



# REVISTA DE GASTROENTEROLOGÍA DE MÉXICO

[www.elsevier.es/rgmx](http://www.elsevier.es/rgmx)



## ARTÍCULO DE REVISIÓN

# Fisiopatología y opciones de tratamiento a futuro en la encefalopatía hepática



J.A. González-Regueiro<sup>a</sup>, M.F. Higuera-de la Tijera<sup>b</sup>, R. Moreno-Alcántar<sup>c</sup> y A. Torre<sup>a,d,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Gastroenterología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán», Ciudad de México, México

<sup>b</sup> Departamento de Gastroenterología, Hospital General de México, Ciudad de México, México

<sup>c</sup> Departamento de Gastroenterología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ciudad de México, México

<sup>d</sup> Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Departamento de Gastroenterología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán», Ciudad de México, México

Recibido el 30 de julio de 2018; aceptado el 18 de febrero de 2019

Disponible en Internet el 20 de abril de 2019

### PALABRAS CLAVE

Encefalopatía;  
Intestino;  
Músculo;  
Astrocito;  
Riñón;  
Detoxificación

**Resumen** El entendimiento de la fisiopatología de la encefalopatía hepática ha condicionado nuevas opciones de tratamiento. La detoxificación del amonio es regulada por 2 enzimas en la encefalopatía hepática: la glutaminasa o la glutamina sintetasa. La primera genera amonio y la segunda detoxifica el amonio, por lo que los tratamientos son encaminados a la inhibición de la glutaminasa o a la activación de la glutamina sintetasa. Actualmente sabemos que ambas enzimas se encuentran no solo en el hígado, sino también en el músculo, intestino, riñón y cerebro, por lo que los tratamientos actuales pueden ser dirigidos a cada enzima en sitios separados. Entendiendo estos sitios potenciales de tratamiento, las opciones para el abordaje del paciente con encefalopatía hepática son diversas y deben ser personalizadas.

© 2019 Asociación Mexicana de Gastroenterología. Publicado por Masson Doyma México S.A. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### KEYWORDS

Encephalopathy;  
Intestine;  
Muscle;  
Astrocyte;  
Kidney;  
Detoxification

### Pathophysiology of hepatic encephalopathy and future treatment options

**Abstract** Understanding of the pathophysiology of hepatic encephalopathy has conditioned new treatment options. Ammonia detoxification in hepatic encephalopathy is regulated by two enzymes: glutaminase or glutamine synthetase. The first produces ammonia and the second detoxifies the ammonia, which is why treatments are aimed at glutaminase inhibition or glutamine synthetase activation. At present, we know that both enzymes are found not only in the liver, but also in the muscle, intestine, kidney, and brain. Therefore, current treatments can

\* Autor para correspondencia. Vasco de Quiroga 15 col. XVI Ciudad de México, México. 25525025  
Correo electrónico: [detoal@yahoo.com](mailto:detoal@yahoo.com) (A. Torre).

be directed at each enzyme at different sites. Awareness of those potential treatment sites makes different options of approach possible in the patient with hepatic encephalopathy, and each approach should be personalized.

© 2019 Asociación Mexicana de Gastroenterología. Published by Masson Doyma México S.A. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introducción

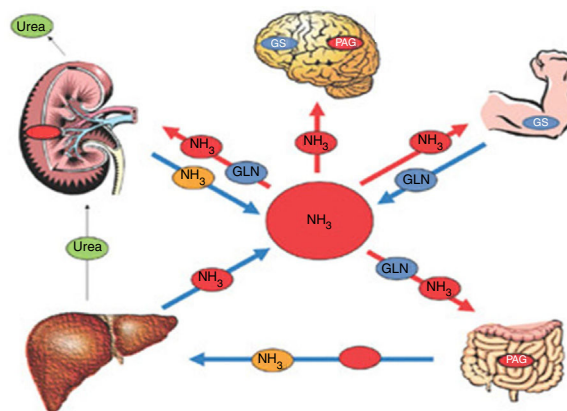
La encefalopatía hepática (EH) se presenta en un 30-60% de los pacientes cirróticos. Es una expresión clínica de un espectro de anomalías neuropsiquiátricas potencialmente reversibles, secundarias al acúmulo de sustancias neurotóxicas en el tejido cerebral, que es proporcional a la función sintética y de reserva del hígado. Por ello, es importante conocer y comprender sus componentes, fisiopatología y blancos terapéuticos, con el fin de disminuir el riesgo de complicaciones (neumonía intrahospitalaria, manejo inadecuado de secreciones, sarcopenia o desnutrición, entre otras) y, además, mejorar la clase funcional de los pacientes que la padecen.

