Regresión lineal múltiple		
	n=22	p	Beta	t	p
Edad	-0,208	NS			
Albúmina	0,388	NS	0,308±0,04	1,85	0,08
INR	-0,361	NS			
Bilirrubina total	-0,458	0,05	-0,78±0,02	-5,28	0,0001
Creatinina	0,072	NS			
Manganeso	-0,482	0,05	-0,397±0,004	-3,00	0,01
AAR/AAA*	0,684	0,01			
EHM					
Si	0,43±0,09		-0,454±0,05	-2,59	0,02
No	0,51±0,14	0,01			

*AAR/AAA coeficiente de aminoácidos ramificados/ aminoácidos aromáticos

Tabla 11. Análisis de regresión lineal múltiple de las variables independientes relacionadas con los niveles de Colina/creatinina.

Variables	Cho/Cr		Regresión lineal múltiple		
	n=27	p	Beta	t	p
Edad	0,019	NS			
Albúmina	0,211	NS			
INR	-0,278	NS			
Bilirrubina total	-0,333	NS			
Creatinina	0,46	0,05			
AAR/AAA	0,598	0,003	0,598±0,07	3,35	0,003
EHM					
Si	0,75±0,09				
No	0,86±0,21	NS			
HIGP					
Si	0,76±0,23				
No	1,00±0,16	0,04			

Tabla 12. Análisis de regresión lineal múltiple de las variables independientes relacionadas con los niveles de glutamina/creatinina.

Variables	Glx/Cr		Regresión lineal múltiple		
	n=27	p	Beta	t	p
Edad	0,230	NS	-0,423±0,002	-2,324	0,03
Albúmina	-0,356	NS			
INR	0,089	NS			
Bilirrubina total	0,070	NS			
Creatinina	0,081	NS			
Manganeso	0,056	NS			
AAR/AAA	-0,119	NS			
EHM					
Si	0,77±0,10		-0,40±0,04	-2,19	0,04
No	0,66±0,09	0,01			

VI. Relación entre la sobrecarga oral de glutamina y la función hepática, comunicaciones porto-sistémicas, la EHM y EH.

En la evaluación preliminar con un grupo control con 10 personas sanas y otro grupo de 8 pacientes con cirrosis hepática. La concentración de amonio permaneció sin cambios en los 10 controles después de la sobrecarga oral de glutamina pero se elevó significativamente en los pacientes cirróticos (desde $70,40 \pm 45,2$ a $127,4 \pm 78,6$ vs. $40,4 \pm 22,2$ a $44,3 \pm 13,6$ mg/dl; cirróticos frente a controles; $p < 0,001$ (figura 13).

La SOG se realizó en 101 pacientes de los 126; 25 no la realizaron, 10 se negaron a su realización, en cinco no fue posible canalizar la vía periférica, 8 no estaban en ayunas y 2 hubo error de la muestra.

Según el puntos de corte determinado en la curva ROC de 128mg/dl a los sesenta minutos de la ingesta de glutamina oral. La SOG se encontró alterada en 48/101 pacientes (47,5%).

La SOG alterada se encontró significativamente asociada con la existencia de la EHM, 25 de 30 (85%) con EHM frente a 23 de 71 (32,39%) sin EHM; $p = 0,0001$. Al analizar la relación con cada uno de los test psicométricos. De los tres test sólo el diseño de cubos se relacionó con la existencia de SOG alterada ($20,24 \pm 9,8$ vs. $24,71 \pm 6,31$; $p = 0,023$).

La prevalencia de EHM en los dos grupos fue similar 30/101 (29,7%) de los pacientes que realizaron la SOG y 8/25 (32%); $p = \text{NS}$ de los que no se la realizaron.

La sobrecarga oral de glutamina se relacionó con la función hepática, valorada mediante el estadio de Child-Pugh y el índice de MELD. El 72% (21/28) de los pacientes en estadio B de Child-Pugh presentaron una SOG alterada frente al 36% (27/73) en estadio A ($p = 0,001$). Así como una puntuación de MELD significativamente superior ($12,79 \pm 4,27$ vs. $8,54 \pm 3,30$; $p = 0,0001$) en los pacientes con SOG patológica.

Entre los parámetros bioquímicos se encontró una relación con los niveles de albúmina ($3,37\pm 0,62$ vs. $3,82\pm 0,63$ gr/dl; $p=0,001$), de bilirrubina total ($2,44\pm 1,34$ vs. $1,46\pm 1,28$ mg/dl; $p=0,0001$), de colinesterasa (4132 ± 1965 vs. 6804 ± 2602 U/L; $p=0,0001$) y el INR ($1,44\pm 0,27$ vs. $1,23\pm 0,17$; $p=0,0001$).

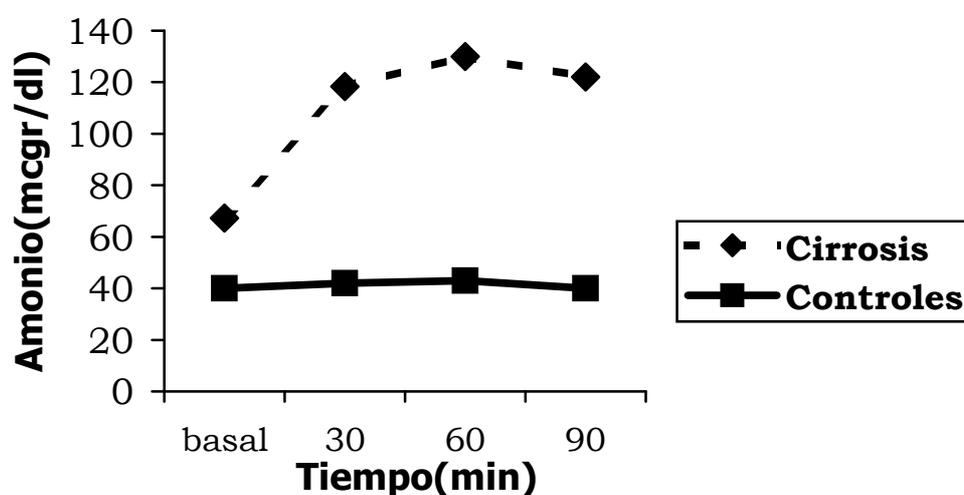
Respecto a la existencia de comunicaciones portosistémicas, de los 53 pacientes con varices de pequeño tamaño 19 (35%) mostraban un incremento anómalo de amonio, comparado con 24 de 42 (57%) pacientes con varices de gran tamaño ($X^2=4,28$; $p=0,038$). Así como, los niveles de ácidos biliares se relacionaron con el amonio basal ($r=0,374$; $p=0,01$) y tras la ingesta de glutamina ($r=0,4$; $p=0,05$).

De los 55 pacientes que se realizaron el test de sobrecarga oral de glutamina y la RM cerebral para detectar alteraciones estructurales, la señal hiperintensa bilateral en los ganglios basales no se relacionó con la presencia de SOG alterada, 21 de 24 (87,5%) pacientes con el test alterado mostraban la alteración estructural frente a 20 de 30 (64,51%; $p=0,067$) pacientes con el test normal. Aunque los niveles de manganeso, factor implicado en su etiopatogenia, eran significativamente superiores ($9,78\pm 7,6$ vs. $6,78\pm 6,5$; $p=0,016$) en los pacientes con el test de sobrecarga oral alterado.

Todos los pacientes que se realizaron la RM espectroscópica cerebral fueron sometidos al test de sobrecarga oral de glutamina. Encontramos niveles más elevados de Glx/Cr en pacientes con sobrecarga oral alterada ($0,75\pm 0,10$ vs. $0,64\pm 0,09$; $p=0,009$); así como niveles descendidos de Co/Cr ($0,72\pm 0,12$ vs. $0,92\pm 0,19$; $p=0,003$).

Aquellos pacientes con EHM que presentaban el test de sobrecarga oral de glutamina alterado presentaron unos niveles superiores de Glx/Cr ($0,77\pm 0,10$ vs. $0,66\pm 0,09$; $p=0,01$) junto a niveles descendidos de Mi/Cr ($0,37\pm 0,09$ vs. $0,59\pm 0,16$; $p=0,01$).

Figura 13. Test de sobrecarga oral de glutamina en pacientes con cirrosis hepática y en controles sanos. Los niveles de amonio incrementan significativamente en pacientes tras la sobrecarga oral de glutamina y permanece sin cambios en los controles. [Nota: mg/dl = micrograms por dl].



Factores relacionados con la sobrecarga oral de glutamina: análisis multivariante.

En el análisis de regresión logística, incluimos como variable dependiente el test de sobrecarga oral de glutamina alterado y como independientes todas las variables con valores $p < 0,15$.

Las variables independientes relacionadas con la SOG alterada, fueron la presencia de EHM (OR: 8,33;95% IC 2,72-41,37; $p=0,001$), el índice de MELD (OR:1,36;95% IC, 1,16-1,63; $p=0,0002$) y los niveles de colinesterasa (OR: 1;95% IC 1.0-1.0; $p=0,03$)(tabla 13).

Tabla 13. Análisis multivariante de regresión logística de las variables independientes relacionadas con la prueba de la SOG.

Variables	SOG			Regresión logística	
	Si (n=48)	No (n=53)	P	OR (95%IC)	P
Edad (años)	53,60±8,85	55,5±9,12	NS		NS
Sexo					
Varón	40	31	<0,006		NS
Mujer	8	22			
Test diseño cubos	20,24±9,8	24,71±6,31	< 0,023		NS
Albúmina	3,37±0,62	3,82±0,63	<0,001		NS
Bilirrubina	2,44±1,34	1,46±1,28	<0,0001		NS
INR	1,44±0,27	1,23±0,17	<0,0001		NS
Colinesterasa	4132±1965	6804±2602	<0,0001	1(1.0-1.0)	0,03
Ácidos biliares	46,07±43,88	13,31±10,28	<0,003		NS
MELD	12,79±4,27	8,54±3,30	<0,0001	1,36(1.09-1,63)	0,001
Glx/Cr	0,75±0,10	0,64±0,093	<0,009		NS
Cho/Cr	0,72±0,12	0,92±0,19	<0,003		NS
Manganeso	9,78±7,6	6,78±6,5	<0,016		NS
Child-Pugh					
A	27	46	<0,001		NS
B	21	7			
EHM					
Si	25	23	<0,001	10 (2,27-50)	0,008
No	5	48			
Varices esofágicas					
F0-F1	19	34	<0,03		NS
F2-F3	24	18			

VII. Relación entre la sobrecarga oral de glutamina y la presión parcial de amonio.

El pH venoso osciló entre niveles de 7,26-7,52, con una media de $7,39 \pm 0,041$, rango de 0,26 e IC95% 7,38-7,40.

En nueve pacientes el pH fue alcalino ($\text{pH} \geq 7,45$), los cuales presentaban una amoniemia basal y a los 60 minutos significativamente superior ($126, \pm 67,35$ vs $67,75 \pm 35,57$; $p=0,0001$ y $216,78 \pm 105,67$ vs. $128,84 \pm 70$; $p=0,001$), con un mayor índice de MELD ($14,75 \pm 3,05$ vs. $10,57 \pm 4,24$; $p=0,0015$).

La presión parcial de amonio se relacionó con la EHM, función hepática, metabolismo amino ácido y parámetros bioquímicos (bilirrubina, INR, colinesterasa) similar a la amoniemia, salvo la relación encontrada con los niveles de ácidos biliares ($r=0,323$ basal y $r=0,373$ a los 60 minutos ; $p=0,05$), relación no existente con la amoniemia basal y a los 60 minutos (tabla 14).

Tabla 14. Regresión lineal de la amoniemia basal y a los sesenta minutos en comparación con la presión parcial de amonio basal y a los sesenta minutos.