La EH se clasifica de acuerdo a 4 factores: la enfermedad subyacente, la gravedad de las manifestaciones, la temporalidad y la existencia de factores precipitantes. Con relación a la enfermedad subyacente, esta se divide en 3 tipos dependiendo del contexto clínico en el que ocurra: la tipo A se presenta en el contexto de una falla hepática aguda; la tipo B, en el contexto de una derivación portosistémica sin enfermedad hepática intrínseca; y la tipo C, en el contexto de cirrosis con hipertensión portal o una derivación sistémica. De acuerdo a la gravedad de las manifestaciones se clasifica en mínima u oculta, grado I, grado II, grado III y grado IV, según las características clínicas (cambios conductuales, confusión, bradipsiquia, alteraciones del ciclo sueño-vigilia, habla incoherente, letargia, estupor y coma) y alteraciones neuropsicológicas o psicométricas que presente el paciente. En cuanto al curso temporal, puede ser episódica, recurrente (2 o más episodios de EH que ocurren dentro de un intervalo de tiempo de 6 meses o menos) o persistente (patrón de alteraciones de la conducta que siempre están presentes, sin periodos de normalidad). Por último, los episodios de EH se describen como no precipitados o precipitados, en relación con si se encuentra o no un factor desencadenante<sup>1</sup>.

## Fisiopatología de la encefalopatía

Históricamente, en la fisiopatología de la EH se ha involucrado la presencia de niveles elevados de toxinas en el parénquima cerebral, teniendo como principal agente al amonio ( $\text{NH}_3$ ). La evidencia actual apoya que el amonio es solo un componente más de los múltiples factores fisiopatogénicos que contribuyen a la aparición de esta<sup>2-9</sup>.

El abordaje de la fisiopatología debe incluir la integridad de los sitios naturales de detoxificación, como el hígado,



**Figura 1** Fisiopatología de la EH. En los pacientes con cirrosis, la concentración de amonio puede aumentar significativamente. Esto se debe a una menor detoxificación del amonio en el hígado y alguna otra alteración del metabolismo en otros órganos como el músculo, riñón e intestino, que no permiten eliminar el amonio de manera adecuada.

GLN: glutamina; GS: glutamina sintetasa;  $\text{NH}_3$ : amonio; PAG: glutaminasa activada por fosfato.

Fuente: adaptada de Rose CF. Ammonia-lowering strategies for the treatment of hepatic encephalopathy. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92:321-31.

intestino, músculo, riñón y astrocito, además del estudio de la circulación colateral. (fig. 1).

## Sitios de detoxificación

### Hígado

Clasificar la gravedad de la disfunción hepática de pacientes con cirrosis de acuerdo a la escala de Child-Pugh nos da la oportunidad de estimar su función sintética, además de valorar las complicaciones propias de la hepatopatía. La preocupación por el acúmulo de neurotoxinas endógenas ( $\text{NH}_3$ ) surge a partir de los pacientes que se encuentran con una clasificación en escala de Child B y C, o con cirrosis descompensada. Si bien es cierto que los pacientes con una clasificación dentro de la escala de Child A tienen un porcentaje mucho menor de encefalopatía clínica, debemos buscar intencionadamente EH mínima con las pruebas adecuadas, ya que el tratamiento en esta fase impacta favorablemente en la progresión a formas clínicamente evidentes<sup>10</sup>.

El amonio en el hígado se elimina principalmente mediante el ciclo de la urea, y la urea es el principal producto de la degradación proteica producida por el hígado mediante esta vía metabólica. La L-ornitina L-aspartato (LOLA) funciona en este sitio como sustrato del ciclo de la urea y así interviene en la disminución de los niveles de amonio, por incremento en el flujo de glutamina sintetasa (GS) y del sistema enzimático del ciclo de la urea. Varios investigadores han realizado estudios de metaanálisis para estudiar la efectividad de LOLA en pacientes cirróticos con EH, subdivididos en EH manifiesta y EH mínima. Los estudios han concluido que LOLA tiene efectos benéficos en ambos grupos respecto a mejoría del estado mental y grado de EH, así como en la reducción de los niveles séricos de amonio<sup>11,12</sup>.