Variable	NH ₃ basal	NH ₃ 60min	Pp NH ₃ basal	Pp NH ₃ 60 min
EHM	p=0,01	p=0,0005	P=0,04	P=0,003
Si	87,93±33,72	179,53±66,52	3,87±1,42	7,52±2,69
No	66,11±44,17	118,21±74,34	2,91±2,19	5,07±3,73
Child-Pugh	p=NS	p=0,05	P=NS	P=0,05
A	70,64±42,56	122,88±76,86	3,21±2,18	5,34±3,84
B/C	77,68±42,25	171,75±66,99	3,39±1,62	6,99±2,49
MELD	r=0,36; p=0,05	r=0,45; p=0,05	r=0,32; p=0,05	r=0,42; p=0,05
Bilirrubina	r=0,23; p=NS	r=0,31; p=0,05	r=0,26; p=NS	r=0,28; p=0,05
INR	r=0,25; p=0,05	r=0,41; p=0,05	r=0,21; p=0,05	r=0,34; p=0,01
Colinesterasa	r=-0,37; p=0,05	r=0,52; p=0,01	r=0,38; p=0,05	r=0,48; p=0,05
Ácidos biliares	r=0,28; p=NS	r=0,29; p=NS	r=0,32; p=0,05	r=0,37 p=0,05
AAR/AAA	r=-0,40; p=0,05	r=-0,53; p=0,01	r=-0,36; p=0,01	r=-,46; p=0,01

VIII. Relación con el desarrollo de la EH en el seguimiento.

El periodo de seguimiento fue de $25,2 \pm 15,09$ meses. El inicio del estudio (tiempo cero) se consideró con la realización del test de la SOG y el final del mismo Julio del 2003, hasta la muerte, trasplante hepático o pérdida de seguimiento. Los pacientes fueron revisados cada 6 meses en las consultas externas de digestivo.

Fallecieron 25 pacientes, lo que representa el 19,84%; 18 de causa hepática y 7 por complicaciones no relacionadas con la cirrosis hepática. Las complicaciones durante el seguimiento fueron: 22 episodios de EH (17,46%), 24 hemorragias digestivas (19,04%) por varices esofágicas, 30 ascitis (23,8%), 5 síndromes hepatorenal (3,96%), 11 peritonitis bacteriana espontánea (8,73%) y 8 carcinoma hepatocelular (6,34%). Las causas de EH fueron, estreñimiento en 3 casos, consumo de psicotropos en 3, infección en 5 casos, tratamiento diurético en 3, hemorragia digestiva en 5 casos y espontánea en 3 pacientes.

En el análisis univariante la función hepática se asoció con el desarrollo de EH mediante la relación hallada con el estadio de Child-Pugh, un 26,66% de los pacientes en estadio B desarrollaron EH en el seguimiento frente al 12,34% ($p=0,04$) en estadio A; y la relación con el índice de MELD ($14,35 \pm 6,77$ vs. $10,08 \pm 4,29$; $p=0,0005$).

No encontramos relación con la presencia de comunicaciones portosistémicas, el 13,63% de los pacientes con varices F0/F1 desarrollaron EH en el seguimiento respecto al 22,22% en el grupo con varices F2/F3 ($p=0,21$); así como los niveles de ácidos biliares fueron similares en los pacientes que desarrollaron EH y los que no ($43,15 \pm 45,73$ vs. $31,72 \pm 39,43$; $p=0,49$).

Entre los parámetros bioquímicos, los pacientes que desarrollaron EH en el seguimiento mostraron niveles superiores de bilirrubina ($2,95 \pm 2,25$ vs. $1,88 \pm 1,58$ mgr/dl), un INR más prolongado ($1,53 \pm 0,55$ vs. $1,31 \pm 0,25$), niveles superiores de colinesterasa

(3665±1673 vs. 5892±2802 U/L), niveles más elevados de manganeso plasmático (10,73±7,59 vs. 7,51±6,97 µgr/L) y un cociente AAR/AAA inferior(1,07±0,35 vs. 1,52±0,54).

En las técnicas de neuroimagen no encontramos un mayor riesgo de desarrollar EH en los pacientes con señal hiperintensa en los ganglios basales respecto a los pacientes sin la alteración estructural (log rank 0,02;p=0,89). En la RM espectroscópica los pacientes con EH en el seguimiento mostraron niveles descendidos de Mi/Cr (0,33±0,055 vs. 0,58±0,162; p=0,01) junto a niveles más elevados de Glx/Cr (0,79±0,00748 vs. 0,67±0,10; p=0,02).

Los pacientes con EHM presentaron un mayor riesgo de desarrollar EH en el tiempo con un log rank de 9,55;p=0,002; así como aquellos con la prueba de la sobrecarga oral de glutamina alterada, log rank 13,74;p=0,0002. (figura 14).

En pacientes con EHM, 11 de 25 pacientes (44%) con SOG alterada desarrolló EH en el seguimiento frente a ninguno de los 5 pacientes con SOG normal (valor predictivo positivo 60% y valor predictivo negativo del 100%). En pacientes sin EHM solamente uno de los 48 pacientes (2,08%) con SOG normal desarrolló EH, mientras que 3 de 23 (13,04%) presentó EH posteriormente (valor predictivo positivo 21% y valor predictivo negativo del 96%)(tabla 15). En el análisis de Kaplan-Meier se observaron unas diferencias altamente significativas en el riesgo de desarrollar EH en el seguimiento en aquellos pacientes con EHM y SOG alterada un 40,74% al año y 76,3% a los 3 años, respecto a pacientes con SOG normal o sin EHM 10,45% al año y del 13,29% a los 3 años (long-rank 18,25;p=0,0001)(Figura 15).

Realizamos el análisis multivariante con la regresión de Cox, incluimos como variables independientes la EHM, la SOG, el MELD, el estadio de Child-Pugh, los niveles de

colinesterasa y la interacción de SOG y EHM. La única variable independiente relacionada con el desarrollo de EH en el seguimiento fueron la presencia de EHM y SOG alterada (OR 5 95% IC: 1,72-14,28;p=0,002)(tabla 16).

Tabla 15. Análisis paralelo para la combinación de EHM y la prueba de la SOG*.

Características	Pacientes con EHM SOG	Pacientes sin EHM SOG	Todos SOG
Sensibilidad	100%	75%	93%
Especificidad	26%	70%	60%
Valor predictivo positivo	60%	21%	49%
Valor predictivo negativo	100%	96%	78%

* Utilidad de la SOG en la predicción de EH en pacientes con EHM.

Tabla 16. Análisis multivariante de regresión logística de las variables independientes relacionadas con el desarrollo de EH en el seguimiento

Variables	EH en el seguimiento			Regresión de Cox	
	Si (n=22)	No (n=104)	P	OR (95%IC)	p
Edad (años)	55,45±7,92	54,22±9,39	NS		NS
Sexo					
Varón	19	76			
Mujer	3	28	NS		NS
Bilirrubina	2,95±2,25	1,88±1,58	<0,001		NS
INR	1,53±0,55	1,31±0,25	<0,002		NS
Colinesterasa	3665±1673	5892±2802	<0,002		NS
MELD	14,35±6,77	10,08±4,29	<0,0005		NS
Manganeso	10,73±7,59	7,51±6,97	<0,04		NS
AAR/AAA*	1,07±0,35	1,52±0,54	<0,006		NS
Mi/Cr	0,33±0,055	0,58±0,162	<0,01		NS
Glx/Cr	0,79±0,00748	0,67±0,10	<0,02		NS
Child-Pugh					
A	10	71(12,,34%)			NS
B	12	33(26,66%)	<0,04		
EHM					
Si	13	25(34,21%)			NS
No	9	79(10,22%)	<0,01		
SOG					
Si	14	34(29,16%)			NS
No	1	52(1,88%)	<0,0001		
EHMSOG					
Si	11	14(44%)			
No	9	84 (5,25%)	<0,0001	5 (1,72-14,28)	0,001

*AAR/AAA: Aminoácidos ramificados/ aminoácidos aromáticos

Figura 14. Curva actuarial de Kaplan-Meier para el desarrollo de EH en el seguimiento en relación con la prueba de SOG. Los pacientes con SOG alterada muestran un riesgo significativamente mayor de desarrollar EH en el seguimiento (línea discontinua marrón) en comparación con los pacientes con un test normal (línea continua azul). Log-Rank 13,74;p=0,0002.

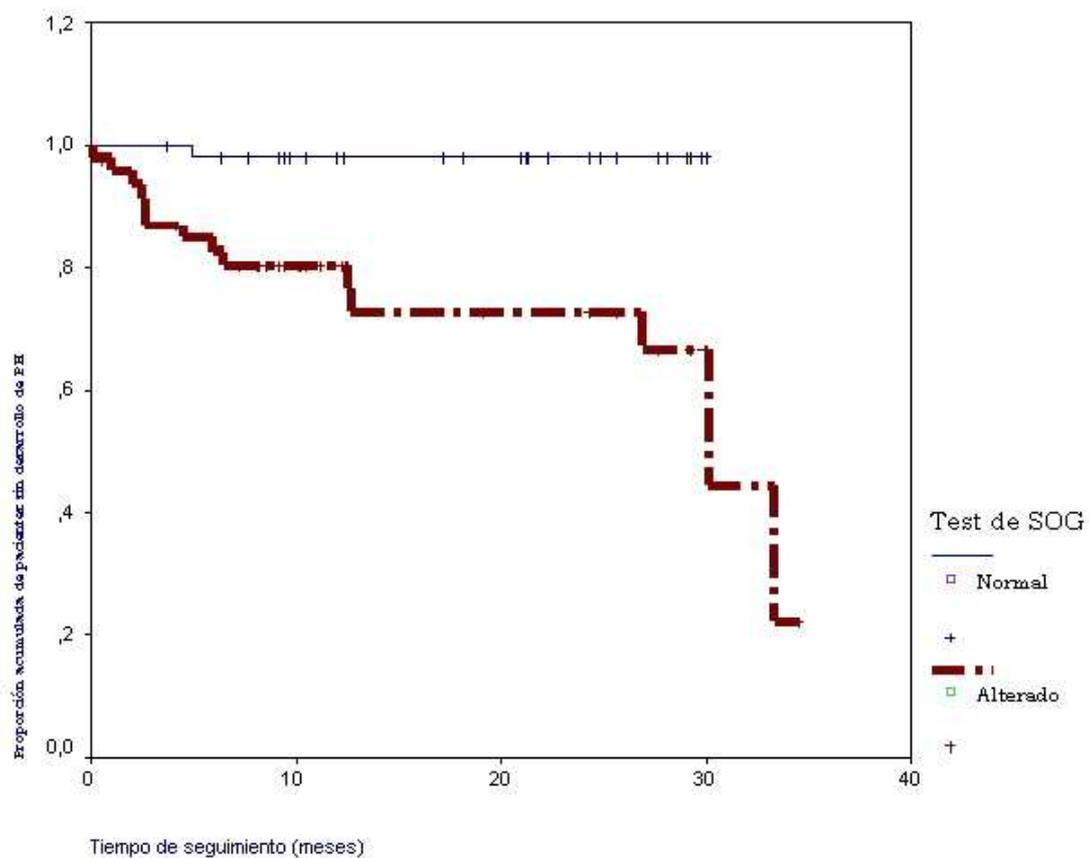
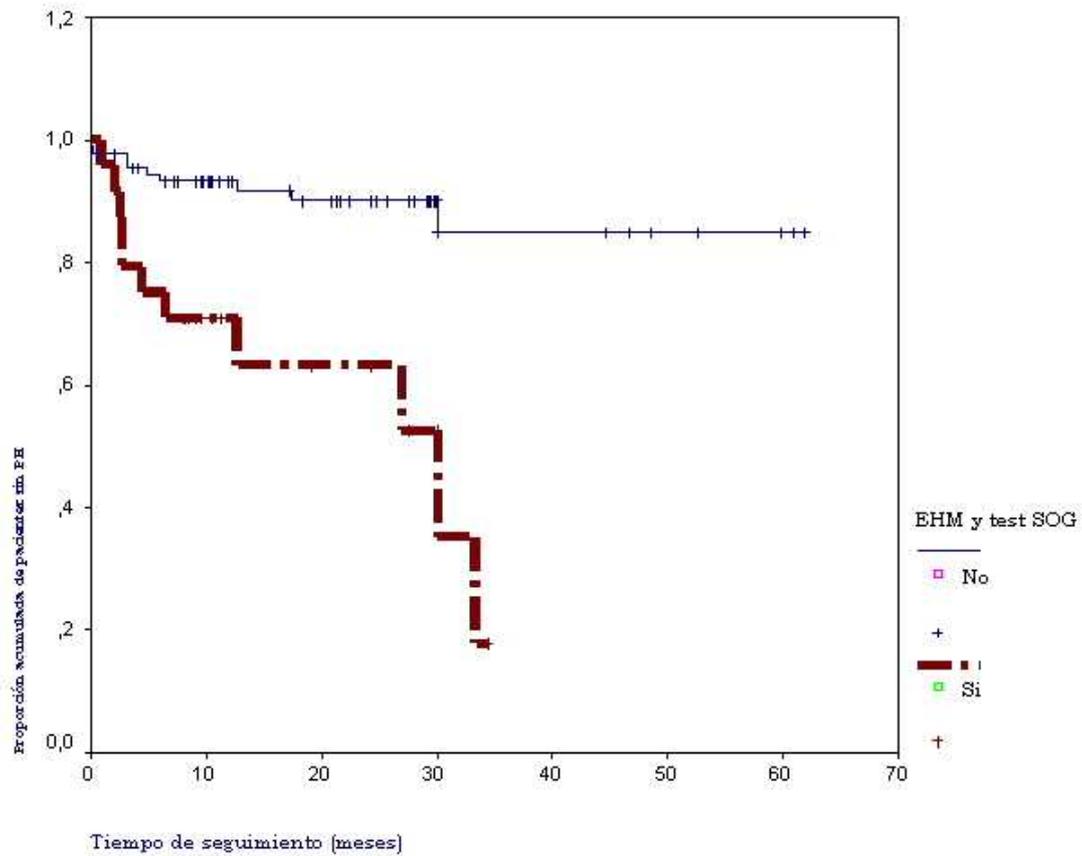


Figura 15. Curva actuarial de Kaplan-Meier para el desarrollo de EH en el seguimiento en relación con la EHM y la prueba de SOG. Los pacientes con EHM y SOG alterada muestran un riesgo significativamente mayor de desarrollar EH en el seguimiento (línea discontinua marrón) en comparación con los pacientes con una o ninguna prueba alterada (línea continua azul). Log-Rank 18,25;p=0,00001.



IX. Factores pronósticos y supervivencia

En el análisis univariante las variables asociadas con la supervivencia fueron la función hepática, valorada por el índice Child-Pugh (HR 4,30 IC95%: 1,74-10,59;p=0,001) y la puntuación de MELD (HR 1,12 95% IC : 1,07-1,18;p=0,00001).

Dentro de los parámetros bioquímicos la supervivencia se relacionó con los niveles de bilirrubina total (HR 1,28 IC95%: 1,11-1,48;p=0,0007), INR (HR 3,26 IC95%: 1,53-6,08;p=0,002), la creatinina (HR 2,49 IC95%: 1,06-5,88;p=0,03), la colinesterasa (HR 1,01 IC95%:1,00-1,02;p=0,009), ALT (HR 1,02 IC95%: 1,01-1,03;p=0,03) y el cociente AAR/AAA (HR 10,20 IC95% 2,12-50;p=0,004)(tabla 17).

Los pacientes con varices esofágicas de mayor tamaño no mostraron un acortamiento en la supervivencia (HR 1,59 IC95%:0,69-3,66;p=0,26), aunque si existió una relación entre la supervivencia y los niveles de ácidos biliares (HR 1,02 IC 95%:1,00-1,04;p=0,006), como parámetro de la presencia de comunicaciones portosistémicas.

No encontramos relación con el sexo, edad, etiología alcohólica y con las alteraciones observadas tanto en la RM como la RM espectroscópica cerebral.

La EHM no fue un factor de riesgo en la supervivencia de los pacientes con cirrosis hepática (HR 1,69 IC95%:0,75-3,80;p=0,20), sin embargo los pacientes con test de sobrecarga oral de glutamina alterada mostraron una menor supervivencia al año 80% y a los 3 años del 71% frente al 94% y 89% respectivamente en los pacientes con SOG normal (log rank 5,26;p=0,02)(figura 16).

Según el análisis univariante de Kaplan Meier, el desarrollo de EH durante el seguimiento se asoció con una acortamiento de la supervivencia (log-rank 47,45;p=0,0001). La probabilidad de supervivencia después de un episodio de EH fue del 63% % al año y del 20 % a los 3 años (figura 17).

En el análisis multivariante con la regresión de Cox, incluimos las variables EHM, la SOG, el Child-Pugh, el MELD, los niveles de colinesterasa, la ALT y la interacción de la EHM y SOG como independientes.

Las variables capaces de predecir la mortalidad fueron el estadio de Child-Pugh (OR 4,29 95% IC : 1,06-17,37 ;p=0,04) y la EHM junto a SOG alterada (OR 4,19 95% IC : 1,05-16,64;p=0,04).

La supervivencia acumulada en pacientes con EHM y test de SOG alterada, fue del 66% % al año y del 50% % a los 3 años, significativamente inferior a la de los pacientes sin EHM o con EHM y SOG normal, un 90% al año y 80% a los 3 años (long rank 6,12;p=0,01)(Figura 18).

Tabla 17. Análisis multivariante de regresión logística de las variables independientes relacionadas con la supervivencia

Variables	Supervivencia		Regresión de Cox	
	HR (95%IC)	p	OR (95%IC)	p
Edad (años)	0,99(0,95-1,04)	0,99		
Sexo	0,99(0,32-3,03)	0,98		
Bilirrubina	1,28(1,11-1,48)	0,0007		
INR	3,26(1,53-6,98)	0,002		
Colinesterasa	1,01(1,00-1,02)	0,009		
Creatinina	2,49(1,06-5,88)	0,03		
ALT	1,02(1,01-1,03)	0,03		
AAR/AAA	10,20(2,12-50)	0,004		
Ácidos biliares	1,02(1,00-1,04)	0,006		
MELD	1,12(1,07-1,18)	0,00001		
Chil-Pugh	4,30(1,74-10,59)	0,001	4,29 (1,06-17,37)	0,04
Varices esofágicas	1,59(0,69-3,66)	0,26		
SOG 128	4,22(1,11-16,03)	0,03		
SOGEHM	3,53(1,33-9,41)	0,01	4,34 (1,06-16,66)	0,04

*AAR/AAA: Aminoácidos ramificados/ aminoácidos aromáticos

Figura 16. Curva actuarial de Kaplan-Meier para la supervivencia acumulada de pacientes respecto al test de sobrecarga oral de glutamina. Los pacientes con el test de SOG alterado mostraban una supervivencia inferior (línea discontinua marrón) respecto a los pacientes con el test normal (línea continua azul). Log rank 5,26; p=0,02.

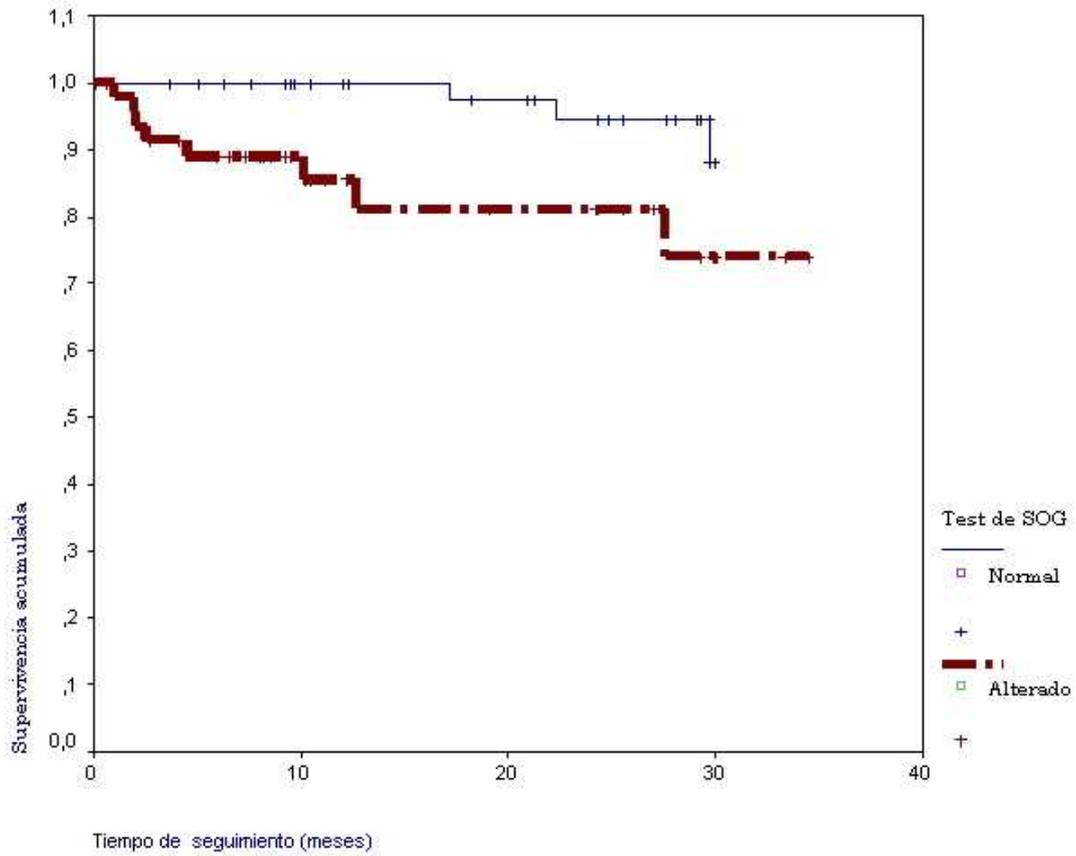


Figura 17. Curva actuarial de Kaplan-Meier para la supervivencia acumulada de pacientes respecto al desarrollo de EH en el seguimiento. Los pacientes con EH muestran una supervivencia significativamente inferior (línea discontinua marrón) en comparación con los pacientes sin EH en el seguimiento (línea continua azul). Log-Rank 47,45; $p=0,0001$.

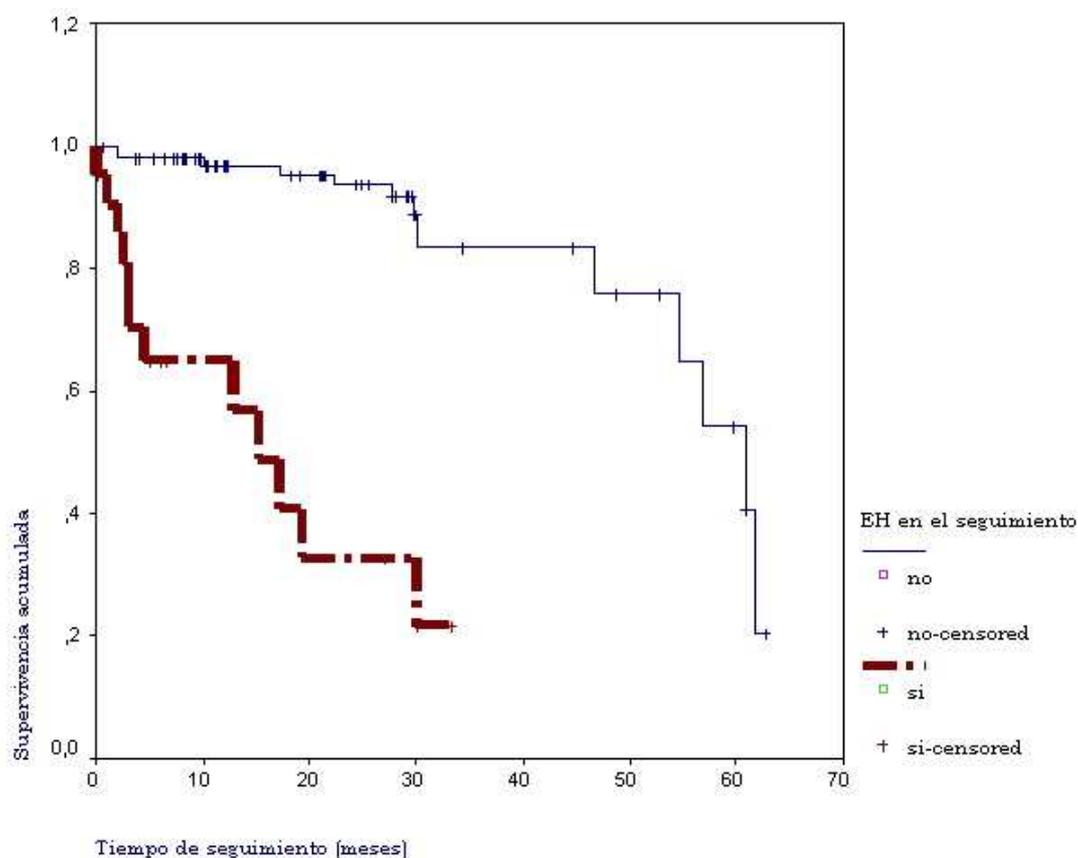
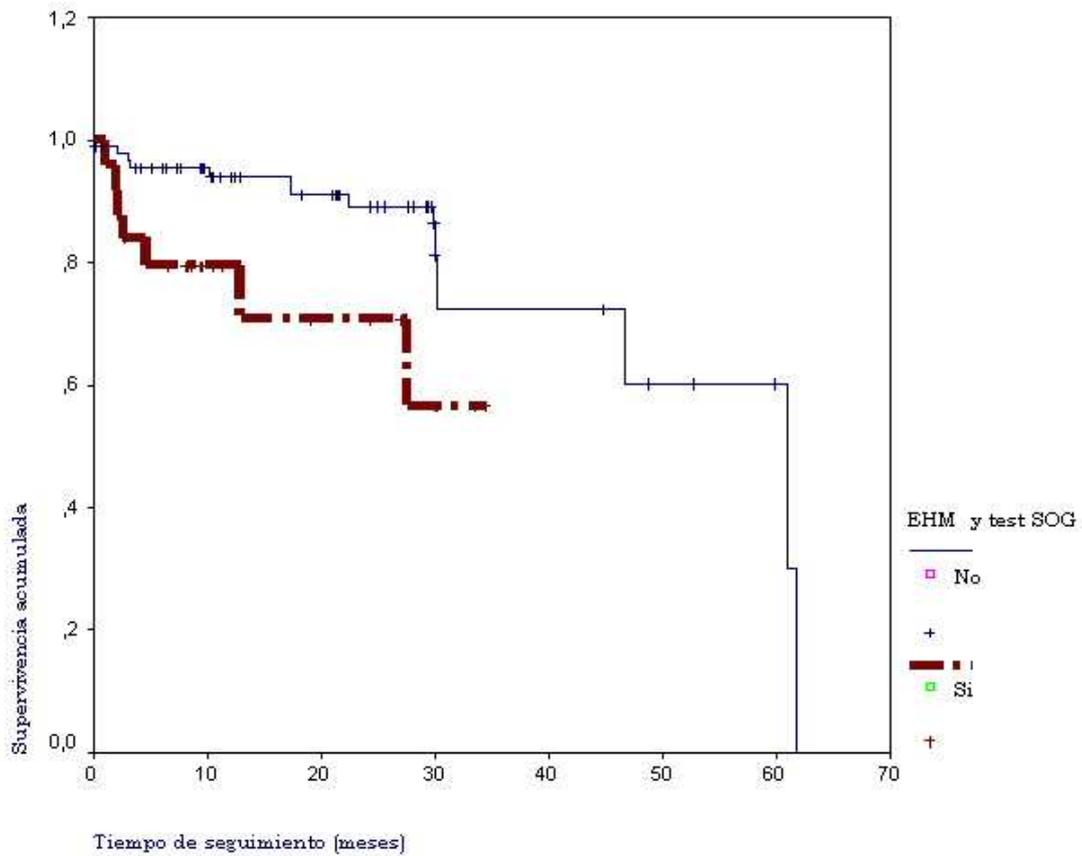