El zinc (Zn) es un cofactor importante en las reacciones enzimáticas llevadas a cabo tanto en el hígado como en el músculo. A nivel molecular, se considera que la carencia de este mineral disminuye la acción de la ornitina transcarbamilasa, una enzima del ciclo de la urea, y la GS, una enzima esencial en el metabolismo del nitrógeno, encargadas de la eliminación del amonio en el hígado y el músculo, respectivamente. Aportar suplemento de Zn se acompaña de un incremento en la actividad enzimática de estas 2 enzimas. Algunos estudios han podido constatar que en la población cirrótica existe una depleción importante de Zn<sup>13</sup>; se calcula que el 95% de los pacientes cirróticos con un MELD score mayor o igual a 15 puntos tienen deficiencia de Zn<sup>14</sup>, lo que correlaciona con la mayor incidencia de encefalopatía en este tipo de pacientes. En el estudio realizado por Bresci et al. se reportó una mejoría en las pruebas psicométricas de pacientes con cirrosis en el grupo que fue suplementado con Zn en comparación con el grupo que no recibió suplementación; desafortunadamente, la diferencia no fue estadísticamente significativa<sup>15</sup>. Por lo tanto, en otro artículo de revisión sobre la deficiencia de Zn, sugieren que el suplemento de Zn puede ser una terapia a considerar en aquellos pacientes refractarios al tratamiento basado en dietas hipoproteicas y administración de lactulosa<sup>16</sup>.

El beneficio del Zn fue demostrado posteriormente por el grupo de Takuma con un ensayo clínico en pacientes cirróticos con EH de grados I y II que fueron refractarios al tratamiento. En este trabajo los pacientes se dividieron en 2 brazos: los pacientes que recibirían suplemento de Zn y terapia estándar (aminoácidos de cadena ramificada y lactulosa) frente a aquellos que solo recibirían la terapia estándar. Los pacientes fueron seguidos en el tiempo durante 6 meses para dilucidar los efectos en relación con la EH y la calidad de vida. Los pacientes que recibieron suplementación mejoraron significativamente respecto a la escala de componentes físicos, el grado de encefalopatía y los niveles sanguíneos de amonio. Aproximadamente el 54% de los pacientes mejoraron su grado de encefalopatía, y de estos, el 41% mejoraron hasta EH grado 0. Cabe mencionar que dentro de las limitaciones de este estudio se encuentran: la técnica de enmascaramiento, ya que no fue un estudio ciego, y la suplementación de Zn, que contenía L-carnitina y puede actuar como antioxidante<sup>17</sup>.

Dentro de los inconvenientes de esta terapia se encuentran: la reducción de la acción del ciprofloxacino, la falta

de estudios para encontrar una dosis efectiva, así como la deficiencia de cobre y dispepsia generada con el uso prolongado.

## Intestino

La sobreproducción de amonio en el intestino juega un papel clave en el desarrollo de EH. Las bases científicas se plantearon a mitad del siglo pasado, al darse cuenta de que la EH estaba relacionada con la absorción de sustancias nitrogenadas provenientes del intestino. Por las mismas fechas, se identificó la metionina como agente tóxico y se describió la riqueza de bacterias coliformes que habitan en el intestino delgado de los pacientes con cirrosis. Posteriormente, Bajaj et al. han identificado diversos cambios que ocurren a nivel de la microbiota intestinal en los pacientes con cirrosis y se han dado cuenta de que conforme estos se encuentran en una fase más descompensada de la enfermedad hay mayor disbiosis, estableciendo así la razón cirrosis disbiosis, que mientras más baja sea esta se asocia a mayor morbimortalidad<sup>18,19</sup>. Hasta la fecha solo el estudio de Chen et al. ha logrado reproducir el microbioma fecal del cirrótico<sup>20</sup>; esto es importante porque cada población es diferente, por lo que los blancos potenciales de tratamiento se deberán enfocar en la microbiota predominante.