Figura 18. Curva actuarial de Kaplan-Meier para la supervivencia acumulada en relación con la EHM y la prueba de SOG. Los pacientes con EHM y SOG alterada muestran una supervivencia significativamente menor (línea discontinua marrón) en comparación con los pacientes con una o ninguna prueba alterada (línea continua azul). Log-Rank 6,12;p=0,01.



DISCUSIÓN

1.- Prevalencia de la encefalopatía hepática mínima

En nuestro estudio el 30,2% de los pacientes fueron diagnosticados de EHM, lo que está en concordancia con los descrito últimamente en la literatura, una prevalencia que oscila entre el 30-40%^{9,15}. En los estudios iniciales la prevalencia oscilaba en un rango mayor, entre el 30-84%, debido a que pocos estudios empleaban un grupo control bien caracterizado en cuanto a edad, sexo, nivel de instrucción y consumo de alcohol, pudiendo detectar falsos positivos, algunos estudios llegaron a obtener una prevalencia del 60% y 70%^{3,23}. Otros factores a tener en cuenta son el número de test psicométricos utilizados y la función hepática, es aconsejable la asociación de varios test que exploren las diferentes áreas neuropsicológicas afectadas en los pacientes con cirrosis hepática, en nuestro estudio utilizamos los tres test psicométricos más aceptados de forma habitual. Respecto a la función hepática está descrita una relación entre el número de test alterados y el estadio de Child-Pugh⁴, con una prevalencia entorno al 70%, de EHM en aquellos estudios donde el número de pacientes en estadio B/C de Child-Pugh incluidos es mayor. En nuestro trabajo, el 64,3% de nuestros pacientes se encontraban en estadio A, lo que explicaría la inferior prevalencia de EHM.

2.-Importancia de la encefalopatía hepática mínima

La trascendencia que se reconoce a la EHM es cada vez mayor, si tenemos en cuenta que se ha relacionado de forma independiente, con un mayor riesgo de desarrollar EH y con un deterioro en la calidad de vida de los pacientes con cirrosis hepática.

La relación entre la EHM y la EH es importante porque tras un primer episodio de EH aguda se ha asociado con un acortamiento de la supervivencia entorno al 25% a los 3 años, por lo tanto alteraciones neuropsicológicas podrían ser un factor pronóstico de la

supervivencia en pacientes con cirrosis hepática². Existen estudios que observan que hasta el 84% de los cirróticos que desarrollan EH en el seguimiento presentaban EHM en el estudio basal⁶. En nuestro estudio sólo el 60% de los pacientes que desarrollaron EH fueron diagnosticados de EHM en el basal, y aunque la EHM se relacionó con EH en el seguimiento, un 34,21% de los pacientes con EHM desarrollaron EH frente al 10,22% en los pacientes sin EHM, no fue un factor pronóstico para la supervivencia en pacientes con cirrosis hepática.

Respecto a la calidad de vida el mayor impacto tiene lugar en la capacidad de conducción y en el campo laboral. Wein y colaboradores⁹ observaron que los pacientes con EHM requirieron una mayor intervención del instructor para evitar accidentes, un 36%, que los pacientes sin EHM (6%) y un grupo control (8%), a raíz de estos resultados se ha recomendado que los pacientes con cirrosis hepática que conduzcan vehículos se sometan a un cribaje para la detección de EHM, con una evaluación adicional para evaluar el riesgo de accidentes en caso de presentar EHM. En la aptitud laboral, hasta el 60% de los pacientes que realizaban trabajos manuales fue considerado no apto para realizar su profesión, diferencias no encontradas cuando el trabajo requería mayor capacidad intelectual, probablemente fuese debido la preservación de la capacidad verbal de estos pacientes¹².

La disfunción hepática y la existencia de comunicaciones portosistémicas son las dos principales alteraciones relacionadas con la EHM. En el estudio los pacientes con estadio B de Child-Pugh mostraban más EHM (42%) que los pacientes en estadio A (23%) junto a un mayor índice de MELD, sin embargo no obtuvimos relación con la existencia de varices esofágicas pero sí con los niveles plasmáticos de ácidos biliares los cuales se han relacionado con la presencia de derivaciones portosistémicas ($r= 0.79$; $p<0.001$)⁹⁴.

3.- Métodos diagnósticos de la encefalopatía hepática mínima

El debate respecto al diagnóstico de la EHM continua, no se dispone de una escala uniformemente aceptada, es importante contar con una serie de pruebas que puedan utilizarse con sencillez, en poco tiempo y por hepatólogos generales, además es conocido que la asociación de varios test mejora la rentabilidad diagnóstica de la EHM. En el presente estudio el diagnóstico de EHM se realizó mediante la combinación de tres test psicométricos(test de conexión numérica, la clave de números y el diseño de cubos), utilizando un grupo control de 250 personas de nuestra población. Los tres test empleados en este estudio son los que de forma habitual desde el trabajo de Gitlin et al³ se han venido utilizando, por su sensibilidad y facilidad de uso, son el test de conexión numérica tipo A, el test de la clave de número y el diseño de cubos, sin embargo en los últimos meses se ha diseñado una batería de cinco test, se trata de la Psycométric Hepatic Encephalopathy Scores (PHES)³⁰, que reúne pruebas de fácil ejecución, con lápiz y papel y que se han seleccionado como las más sensibles y específicas para el diagnóstico de las alteraciones cognoscitivas que aparecen en la EHM, incluyen el test de la línea quebrada, el test de la serie de puntos y el TCN tipo B excluyendo el diseño de cubos, único que no se realiza con lápiz y papel. En la actualidad parecen confirmarse como la referencia para el diagnóstico de la EHM, y existe una validación de esta serie de pruebas para la población española realizada por la Red de Encefalopatía Hepática (Web: <http://mangelito.dynalias.next/redeh>).

Uno de los mayores inconvenientes de los test psicométricos es su subjetividad, en la búsqueda de pruebas que aportaran objetividad en el diagnóstico de la EHM, como el EEG, test computerizados y pruebas neurofisiológicas, surge la RM y RMs.

4.-Otros métodos diagnósticos

En los últimos años, la calidad de las exploraciones de neuroimagen se han incrementado de manera notoria, lo que permite realizar un estudio rápido y no invasivo del sistema nervioso central, capaz de determinar alteraciones estructurales, fisiológicas y bioquímicas.

1. Resonancia magnética cerebral

Entre las alteraciones estructurales descritas en la RM cerebral se encuentra la presencia de una señal hiperintensa bilateral simétrica a nivel de los ganglios basales en fase T1 de la RM, descrita en el 52-100% de los pacientes con cirrosis hepática. El 75,9% de nuestros pacientes mostraban dicha alteración, la cual se ha considerado que su presencia en ausencia de alteraciones neuropsicológicas podrían ser un marcador de EHM.

Esta anomalía aparece en pacientes con cirrosis de larga evolución y en presencia de anastomosis portosistémicas. Todos los pacientes en estadio B de Child-Pugh mostraban la alteración frente al 56,9% de los pacientes en estadio A, diferencias que hasta ahora sólo se habían descrito de forma sutil y en menos del 50% de los estudios. Sin embargo el factor independiente relacionado con la señal hiperintensa fue la existencia de comunicaciones portosistémicas, no incluyéndose la función hepática en el resultado final, pero probablemente ambos factores sean determinantes en el desarrollo de estas alteraciones, pues se ha descrito la regresión de la lesión tras el trasplante hepático⁵⁹.

Respecto a su etiopatogenia se considera que la acumulación de manganeso origina el característico incremento de la señal T1, por su determinación directa en globos pallidus en autopsias de pacientes con cirrosis hepática⁶¹ y su relación con los niveles plasmáticos de manganeso⁶⁰. En el estudio, los niveles de manganeso fueron significativamente superiores en pacientes con la alteración estructural, manteniéndose

como factor independiente en el estudio multivariante, lo que lo apoya como factor etiopatogénico. Si ésta alteración está involucrada o no tanto en la clínica como en la patogenia de la EH es actualmente objeto de debate, al igual que otros estudios no encontramos relación entre la EHM y la señal hiperintensa, se piensa que por similitud con la intoxicación crónica de manganeso podría ser el responsable de los signos parkinsonianos, como describió en su trabajo Sparh et al⁶⁸, lo que explicaría parte de los síntomas de la EH.

Respecto a su implicación en la patogenia de la EH, puede reflejar la existencia de un proceso adaptativo designado a mejorar la eficacia de la detoxificación del amonio por los astrocitos, pues dentro del SNC, este metal es uno de los componentes integrales de enzimas importantes, incluida la glutamina sintetasa, que requiere como cofactor el manganeso, importante en la detoxificación del amonio a nivel cerebral, lo que explicaría el depósito de Mn en ganglios basales.

II.- Resonancia magnética espectroscópica cerebral

La RM espectroscópica cerebral ha permitido poner de manifiesto un incremento de la concentración de glutamina cerebral, asociada a un descenso de mioinositol y de colina cerebral. Estas alteraciones bioquímicas parecen que traducen un disturbio en la osmoregulación celular, que contribuiría a la aparición de edema cerebral de bajo grado, el cual tiene un papel destacado en la fisiopatología de la EH según los estudios más recientes¹²². Como resultado de la metabolización cerebral de amonio hacia la síntesis de glutamina por la glutamina sintetasa, se produce un incremento de la glutamina astrocitaria compensada con la salida de otros osmolitos como son el mioinositol y colina. Aún no está claro si estas alteraciones son la causa del desarrollo de edema y difusión astrocitaria o es una consecuencia de la hiperamoniemia, que produciría

alteraciones en la expresión de proteínas y receptores implicados en el movimiento del agua a través de la membrana celular.

En el trabajo, los pacientes con EHM presentaron niveles significativamente inferiores de Mioinositol junto a elevados de glutamina, manteniéndose ésta relación en los pacientes que desarrollaron EH en el seguimiento, resultados que apoyarían la alteración de la osmoregulación en la patogenia de la encefalopatía hepática, en relación con el edema cerebral de bajo grado. Así mismo, está descrito la provocación de EH mínima tras la ingesta de una mezcla de aminoácidos que remedan la sangre, acompañándose de un aumento del agua cerebral⁷⁴.

Dentro de las alteraciones, se considera que el cociente mI/Cr es muy sensible para detectar EHM⁷⁷, en nuestro estudio los pacientes con EHM que desarrollaron EH en el seguimiento mantenían niveles inferiores de mI/Cr aunque sin alcanzar significación por el pequeño tamaño muestral, lo que podría reflejar un riesgo de desarrollar EH en éste subgrupo de pacientes.

No se ha podido evidenciar un origen patogénico común entre las alteraciones estructurales y bioquímicas, al ser los resultados divergentes. En el estudio, la señal hiperintensa en los ganglios basales se relacionó con los niveles descendidos de colina, así mismo los niveles de manganeso se relacionaron con el mioinositol, por lo tanto la señal hiperintensa podría considerarse una manifestación morfológica de la misma alteración patogénica. El manganeso sería la sustancia paramagnética depositada en los ganglios basales, requiriendo la existencia de comunicaciones portosistémicas, dos factores independientes en el estudio en relación con la HIGP, y un aumento de la glutamina sintetasa, enzima que como lo hemos comentado previamente, requiere manganeso como cofactor para la síntesis de glutamina como mecanismo de detoxificación del amonio cerebral.

Actualmente, la utilidad de la RM y RM espectroscópica en la EHM, permitiría atribuir el deterioro cognoscitivo a la presencia de EHM o descartar este trastorno, lo que obligaría a buscar otras posibles etiologías. También al aportar nuevos datos sobre la fisiopatología de la EH permitiría el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos, sobretodo para valorar las modificaciones en la RMs que inducen ciertos tratamientos.

5. Test de sobrecarga oral de glutamina

La EHM es la primera manifestación clínica en el estudio de la EH, ya descrito previamente en la literatura⁶. En el estudio el riesgo actuarial de desarrollar EH en pacientes con EHM fue del 22% al año y del 53% a los 3 años, por lo que podemos observar que la mitad de los pacientes con EHM no desarrollaron EH en periodos de seguimientos relativamente largos. Con el objeto de definir el subgrupo de pacientes con mayor riesgo de desarrollar EH con el tiempo, se desarrolla el test de **SOG**¹⁰⁸ el cual consiste en la medición de la hiperamoniemia venosa que se produce en algunos pacientes cirróticos tras sesenta minutos de la ingesta oral de 10gr de L-glutamina, mientras que los niveles no se modifican en los controles sanos. Ha demostrado ser una prueba segura, sin desarrollo posterior de complicaciones y de fácil realización así como objetiva. Todos estos datos descritos previamente^{105,108}, son confirmados en el estudio, tanto la falta de efectos secundarios como la ausencia de elevación de la amoniemia en controles sanos, puede ser por tanto útil en el diagnóstico de EHM.

El mecanismo por el cual se eleva el amonio podría deberse a la interacción por un lado del deterioro en la capacidad de detoxificación del amonio en el hígado por la disfunción hepática, junto a la existencia de comunicaciones portosistémicas que evitan el paso del amonio por el hígado, y todo ello unido a la existencia de una hiperactividad glutaminasa del enterocito. En el estudio la SOG se relacionó tanto con el tamaño de las

varices esofágicas como con los niveles de ácidos biliares, lo que apoya el papel de las comunicaciones portosistémicas en la patogenia de la hiperamoniemia tras la sobrecarga oral de glutamina, así como la importancia de la disfunción hepática al encontrar relación con el estadio de Child-Pugh y con el índice de MELD. Respecto al último punto, está descrito que la actividad glutaminasa es cuatro veces superior en cirróticos que en controles sanos y dichos valores se correlacionan con la EHM, el test de SOG y la concentración intracerebral de glutamina, lo que implica al intestino delgado en la hiperamoniemia tras la sobrecarga oral de glutamina, que podría formar parte en la patogenia de la EH por inducción de hipereamoniemia en el sistema portal¹²³, independientemente del metabolismo bacteriano en el colon.

Nosotros pudimos observar que el test de sobrecarga oral no es más útil para el diagnóstico de EHM que los test psicométricos, pues 23 pacientes de 71 sin EHM presentaban un test alterado, lo que implicaría falsos positivos, así como al igual que la EHM, los pacientes con el test de sobrecarga oral alterado aunque mostraban un riesgo significativamente mayor de desarrollar EH en el seguimiento (log rank 13,74;p=0,002), observamos que hasta el 70% de los pacientes con SOG alterada no desarrollaron EH posteriormente en comparación con el 47% en los pacientes diagnosticados de EHM, con un valor predictivo positivo de la prueba bajo, del 49% y del 93% el valor predictivo negativo.

Una de las hipótesis que se barajan en la patogenia de la EH, es la triada amonio/glutamina/edema cerebral de bajo grado, esta hipótesis sugiere que el acúmulo de glutamina en los astrocitos debido a la hiperamoniemia produce una alteración en la osmoregulación que determina edema intracelular lo que conlleva la disfunción de los astrocitos. Recientemente Balata et al⁷⁴, han documentado esta hipótesis, al observar que tras la hiperamoniemia inducida por la administración oral de un preparado de

aminoácidos que remeda la sangre, se asocia a un incremento de los niveles de Glx/Cr en la RM espectroscópica cerebral junto a un descenso de la tasa de transferencia de magnetización medida por la RM cerebral, la cual se relaciona con la existencia de edema cerebral de bajo grado, y una alteración en la función neuropsicológica medida por los test psicométricos, los autores concluyen que el edema cerebral es el responsable del deterioro cognoscitivo leve. En nuestro estudio, encontramos una relación entre el test de sobrecarga oral de glutamina y el diagnóstico de EHM, así mismo aquellos pacientes con el test alterado mostraban niveles significativamente superiores de Glx/Cr por RMs cerebral manteniéndose dichas diferencias en aquellos que desarrollaron EH en el seguimiento, estos datos podrían ir en concordancia con la hipótesis del amonio/glutamina/edema cerebral de bajo grado, en relación con la hiperamoniemia inducida por la sobrecarga oral de glutamina.

6.- Presión parcial de amonio

En los últimos años se han desarrollado nuevos conceptos en la fisiopatología de la EH, con una mayor evidencia del papel del amonio. La hipereamoniemia deriva por un lado de la producción intestinal y renal a través de la enzima glutaminasa^{115,122}, junto a un descenso de la eliminación hepática por la disfunción de la misma, unido a una disminución de la saturación de la eliminación muscular de amonio. Aunque la correlación entre los niveles de amonio y la gravedad de la EH se ha detectado en algunos estudios, en otros no se detecta dicha correlación y además más de la mitad de los pacientes sin EH presenta hiperamoniemia. En el estudio sólo el test del diseño de cubo se relacionó con el test de tolerancia al amonio. Estas discrepancias pueden explicarse porque el amonio existe en forma gaseosa y en forma iónica y su proporción depende del pH, y el pH influye en la capacidad neurotóxica del amonio. El paso del

amonio desde la sangre hasta el cerebro a través de la barrera hematoencefálica depende entre varios factores del pH sanguíneo, estando aumentado en situaciones de alcalosis, por lo tanto concentraciones similares de amonio plasmático pueden jugar un papel diferente en el desarrollo de EH. En el trabajo determinamos la presión parcial de amonio, consistente en la concentración del amonio según el pH plasmático, basal y a los 60 minutos, no aportando nuevos resultados su determinación al igual que otro estudio, en el cual comprobaron que la amoniemia arterial, venosa y la presión parcial de amonio mostraban un valor similar de correlación con el grado de EH¹²⁴, por lo tanto la presión parcial de amonio no aporta mejoras en el diagnóstico y estudio de la EHM, la amoniemia venosa aunque imperfecta puede ser suficiente en el manejo de pacientes con EHM y con EH. Así mismo en el estudio observamos que en los nueve pacientes con un pH más alcalino (<7,45) existía una relación con la amoniemia basal y a los sesenta minutos así como con el índice de MELD. Todos estas condiciones podrían explicar la variabilidad de resultados comunicados respecto a la relación de los niveles de amonio y el grado de EH.

7.- Encefalopatía hepática en el seguimiento

Aunque los pacientes con EHM muestran un riesgo significativamente mayor de desarrollar EH posterior, más de la mitad de estos pacientes no la llegan a desarrollar. Como comentamos previamente, la SOG podría ser capaz de seleccionar en el grupo de pacientes con EHM aquellos con mayor riesgo de desarrollar EH a corto plazo. En el presente estudio el test de SOG alterado en pacientes con EHM se asoció a un mayor riesgo de desarrollar EH, el 44% de los pacientes con el test alterado desarrolló EH frente al 0% en el grupo de pacientes con el test normal, con un valor predictivo positivo del 60% y del 100% el valor predictivo negativo. EL riesgo actuarial de

desarrollar EH en el seguimiento en pacientes con EHM y test de SOG alterado fue del 40,74% en el primer año y hasta del 76% a los tres años, superior al descrito previamente si consideramos solamente la EHM. Por lo tanto el test de sobrecarga oral aporta un mejor valor predictivo positivo y negativo, lo que lo hace más útil, que si utilizamos sólo el diagnóstico de EHM. Nos permite seleccionar aún mejor al subgrupo de pacientes con EHM con mayor riesgo de desarrollar EH a corto plazo.

Hasta ahora, la EHM junto a la disfunción hepática son las variables asociadas con el desarrollo de EH, en el estudio inicial univariante si encontramos una relación con la función hepática valorado mediante el estadio de Child-Pugh y el índice de MELD relaciones que no se mantuvieron en el multivariante, sino que identificamos la existencia de un test de SOG alterado en pacientes con EHM como el único factor independiente para predecir EH en el seguimiento. Estos resultados pueden implicar un papel del test de SOG como un test de función hepática.

Este test podría ser utilizado en el manejo de pacientes con EHM y ayudar a valorar el riesgo de desarrollar EH.

8.- Estudio de supervivencia

Está aceptado que el desarrollo de EH conlleva un acortamiento en la supervivencia de los pacientes con cirrosis hepática. En el presente estudio la supervivencia tras un primer episodio de EH en el tiempo fue del 63% en el primer año y del 20% a los tres años, es algo superior a la descrita en la literatura, sobretodo en el primer año de seguimiento², las diferencias pueden ser explicadas en base al mejor manejo clínico del paciente con cirrosis hepática y de sus complicaciones, como son la hemorragia digestiva alta, peritonitis bacteriana espontánea, el síndrome hepatorenal, y los factores

precipitantes de la EH, así como la mayor inclusión de pacientes en estadio A de Child-Pugh en nuestra serie, el 64% frente al 20% en estadio A en estudios previos.

Si tenemos en cuenta la relación hallada entre la EHM y el riesgo de desarrollar EH posteriormente, debería esperarse que la EHM fuese un factor pronóstico para la supervivencia, sin embargo en nuestro estudio al igual que otros⁵ no fue un factor predictor de supervivencia, sino que, en el estudio multivariante las dos variables independientes predictoras de la supervivencia fueron la función hepática y la existencia de un test de sobrecarga alterado en pacientes con EHM.

Uno de los datos a remarcar en el estudio, es que después de clasificar a los pacientes en dos grupos de acuerdo a la existencia de un test de SOG alterado en pacientes con EHM frente al resto de pacientes, la supervivencia de los pacientes con EHM y con test de SOG alterado fue más baja, del 66% al año y del 50% a los 3 años que la comunicada para los pacientes que sufren un transplante hepático, del 80% al año y del 70% a los 3 años. De esta comparación se deduce que el test de SOG puede ser útil en identificar a candidatos para el transplante hepático, antes de que ocurran episodios de EH, con la morbimortalidad que es asociada a ésta complicación, sobre todo valorando el grado de disfunción hepática. Una supervivencia inferior al 50% a los 3 años en pacientes con EHM y SOG alterada, podría ser suficiente evidencia para desarrollar EH y ser incluido en lista de transplante. Sin embargo esta proposición necesita confirmación con futuros estudios.

Diferentes drogas como el lactitol¹²⁵ y la L-ornitina-L-aspartato¹²⁶ han demostrado reducir la hiperamonemia seguida de la ingesta de glutamina. Por lo tanto, se podría plantear cuando un tratamiento prolongado podría normalizar el incremento del amonio tras la ingesta de glutamina, lo que se traduciría en un impacto sobre la supervivencia en

pacientes con cirrosis, para contestar esta pregunta es necesario diseñar nuevos estudios utilizando un grupo randomizado controlado.