Históricamente se ha utilizado el abordaje basado en antibióticos de pobre absorción, como rifaximina o neomicina, para reducir la producción de amonio intestinal de las bacterias productoras de ureasa. Existe poca evidencia relacionada con la eficacia de la neomicina, sin embargo, la rifaximina es una de las opciones terapéuticas más estudiadas. Múltiples trabajos han evaluado la rifaximina en el tratamiento de pacientes con EH confirmando su eficacia y seguridad en dosis de 1,200 o 2,400 mg/día<sup>21-27</sup>; también se ha corroborado su utilidad como medida utilizada en profilaxis secundaria<sup>26</sup>. Otros estudios han comparado la rifaximina con los disacáridos no absorbibles y se ha visto que ambos son eficaces para el tratamiento de la EH, reduciendo los niveles de amonio en sangre y mejorando los síntomas; sin embargo, la rifaximina ha demostrado una mejoría más temprana y menos efectos secundarios<sup>23,25,27</sup>. Así mismo, se ha descrito que la utilización oral de vancomicina también puede disminuir la diversidad de la microbiota intestinal<sup>28</sup>. En un estudio en Japón de 12 pacientes con EH resistente a la lactulosa, se les agregó vancomicina al manejo y se observó una mejoría en el grado de EH<sup>29</sup>. Este pequeño estudio ciego sugiere que la vancomicina puede ser una opción en pacientes que no responden al tratamiento con lactulosa; sin embargo, se debe tener precaución debido al diseño del estudio y a que existe poca evidencia respecto a su uso.

Los disacáridos no absorbibles como la lactulosa ( $\beta$ -galactosidofruktosa) y el lactitol ( $\beta$ -galactosidosorbitol) logran reducir la producción intestinal y la absorción de  $\text{NH}_3$ , mediante la acidificación en el colon, un efecto laxante, el movimiento del  $\text{NH}_3$  desde la circulación portal hacia el colon y la interferencia con la captación de glutamina por parte de la mucosa intestinal y su subsecuente metabolismo a  $\text{NH}_3$ . La dosis de lactulosa (15 a 30 mL administrados de 2 a 4 veces al día) se titula para que el paciente tenga de 3 a 5 evacuaciones diarias y se puede administrar por vía

rectal en los casos en que el paciente no puede tomar los medicamentos. Este grupo de medicamentos se consideran la terapia de primera línea para el tratamiento de la EH, y la mejoría de los síntomas ocurre en alrededor del 70% de los casos. Múltiples estudios han evaluado la lactulosa con relación al tratamiento de la EH mínima, EH manifiesta y como medida de profilaxis secundaria en pacientes con cirrosis, confirmando su eficacia y seguridad<sup>30-33</sup>. En los ensayos clínicos se ha visto que el lactitol es mejor tolerado y ha demostrado ser igual de eficaz que la lactulosa para el tratamiento de la EH<sup>34,35</sup>. A la hora de comparar la utilización de antibióticos no absorbibles (rifaximina) versus disacáridos no absorbibles (lactitol y/o lactulosa) con miras a mejorar el grado de EH, se ha reportado que no existe diferencia significativa<sup>23,25,27</sup>.

Los probióticos son mezclas de bacterias beneficiosas que se cree que pueden ayudar a la EH mediante la modulación del microbioma. Los estudios enfocados en mejorar la microbiota intestinal del cirrótico por medio de los probióticos, ya que estos podrían tener un efecto benéfico, ofrecen una alternativa interesante para modular la flora bacteriana de estos pacientes. No existe evidencia del uso de probióticos en el tratamiento agudo de la EH manifiesta. Los principales estudios sobre el uso de probióticos en EH manifiesta fueron para profilaxis secundaria y demuestran que son efectivos para prevenir EH en pacientes con cirrosis<sup>36,37</sup>.

## Músculo

El músculo esquelético ha sido descrito como el segundo *buffer* de detoxificación del  $\text{NH}_3$ . Los miocitos proporcionan un sitio para metabolizar  $\text{NH}_3$  incorporándolo a la glutamina mediante GS, aunque la actividad de esa enzima en el músculo es baja. De esta manera, la depuración de  $\text{NH}_3$  y la producción de glutamina pueden superar la falta de metabolismo hepático, pero la sobreproducción de  $\text{NH}_3$  en otros sitios no permite que esta sea la solución a la hiperamonemia.

La desnutrición en el paciente cirrótico y su pérdida de masa muscular perpetúan y empeoran la aparición de la EH. Además, el catabolismo *per se* genera un exceso de glutamina en la circulación; por tanto, generará mayor producción renal e intestinal de amonio. El manejo nutricional de los pacientes con cirrosis es un punto fundamental para el manejo preventivo de la EH. La recomendación actual es que los pacientes con EH deben mantener la misma dieta que otros pacientes con cirrosis, ya que no hay evidencia de que la restricción de proteínas en la dieta prevenga los episodios de EH<sup>38,39</sup>. A pesar de tratar de mantener la nutrición, ciertos pacientes con cirrosis presentan sarcopenia y existe evidencia que sugiere que la sarcopenia está asociada con el riesgo de desarrollar EH mínima o manifiesta<sup>40,41</sup>. Tratar de mejorar el estado nutricional y la masa muscular con una dieta rica en proteínas y un refrigerio alto en proteínas antes de ir a la cama podría ayudar en teoría a la prevención de la EH<sup>38,42</sup>. Además, el ejercicio y los aminoácidos de cadena ramificada se han estudiado como opciones terapéuticas para tratar la sarcopenia en pacientes con cirrosis, con resultados satisfactorios<sup>43</sup>. Los aminoácidos de cadena ramificada también se estudiaron en una revisión de Cochrane como una opción terapéutica para la EH y se confirmó que

estos aumentaron significativamente el número de pacientes que mejoraron de la EH<sup>44</sup>.

La masa muscular de los pacientes cirróticos tiene una expresión incrementada de miostatina o factor de crecimiento y diferenciación 8 (GDF-8) perteneciente a la familia de proteínas del factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Esta proteína es conocida por sus propiedades inhibitorias de generación y crecimiento de músculo, gracias a su histórica relación con el receptor para activina IIB (RAcIIB), incrementando la transcripción mediada por Smad 2/3 y consiguiendo así su cometido. Se ha demostrado que esto es secundario al acúmulo de  $\text{NH}_3$  intramuscular, resultando en vías de activación que contribuyen a la sarcopenia<sup>45</sup>.

En este orden de ideas, es fácil pensar que la inhibición del RAcIIB o la minimización de la expresión de GDF-8 pudieran ser nuevas alternativas de tratamiento. En un estudio realizado por MacKenzie et al. se demostró el beneficio en aras de inhibir la expresión de GDF-8 mediante el ejercicio de resistencia y esto correlacionaba con un incremento de la masa muscular<sup>46</sup>.

En 2012, Duarte-Rojo et al. estudiaron los cambios en el ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de la GS de las células mononucleares en sangre periférica por acción del ejercicio en voluntarios sanos. Ellos encontraron que la GS efectivamente se expresaba más en condiciones de ejercicio y se distribuía en el citoplasma de la sangre periférica de células mononucleares. Estos resultados pueden ser alentadores para el tratamiento de la EH debido a sus implicaciones en el metabolismo del  $\text{NH}_3$ <sup>47</sup>.

## Riñón

Este órgano también juega un papel fundamental en la homeostasis del amonio. En condiciones normales, las células renales producen iones de  $\text{NH}_3$  que pueden tomar 2 caminos: ser excretados por la orina o alcanzar la circulación sanguínea mediante la vena renal. Este último mecanismo, en personas sanas, representa la mayor parte de la concentración circulante de  $\text{NH}_3$ , y su excreción hacia la vena renal se puede ver modificada según el estado ácido-base, los niveles de potasio y la función renal. Aunque la glutamina es el principal aminoácido tributario de la producción de  $\text{NH}_3$ , el glutamato, la glicina y la prolina son aminoácidos implicados de igual forma en esta tarea. En los pacientes con cirrosis, se muestra como la vía alterna de mayor acción para poder detoxificar esta sustancia y, bajo condiciones de estrés, puede llegar a depurar hasta el 80% del  $\text{NH}_3$ <sup>48</sup>. Por ende, como ya se había mencionado anteriormente, la dieta y el ejercicio tienen un papel fundamental en este tipo de pacientes.