CONCLUSIONES

- 1.-La prevalencia en nuestra área de EHM en pacientes con cirrosis hepática fue del 30,2%.
- 2.-En la patogenia de la EHM está implicada la disfunción hepática y las comunicaciones portosistémicas, por la relación hallada con el estadio de Child-Pugh y con los niveles de ácidos biliares.
- 3.-Los test psicométricos son los más útiles para el diagnóstico de EHM, que junto al test de SOG deben formar parte en el manejo de los pacientes con cirrosis hepática.
- 4.-Más de la mitad de los cirróticos presentan una señal hiperintensa bilateral y simétrica a nivel de los ganglios basales en la RM cerebral potenciada en T1, donde el manganeso es el factor etiopatogénico requiriendo la existencia de comunicaciones portosistémicas.
- 5.-Dentro de la triada característica de la encefalopatía hepática observada en la RM espectroscópica cerebral, los niveles descendidos de mioinositol y elevados de glutamina se relacionan con la EHM y parecen reflejar un riesgo de EH clínica en el seguimiento, así como con los pacientes con EHM y test de sobrecarga oral de glutamina alterado.
- 6.-La señal hiperintensa en los ganglios basales se relaciona con las alteraciones bioquímicas de la RMs, lo que podría considerarse una manifestación morfológica de la misma alteración patogénica.
- 7.-La utilidad de la RM y RM espectroscópica en la EHM, sería en el diagnóstico diferencial con otras etiologías, así como en el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos .

8.-La presión parcial de amonio no aporta nada a la amoniemia venosa, por lo tanto la amoniemia venosa aunque imperfecta puede ser suficiente en el manejo de pacientes con EHM

9.-El desarrollo de encefalopatía hepática comporta un mal pronóstico por la baja supervivencia.

10.-La prueba de la sobrecarga oral selecciona al grupo de pacientes con EHM que tienen un mayor riesgo de desarrollar EH en el tiempo, con una mayor mortalidad, y por ello, podría ser útil en la selección de los candidatos a trasplante hepático.

RESUMEN

En el momento actual sabemos que la EHM es la primera manifestación clínica en el espectro de la EH. Para su diagnóstico contamos con una batería de test psicométricos estandarizados que se pueden aplicar en 15 minutos, la prevalencia de las alteraciones detectadas en los test es muy superior al número de episodios de EH clínica a corto plazo, de forma que si bien los pacientes sin datos de EHM no sufren EH en el seguimiento, son muchos los pacientes que a pesar de tener pruebas alteradas, no desarrollaran EH. Esto puede deberse a dos factores principalmente, por un lado a que los seguimientos siguen siendo cortos y no podemos predecir si estos pacientes en seguimientos suficientemente largos desarrollarían encefalopatía o no y, por otro lado, podría relacionarse con una falta de especificidad de estas pruebas, lo que requeriría el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos que permitan conocer el riesgo de EH en cada paciente.

En los últimos años, diversas exploraciones de neuroimagen se han utilizado en el estudio de la EH, aunque no se conoce el significado fisiopatológico de las alteraciones detectadas por la RM cerebral y la RM espectroscópica, las dos hipótesis más apoyadas son una alteración de la osmoregulación a nivel cerebral y por otro un trastorno del metabolismo energético. Son necesarios futuros estudios utilizando la RM/RMs cerebral para obtener información de la función cerebral y bioquímica, con el propósito de conocer la patogenia de la EH y evaluar el efecto de un tratamiento, ya que en el momento actual sólo disponemos de escasos estudios, con tamaños muestrales pequeños y resultados conflictivos, con pequeños grupos control y sin un criterio diagnóstico claro de EHM.

En nuestro estudio desarrollamos una nueva prueba diagnóstica que nos permita, evaluar el riesgo de EH en los pacientes con cirrosis hepática en relación con la EHM,

así como conocer el impacto de la misma en la supervivencia de los pacientes con cirrosis hepática.

Por otro lado valoramos el rendimiento diagnóstico de la RM/RMs en la EHM con el test psicométricos, así como conocer el significado fisiopatológico de las alteraciones presentes en ambas mediante su relación con el metabolismo nitrogenado, función hepática, hipertensión portal y manganeso.

Para ellos estudiamos 126 pacientes con cirrosis hepática compensada de diversas etiologías. La EHM fue diagnosticada utilizando tres test psicométricos. El amonio venoso fue medido basal y a los 60 minutos de la ingesta de 10gr de glutamina por vía oral. El estudio de RM cerebral fue realizado en 58 pacientes presentando señal hiperintensa en los ganglios basales el 75,9% y el estudio de RM espectroscópica en 28 pacientes, los cuales mostraron la triada característica (descenso de los niveles de Mi/Cr y Cho/Cr junto a elevación de los niveles de Glx/Cr. La media de seguimiento fue de 25,2 meses, de los cuales 22 desarrollaron EH en el seguimiento y 18 murieron en relación con causas hepáticas. De los 126 pacientes 38 fueron diagnosticados de EHM y 48 de 101 pacientes mostraron el test de SOG alterado. La EHM (OR: 8,33; 95% IC, 2,72-41,37; $p=0,001$) y el índice de MELD (OR: 1,36; 95% IC, 1,16-1,63; $p=0,0002$) fueron las dos variables independientes relacionadas con el test de SOG. Los niveles elevados de manganeso (OR: 1,3; 95% CI: 1,01-1,72; $p=0,04$) y la presencia de comunicaciones portosistémicas (OR: 1,13; 95% CI: 1,83-71,42; $p=0,008$) fueron los dos factores independientes implicados en la patogenia de la señal hiperintensa bilateral de la RM cerebral. Los pacientes con EHM y SOG alterado mostraron niveles descendidos de Mi/Cr ($0,37\pm 0,09$ vs $0,59\pm 0,16$; $p=0,01$) junto a niveles elevados de Glx/Cr ($0,77\pm 0,10$ vs. $0,66\pm 0,09$; $p=0,01$), medidos mediante la RM espectroscópica cerebral. En el análisis multivariante la presencia de EHM y test de SOG alterado (OR 5

95%IC: 1,72-14,28; $p=0,002$) fue independientemente relacionado con el desarrollo de EH en el seguimiento, estos pacientes mostraron un riesgo significativamente mayor de EH en el tiempo(long-rank 18,25; $p= 0,0001$). La supervivencia entre los pacientes que desarrollaron EH fue del 63% al año y del 20 % a los 3 años respecto a la supervivencia del 93% el año y del 83% a los 3 años en los que no la desarrollaron (log-rank 47,45; $p=0,00001$). Los pacientes con EHM y test de SOG alterado tuvieron un elevado riesgo de mortalidad (log-rank 6,12; $p=0,001$). En el análisis multivariante el estadio de Child-Pugh(OR 4,29 95% IC: 1,06-17,37; $p=0,04$) y la EHM junto a SOG alterada (OR 4,19 95% IC: 1,05-16,64; $p=0,04$)fueron los dos factores independientes predictores de la mortalidad en los pacientes con cirrosis hepática.

Concluimos que los niveles descendidos de mioinositol y elevados de glutamina se relacionan con la EHM y parecen reflejar un riesgo de EH clínica en el seguimiento, sobretodo en los pacientes con EHM y test de sobrecarga oral de glutamina alterado. El manganeso es el factor etiopatogénico de la señal hiperintensa bilateral en los ganglios basales descrita en la RM cerebral, requiriendo la existencia de comunicaciones portosistémicas. La prueba de la sobrecarga oral selecciona al grupo de pacientes con EHM que tienen un mayor riesgo de desarrollar EH en el tiempo, con una mayor mortalidad, y por ello, podría ser útil en la selección de los candidatos a trasplante hepático.

BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT et al. Hepatic encephalopathy- Definition, Nomenclature, Diagnosis, and Quantification: Final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology* 2002; 35(3): 716-721.
- ² Bustamante J, Rimola A, Ventura PJ, Navasa M, Cirera I, Reggiardo V et al. Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1999; 30(5):890-895
- ³ Gitlin N, Lewis DC, Hinkley L. The diagnosis and prevalence of subclinical hepatic encephalopathy in apparently healthy, ambulant, non-shunted patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1986; 3: 75-82.
- ⁴ Das A, Dhiman RK, Saraswat VA, Verma M, Naik SR. Prevalence and natural history of subclinical hepatic encephalopathy in cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16(5):531-535.
- ⁵ Hartmann IJ, Groeneweg M, Quero JC, Beijeman SJ, de Man RA, Hop WC et al. The prognostic significance of subclinical hepatic encephalopathy. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(8):2029-2034.
- ⁶ Romero-Gómez M, Boza F, García-Valdecasas MS, García E, Aguilar-Reina J. Subclinical Hepatic Encephalopathy Predicts The Development Of Overt Hepatic Encephalopathy. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2718-23.
- ⁷ Schomerus H, Hamster H, Blunck V et al. Latent portasystemic encephalopathy. I. Nature of cerebral functional defects and their effect on fitness to drive. *Dig Dis Sci* 1981; 26: 622-630.

-
- ⁸ Srivastava A, Mehta R, Rothke SP et al. Fitness to drive in patients with cirrosis and portal-systemic shunting: a pilot study evaluating driving performance. *J Hepatol* 1994; 21: 1023-1028.
- ⁹ Wein C, Koch H, Popp B, Oehler G, Schauder P: Minimal Hepatic encephalopathy impairs fitness to drive. *Hepatology* 2004; 39: 739-745.
- ¹⁰ Groeneweg M, Quero JC,. De Bruijn I et al. Subclinical hepatic encephalopathy impairs daily functioning. *Hepatology* 1998; 28: 45-49.
- ¹¹ Groeneweg M, Moerland W, Quero JC, Hop WCJ, Krabbe PF, Shalm SW. Screening of subclinical hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2000;32:748-753.
- ¹² Schomerus H, Hamster W. Quality of life in cirrhotics with minimal hepatic encephalopathy. *Metabolic Brain Disease* 2001; 16:37-41.
- ¹³Weissenborn K, Heidenreich S, Ennen J, Ruckert N, Hecker H. Attention deficits in minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2001; 16(1-2):1319.
- ¹⁴ Weissenborn K, Ruckert N, Hecker H, Manns MP. The number connection test A and B: interindividual variability and use for the assesment of early hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 1998;28:646-653.
- ¹⁵ Kircheis G, Wettstein M, Timmermann L, Schitzler A, Haussinger D. Critical flicker frequency for quantificaton of low grade hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2002;35:357-366
- ¹⁶ Zeegen R, Drinkwater JE, Dawson AM. Method for measuring cerebral dysfunction in patients with liver disease. *Br Med J* 1970; 2. 633-636.
- ¹⁷ Conn H.O. Trailmaking and number connection test in the assessment of mental state in portal systemic encephalopathy. *Dig Dis* 1977;22(6):541-550.

-
- ¹⁸ Zeneroli ML, Ciono G, Ventura P, Russo AM, Venturini I, Casalgrandi G, et al. Interindividual variability of the number connection test. *J Hepatol* 1992; 15: 263-4.
- ¹⁹ Tarter RE, Hegedus AM, Van Thiel DH, et al. Nonalcoholic cirrhosis associated with neuropsychological dysfunction in the absence of overt evidence of hepatic encephalopathy. *Gastroenterology* 1984;86: 1421-1427.
- ²⁰ Davies ADM. The influence of age and intelligence on trailmaking test performance. *J Clin Psychol* 1968; 24: 96-98.
- ²¹ Quero JC, Hartmann J.C, Meulstee J, Hop WIC, Schalm S.W: The Diagnosis of subclínica Hepatic Encephalopathy in Patients with cirrhosis using neuropsychological test and automated electroencephalogram analysis. *Hepatology* 24(3): 556-560, 1996.
- ²² Ralph TE, Switala J, Arria A, Plail J, Van Thiel DH. Subclinical hepatic encephalopathy. *Transplantation* 1990; 50: 632-637.
- ²³ Rikkers L, Jenko P, Rudman D, Freides D. Subclinical Hepatic Encephalopathy: Detection, Prevalence and Relationship to Nitrogen Metabolism. *Gastroenterology* 1978;75:462-469.
- ²⁴ Gilberstadt SJ, Gilberstadt H, Zieve L, Bueguel B, Collier RO, Mc Clain CJ. Psychomotor performance defects in cirrhotic patients without overt encephalopathy. *Arch Intern Med* 1980; 140: 519-521.
- ²⁵ Mc Crean M, Cordoba J, Vessey G, Blei AT, Randolph C. Neuropsychological characterization and detection of subclinical hepatic encephalopathy. *Arch Neurol* 1996; 53: 758-763.
- ²⁶ Amodio P, Del Piccolo F, Marchetti P, Angeli P, Iemmolo R, Caregaro L, Merkel C, Gerunda G, Gatta A. Clinical features and survival of cirrhotic patients with subclinical

cornitive alterations detected by the number connection test and computerized psychometric test. *Hepatology* 1999;29:1662-7.

²⁷ Amodio P, Marchetti P, Piccolo F, Campo G, Rizzo C, Iemmolo RM et al. Visual attention in cirrhotic patients: A study on covert visual attention orienting. *Hepatology* 1998;27: 1517-1523.

²⁸ Marchesini G, Zoli M, Dondi C, Cecchini L, Angiolini A, Bianchi FB, Pisi E. Prevalence of Subclinical Hepatic Encephalopathy in Cirrhotics and Relationship to Plasma Amino Acid Imbalance. *Dig Dis Sci* 1980;25: 763-768.

²⁹ Lockwood AH, Murphy BW, Donnelly KZ, Mahl TC, Perini S. Positron-emission tomographic localization of abnormalities of brain metabolism in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology* 1993;18(5): 1061-1068.

³⁰ Weissenborn K, Ennen JC, Schomerus H, Ruckert N, Hecker H. Neuropsychological characterization of hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2001; 34(5):768-773.

³¹ Amodio P, Marchetti P, Del Piccolo C, Iemmolo RM, Caregaro L, Gerunda G, Gatta A. Study on the sternberg paradigm in cirrhotic patients without overt hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 1998;13(29):159-72.

³² Perez-Cuadrado E, Silva Gonzalez C, Robles Reyes A. Variabilidad y alargamiento del tiempo de reacción en el diagnóstico precoz de la encefalopatía hepática subclínica. *Rev. Esp. Enf. Digest.* 1990; 77(1): 29-32.

³³ Quero JC, Schalm SW. Subclinical hepatic encephalopathy. *Seminars in liver disease* 1996; 16(3): 321-328.

³⁴ Amodio P, Marchetti P, Del Piccolo F, De Tourtchaninoff M, Varghese P, Zuliani C, Campo G, Gatta A, Guerit JM. Spectral versus visual EEG analysis in mild hepatic encephalopathy. *Clin Neurophysiol* 1999;110(8):1334-44.

-
- ³⁵ Chiappa KH, Gill EM, Lentz KE. Effect of check size on P100 latency. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1.985; 61:29-30.
- ³⁶ Weissenborn K, Scholz M, Hinrichs H, Wiltfang J, Schmidt FW, Kunkel H. Neurophysiological assesment of early hepatic encephalopathy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1990;75:289-295.
- ³⁷ Romero Gómez M, Boza F, Garcia-Valdecasas MS, et alo. Is subclinical hepatic encephalopathy a condition for further episodes of overt hepatic encephalopathy. *Hepatology* 1998;98:345A.
- ³⁸ Yang SS, Chu NS, Liaw YF. Brainstem auditory evoked potentials in hepatic encephalopathy. *Hepatology* 1.986; 66: 1.352-1.355.
- ³⁹ Tarter RE, Sclabassi RJ, Sandford SL, Hays AL,Carra JP, Van Thiel DH. Relationship between hepatic injury status and event related potentials. *Clin Electroencephal* 1.987; 18: 15-19.
- ⁴⁰ Martines D, Martini A, Battalgia G, et al. Brain auditory evoked responses in the clinical evaluation of hepatic encephalopathy. In: Kleinberger G, Ferenci P, Riederer P, et al., eds. *Advances in hepatic encephalopathy and urea cycle diseases*. Basal: Karger, 1.984;430-5.
- ⁴¹ Rosa H, Tolentio MAS, Rosa RCM. Auditory evoked potentials in cirrhosis. *Proceedings of the IASL meeting at Caracus*; 1.986, A135.
- ⁴² Mehndiratta MM, Sood GK, Sarin SK, Gupta M. Comparative evaluation of visual, somatosensory and auditory evoked potentials in the detection of subclinical hepatic encephalopathy in patients with nonalcoholic cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1.988;83:8-11.

-
- ⁴³ Kullmann F, Hollerbach S, Holstege A, Schölmerich J. Subclinical hepatic encephalopathy: The diagnostic value of evoked potentials. *J Hepatol* 1995;22:101-110.
- ⁴⁴ Yen CL. Somatosensory evoked potentials and number connection test in detection of subclinical hepatic encephalopathy. *Hepatogastroenterol* 1990;37:332-334.
- ⁴⁵ Halgren E, Squires NK, Wilson CL, et al. Endogenous potentials generated in the human hippocampal formation and amygdala by infrequency events. *Science* 1980; 210: 803-05.
- ⁴⁶ Goodin DS, Aminoff MJ. Electrophysiological differences between subtypes of dementia. *Brain* 1986; 109: 1.103-1.114.
- ⁴⁷ Hollerbach S, Kullmann F, Fründ R, Lock G, Geissler A, Schölmerich J, Holstege A. Auditory event-related cerebral potentials (P300) in hepatic encephalopathy-topographic distribution and correlation with clinical and psychometric assessment. *Hepato-gastroenterol* 1997; 44: 1.002-1.012.
- ⁴⁸ Davies MG, Rowan MJ, MacMathina P, Keeling PWN, Weir DG, Feely J. The auditory P300 event related potential: an Objective marker of the encephalopathy of chronic liver disease. *Hepatology* 1990; 12: 688-694.
- ⁴⁹ Kugler CF, Lotterer E, Petter J, Wensing G, Taghavy A, Hahn EG, Fleig W. Visual Event-Related P300 Potentials in Early Portosystemic Encephalopathy. *Gastroenterology* 1992;103:302-310.
- ⁵⁰ Kulisevsky J, Pujol J, Balanzo J, Junqué C, Deus J, Capdevilla A, Villanueva C. Pallidal hyperintensity on magnetic resonance imaging in cirrhotic patients: clinical correlation. *Hepatology* 1992;16:1382-1388.

-
- ⁵¹ Krieger D, Jaub M, Jansen O, Stiehl A, Sauer P, Geilbler M et al. MRI findings in chronic hepatic encephalopathy depend on portosystemic shunt: results of a controlled prospective clinical investigation. *J Hepatol* 1997; 27:121-126
- ⁵² Pujol A, Pujol J, Graus F, Rimola A, Peri J, Mercader JM, García Pagán JC, Bosch J, Rodes J. Hyperintense globus pallidus on T1-weighted MRI in cirrhotic patients is associated with severity of liver failure. *Neurology* 1993; 43; 65-69.
- ⁵³ Uchino A, Hasuo K, Matsumoto S, Masuda K. Cerebral magnetic Resonance imaging of liver cirrhosis patients. *Clinical Imaging* 1994;18; 123-130.
- ⁵⁴ Inoue E, Hor S, Narumi Y, Fujita M, Kuriyama K, Kadota T, Kuroda C. Portal-systemic encephalopathy: presence of basal ganglia lesions with high signal intensity on Mr images. *Radiology* 1991;179:551-555.
- ⁵⁵ Taylor-Robinson SD, Oatridge A, Hajnal JV, Burroughs AK, McIntyreN, Soza NM. MR imaging of the basal ganglia in chronic liver disease: correlation of T1-weighted and magnetisation transfer contrast measurements with liver dysfunction and neuropsychiatric status. *Metab Brain Dis* 1995; 10;175-188.
- ⁵⁶ Thuluvath PJ, Edwin D, Yue NC, de Villiers C, Hochman S, Klein A. Increased signals seen in globus pallidus in T1-weighted magnetic resonance imaging in cirrhotics are not suggestive of chronic hepatic encephalopathy. *Hepatology* 21;440-442:1995.
- ⁵⁷ Weissenborn K, Ehrenheim CH, Hori A, Kubicka S, Manns MP. Pallidal lesions in patients with liver cirrhosis: clinical and MRI evaluation. *Metab Brain Dis* 10;219-238:1995.
- ⁵⁸ Brunberg JA, Kanal E, Hirsch W, Van Thiel DH. Chronic acquired hepatic failure:MR imaging of the brain at 1.5T. *Am J Neuro Radiol* 12:909-914:1991.

-
- ⁵⁹ Levy LM, Yang A, Kumar AJ, Hennigar R, Rothstein J, Bryan RN. The brain and hepatic failure:MR abnormalities (abstract). *Am J Neuro Radiol* 10:904;1989.
- ⁶⁰ Pujol A, Graus F, Peri J., Mercader JM, Rimola A. Hyperintensity in the globus pallidus on T1-weighted and inversion-recovery MRI: a possible marker of advanced liver disease. *Neurology* 41;1526-1527:1991.
- ⁶¹ Spahr L, Butterworth RF, Fontaine S, Bui L, Therrien G, Milette PC, et al. Increased blood manganese in cirrhotic patients: Relationship to pallidal magnetic resonance signal hyperintensity and neurological symptoms. *Hepatology* 1996;24:1116-1120.
- ⁶² Pomier-Layragues G, Spahr L, Butterworth RF. Increased manganese concentrations in pallidum of cirrhotic patients. *Lancet* 1995;345:735.
- ⁶³ Huang CC, Chu NS, Lu CS, Wang J, Tsai JL, Tzeng JL, Wolters EC, Calne DB. Chronic Manganese Intoxication. *Arch Neurol*, 1989. 46:1104-1106.
- ⁶⁴ Rose C, Butterworth RF, Zayed J, Normandin L, Todd K, Michalak A, et al. Manganese deposition in basal ganglia structures results from both portal-systemic shunting and liver dysfunction. *Gastroenterology* 1999; 117:640-644.
- ⁶⁵ L.Grande, M. Romero-Gómez, M. López-Artigues, E. García-Díaz, M. Castro. Manganese level in patients with subclinical hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2000;324(Suppl 1):A495
- ⁶⁶ Nagele T, Seeger U, Pereira P, Leitz P, Klose u, Kaisee S, et al. MR proton spectroscopy to monitor the concentration changes in cerebral metabolites following a TIPS placement. *Rofo Fortschr Geb Roentgenstr Neven Bildgeb Verfahr* 1999; 170(3):298-303.

⁶⁷ Ross BD, Danielsen ER, Bluml S. Proton magnetic resonance spectroscopy: the new gold estándar for diagnosis of clinical and subclinical hepatic encephalopathy?. *Dig Dis* 1996; 14 Suppl 1: 30-39.

⁶⁸ Spahr L, Vingerhoets F, Lazeyras F, Delavelle J, Dupasquier R, Gisotra E et al. Magnetic Resonance imaging and proton spectroscopic alterations correlate with parkinsonian signs in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2000; 119:774-781.

⁶⁹ Ross BD, Morgan MY, Cox IJ, et al. Continuing defect in cerebral energy metabolism in patients with persistent encephalopathy (PHE): monitoring with ³¹P MRS. *Clin Sci* 1987; 72 (Suppl 16):26P.

⁷⁰ Taylor-Robinson SD, Sargentoni J, Mallalieu RJ, et al. Cerebral Phosphorus-31 Magnetic Resonance Spectroscopy in Patients with Chronic Hepatic Encephalopathy. *Hepatology* 1994;20:1173-1178.

⁷¹ Kanamori K, Ross BD, Chung JC, Kuo EL. Severity of hyperammonemic encephalopathy correlates with brain ammonia level and saturation of glutamine synthetase in vivo. *J Neurochem* 1996; 67(4):1584-1594.

⁷² Cordoba J, Alonso J, Rovira A, Jacas C, Sanpedro F, Castells L et al. The development of low-grade cerebral edema in cirrhosis is supported by the evolution of (1)H-magnetic resonance abnormalities after liver transplantation. *J Hepatol* 2001; 35(5):598-604

⁷³ Laubenberger J, Haussinger D, Bayer S, Gufler H, Henning J, Langer M. Proton magnetic resonance spectroscopy of the brain in symptomatic and asymptomatic patients with liver cirrhosis. *Gastroenterology* 1997;112:1610-1616.

-
- ⁷⁴ Balata S, Olde Damink S, Fergurson K, Marshall I, Hayes CP, Deutz NEP, Williams R, Wardla J, Jalan R. Induced Hyperammonemia alters neuropsychology, Brain MR Spectroscopy and Magnetization transfer in cirrhosis. *Hepatology* 2003; 37(4): 931-939.
- ⁷⁵ Lee JH, Seo Dn, Lee YS, Kim ST, Mun CN, Lim TH et al. Proton magnetic resonance spectroscopy(¹H-RMNs) findings for the brain in patients with liver cirrhosis reflect the hepatic functional reserve. *Am J Gastroenterol* 1999;94(8):2206-13.
- ⁷⁶ Ross BD, Jacobson S, Villamil F, Korula J, Kreis R, Ernst T et al. Subclinical hepatic encephalopathy: proton MR spectroscopic abnormalities. *Radiology* 1994; 193(2):457-63.
- ⁷⁷ Thomas MA, Huda A, Guze B, Curran J, Bugbeen M, Fairbanks L et al. Cerebral ¹H-MR spectroscopy and neuropsychologic status of patients with hepatic encephalopathy. *AJR. Am J Roentgenol* 1998;17(4):1123-30.
- ⁷⁸ Kreis R, Ross BD, Farrow NA, Ackerman Z. Metabolic disorders of the brain in chronic hepatic encephalopathy detected with H-1 MR spectroscopy. *Radiology* 1992;182:19-27.
- ⁷⁹ Taylor-Robinson SD, Buckley C, Changani KK, Hodgson HJ, Bell JD. Cerebral proton and phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy in patients with subclinical hepatic encephalopathy. *Liver* 1999; 19: 389-398.
- ⁸⁰ Taylor-Robinson SD, Sargentoni J, Marcus CD, Morgan MY, Bryant DJ. Regional variations in cerebral proton spectroscopy in patients with chronic hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 1994; 9: 347-359.
- ⁸¹ Taylor-Robinson SD, Sargentoni J, Oatridge A, Bryant D, Hajnal J., Marcus C., Seery J et al. MR imaging and Spectroscopy of the Basal Ganglia in Chronic Liver Disease:

Correlation of T1-weighted Contrast Measurements with Abnormalities in Proton and Phosphorus-31 MR Spectra. *Metabolic Brain Disease* 1996; 11: 249-68.

⁸² Pujol J, Kulisevsky J, Moreno A, Deus J, Balanzo J, Marti-vilalta JL, Capdevila A. Neurospectroscopic alterations and globus pallidus hiperintensity as related magnetic resonance markers of reversible hepatic encephalopathy. *Neurology* 1996;47(6): 1526-30.

⁸³ Rovira A, Córdoba J, Sanpedro F, Grivé E, Rovira-Gols A, Alonso A. Normalization of T2 signal abnormalities in hemispheric white matter with liver transplant. *Neurology* 2002;59: 335-341.

⁸⁴ Córdoba J, Alonso J, Rovira A, Jacas C, Sampetro F, Castells L, Vargas V, Margarit C, Kulisevsky, Esteban R, Guardia J. The development of low-grade cerebral edema in cirrhosis is supported by the evolution of (1)H-magnetic resonance abnormalities after liver transplantation. *J Hepatol* 2001; 35:598-604.

⁸⁵ Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Willians R. Transsection of the oesofagus for bleeding oesofageal varices. *Br J Surg* 1973;60:646-9.

⁸⁶ Propst A, Propst T, Zangeul G, et al. Prognosis and life expectancy in chronic liver disease. *Dig Dis Sci* 1995;40:1805-1815.

⁸⁷ Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001;33:464-470.

⁸⁸ Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, Borg CJT. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology* 2000;31:864-71.

-
- ⁸⁹ Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, et al. Model for END-stage liver disease (MELD) and allocation of donor liver. *Gastroenterology* 2003;124:91-6.
- ⁹⁰ Zironi G, Gaiani S, Fenyves D, Rigamonti A, Bolondi L, Barbara L. Value of measurement of mean portal flow velocity by doppler flowmetry in the diagnosis of portal hypertension. *Journal of Hepatology*, 1992;16:298-303.
- ⁹¹ Iwao T, Toyonaga A, Oho K, Tayama Ch, Masumoto H, Sakai T, et al. Value of doppler ultrasound parameters of portal vein and hepatic artery in the diagnosis of cirrhosis and portal hypertension. *Am J Gastroenterology* 1997;92(6):1012-1017.
- ⁹² Delgado Blanco M.B, Dios Vega J.F, De la Mata García M, Miñp Fugarola. *Ecografía doppler en gastroenterología*. Norma eds. *Ecografía abdominal*. Madrid 1996:507-549.
- ⁹³ Macías Rodríguez M, Rendón Unceta P, Martínez Sierra C, Teysiére Blas I, Díaz García F, Martín Herrera L. Prognostic usefulness of ultrasonographic signs of portal hypertension in patients with Child-Pugh stage A liver cirrhosis. *Am J Gastroenterology*, 199;94:3595-3600.
- ⁹⁴ Ohkubo H, Okuda K, IIDA A, Ohnishi K, Ikawa S, Makino I. Role of portal and splenic vein shunts and impaired hepatic extraction in the elevated serum bile acids in liver cirrhosis. *Gastroenterology* 1984;86:514-520.
- ⁹⁵ Poupon RE, Poupon RY, Grosdemouge ML, Erlinger S. Effect of portocaval shunt on serum bile acid concentration in patients with cirrhosis. *Digestion* 1977;16(1-2):138-45.
- ⁹⁶ Tarantino G, Cambri S, Ferrara A, Marzano M, Liberti A, Vellone G, et al. Serum concentration of bile acids and portal hypertension in cirrhotic patients. Possible correlation. *Riv Eur Sci Med Farmacol* 1989; 11(3):195-205.

-
- ⁹⁷ Ferenci P. Pathophysiology of hepatic encephalopathy. *Hepatogastroenterol* 1991;38:371-376.
- ⁹⁸ Yao H, Sadoshima S, Fujii K, Kusada K, Ishitsuka T, Tamaki K et al. Cerebrospinal fluid lactate in patients with hepatic encephalopathy. *Eur Neurol* 1987;27:182-187.
- ⁹⁹ Grippon P, Le Poncin-Laffite M, Boschat M, et al. Evidence for the role of ammonia in the intracerebral transfer and metabolism of tryptophan. *Hepatology* 1986;6:682-686.
- ¹⁰⁰ Hindfelt B, Plum F, Duffy TE. Effect of acute ammonia intoxication on cerebral metabolism in rats with portocaval Shunts. *J Clin Invest* 1977;59:386-396.
- ¹⁰¹ Raabe W. Neuronal effects of ammonia. In Soeters PD, Wilson JHP, Meijer AF, Holm, eds. *Advances in ammonia metabolism and hepatic encephalopathy*. Amsterdam: Elsevier 1988:349-355.
- ¹⁰² Matés JM, Pérez Gómez C, Núñez Castro I, Asenjo M, Marquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *The International Journal of Biochemistry&Cell Biology* 2002; 34:439-458.
- ¹⁰³ Kramer L, Tribi B, Gendo A, Zauner C, Schneider B, Ferenci P, Madi C. Partial pressure of ammonia versus ammonia in hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2000;31:30-34.
- ¹⁰⁴ Grande L, Romero Gómez M, Camacho I, Castro M. Presión parcial de amonio (PNH₃) en la encefalopatía hepática subclínica. *Rev Esp Enferm Dig* 2001;93(Suppl 1):A48.
- ¹⁰⁵ Oppong KN, Al-Mardini H, Thick M, Record CO. Oral glutamine challenge in cirrhotics pre- and post- liver transplantation: a psychometric and analyzed EEG study. *Hepatology* 1997;26:870-876.

-
- ¹⁰⁶ Plauth M, Roske A-E, Romaniuk P, Roth E, Ziebig R, Lochs H. Post-feeding hyperammonaemia in patients with transjugular intrahepatic portosystemic shunt and liver cirrhosis: role of small intestinal ammonia release and route of nutrient administration. *Gut* 2000; 46:849-855.
- ¹⁰⁷ Masini A, Efrati C, Merli M, Attili AF, Amodio P, Ceccanti M et al. Effect of lactitol on blood ammonia response to oral glutamine challenge in cirrhotic patients: Evidence for an effect of nonabsorbable disaccharides on small intestine ammonia generation. *Am J Gastroenterology* 1999;94:3323-3327.
- ¹⁰⁸ Romero-Gómez M, Grande L, Camacho I, Benitez S, Irlles J.A, Castro M. Altered response to oral glutamine challenge as prognostic factor for overt episodes in patients with minimal Hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2002, 37:781-787.
- ¹⁰⁹ Hawkins R, Jessy J, Mans A.M, Chedid A, DeJoseph M.R. Neomycin reduces the intestinal production of ammonia from glutamine. *Hepatic encephalopathy. Hyperammonemia, and ammonia toxicity.* Edited by V. Felipo and S. Grisola, Plenum, New York, 1994.
- ¹¹⁰ Bode BP, Souba WW. Glutamine transport and human hepatocellular transformation. *JPEN* 1999;23:S33-S37.
- ¹¹¹ James LA, Lunn PG, Middleton S, Elia M. Distribution of glutaminase and glutamine synthetase activities in the human gastrointestinal tract. *Clin Sci* 1998;94:313-319.
- ¹¹² Elia M. Glutamine metabolism in adipose tissue in vivo. *Clin Nutr* 1993;12:50-53.
- ¹¹³ Olde Damink S, Doris N, Redhead RJ, Hayes PC, Deutz NEP, Soeters PB. Interorgan Ammonia and amino Acid Metabolism in metabolically stable patients with cirrhosis and TIPSS. *Hepatology* 2002; 36 (5): 1163-1171.

-
- ¹¹⁴ Olde Damink SW, Jalan R, Deutz NE, Redhead DN, Dejong CH, Hynd P, Jalan RA, Hayes PC, Soeters PB. The Kidney play a major role in the hyperammonemia seen after simulated or actual GI bleeding in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2003;37:1277-85.
- ¹¹⁵ Jalan R, Kapoor D. Enhanced renal ammonia excretion following volume expansion in patients with well compensated cirrhosis of the liver. *Gut* 2003;52:1041-5.
- ¹¹⁶ McCauley R, Kong SE, Heel K, Hall JC. The role of glutaminase in the small intestine. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;31:405-413.
- ¹¹⁷ Groszmann R.J. The pathophysiological basis of therapy in portal hypertension and ascitis: an Overview. In: Arroyo V, Bosch J, Brugera M, Rodés J, eds. *Therapy in liver diseases*. Barcelona, 1997:13-19.
- ¹¹⁸ Manning R. A nomogram for estimation of pNH_3 . *J. Lab. & Clin. Med.* 1964; February: 297-298.
- ¹¹⁹ Jane D. Elashoff. *nQuery Advisor Release 4.0. User's Guide*. Study Planning Software. Ed: Virginia Lawrence. Mayo, 2000.
- ¹²⁰ Katz, M. "Multivariable Analysis. A Practical Guide for Clinicians". Cambridge University Press. 1999.
- ¹²¹ Norusis, M. J. "SPSS 9.0. Guide to data Analysis". Prentice- Hall, Inc., 1999.
- ¹²² Romero Gómez M, Bautista J.D, Grande L, Ramos Guerrero R.M, Sánchez Muñoz D. Nuevos conceptos en la fisiopatología de la encefalopatía hepática y perspectivas terapéuticas. *Gastroenterol Hepatol* 2004;27(Supl 1):40-48.
- ¹²³ Romero-Gómez M, Ramos-Guerrero R, Grande L, Collantes de Terán L, Corpas R, Camacho I, Bautista J.D. Intestinal glutaminase activity is increased in liver cirrosis and correlates with minimal hepatic encephalopathy. *Journal of Hepatology* 2004;41:49-54.

¹²⁴ Nicolao F, Efrati C, Masini A, Merli M, Attili AF, Riggio O. Role of determination of partial pressure of ammonia in cirrhotic patients with and without hepatic encephalopathy. *J Hepatology*, 2003;38(4):441-446.

¹²⁵ Masini A, Efrati C, Merli M, Nicolao F, Amodio P, Del Piccolo F, Riggio O. Effect of lactitol on blood ammonia response to oral glutamine load in cirrhotic patients : evidence of non-absorbable disaccharidases on small intestine ammonia generation. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3323-3327.

¹²⁶ Ress CJ, Oppong D, Al Mardini H, Hudson M, Record CO. Effect of L-ornithine L-aspartate on patients with and without TIPS undergoing glutamine challenge: a double blind, placebo controlled trial. *Gut* 2000;47:571-574.