El glicerol fenilbutirato (GPB) es un medicamento aprobado por la *Food and Drug Administration* en el 2013 para el tratamiento de pacientes con trastornos del ciclo de la urea o errores innatos del metabolismo que se manifiestan por hiperamonemia, cuyo efecto podría ser emulado en la población cirrótica<sup>49</sup>. El GPB se hidroliza mediante lipasas pancreáticas para producir glicerol y 3 moléculas de ácido fenilbutírico; estas últimas sufren una  $\beta$ -oxidación en el hígado para producir ácido fenilacético, que se conjuga con la glutamina en el hígado y el riñón para formar fenilacetil



glutamina que posteriormente se excreta en la orina. Este fármaco actúa proporcionando una ruta alternativa para la eliminación del  $\text{NH}_3$  y la eliminación de nitrógeno residual en forma de fenilacetil glutamina en orina. En consecuencia, este efecto trató de ser emulado en pacientes con cirrosis y EH, demostrando que el GPB era capaz de disminuir los niveles de  $\text{NH}_3$  en este tipo de pacientes<sup>50</sup>. Posteriormente, Rockey et al. publicaron un estudio sobre la utilidad del GPB en pacientes con cirrosis que habían cursado con 2 o más eventos de EH en los últimos 6 meses. En este trabajo se demostró que el GPB reducía la proporción de pacientes que experimentaban un nuevo evento de EH, el número total de eventos de EH y los niveles séricos de amonio<sup>51</sup>. Estos resultados son alentadores y sugieren que el GPB podría ser una potencial opción terapéutica para EH en pacientes con cirrosis.

La acetil-L-carnitina (ALC), un éster de cadena corta derivado de la carnitina, producida endógenamente en la mitocondria y los peroxisomas, está involucrada en el transporte de partículas acéticas a través de la membrana de estos organelos. La administración de este éster ha mostrado en modelos animales disminuir la toxicidad por  $\text{NH}_3$  mediante la activación de las enzimas del ciclo de la urea, la interacción con los receptores de glutamato y la reducción de los radicales libres<sup>52-54</sup>. Existen estudios que han evaluado la utilización de la ALC en pacientes con cirrosis y EH oculta y/o manifiesta, donde se ha observado que la ALC produce mejoría en la calidad de vida, ansiedad, depresión y funciones cognitivas<sup>55-58</sup>. Estos estudios han demostrado que la administración de ALC reduce los niveles séricos de  $\text{NH}_3$  y tiene un efecto protector contra la toxicidad del amonio y la neurotoxicidad del glutamato. Por ende, aunque hoy en día se necesitan más estudios para recomendar su utilización, esta intervención podría ser considerada como un blanco terapéutico en un futuro.

## Cerebro

La evidencia de neuroagresión incluye la activación de la microglía, al igual que la síntesis *in situ* de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF), la interleucina 1 $\beta$  (1L-1 $\beta$ ) y la interleucina 6 (IL-6)<sup>59</sup>. Los mecanismos de señalización en falla hepática incluyen: efectos directos de las moléculas proinflamatorias sistémicas, reclutamiento de monocitos después de la activación microglial, acúmulo de  $\text{NH}_3$  cerebral, lactato, manganeso, mercaptanos, algunos ácidos grasos y derivados del triptófano como sustancias neurotóxicas, al igual que alteración en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. Como es bien sabido, tanto las moléculas proinflamatorias como el amonio trabajarán de manera conjunta, dando como resultado edema cerebral.

Las estrategias antiamonémicas actuales realmente han demostrado impactar muy poco en la calidad de vida del paciente cirrótico; por este motivo, se están estudiando nuevos blancos terapéuticos. La evidencia apunta a que los mecanismos proinflamatorios tanto centrales como periféricos están trabajando solos o en comunión con moléculas neurotóxicas como el  $\text{NH}_3$ <sup>59,60</sup>. A su vez, la hiponatremia, la sepsis, la hemorragia gastrointestinal y la falla renal precipitan la producción exógena de TNF, lo cual exacerba

la presentación de la EH.

Las células de la microglía son las células de defensa del sistema nervioso central (SNC) que tienen una gran habilidad para reconocer una amplia gama de cambios en la homeostasis, desde daño endotelial o tisular hasta cambios en la capacidad energética celular. Una vez que estas se activan, son productoras de una gran cascada de citocinas y quimiocinas con propiedades proinflamatorias e inflamatorias, según sea el caso. Esto fue demostrado en la autopsia de 8 pacientes con cirrosis que habían muerto por falla hepática<sup>61</sup>. Se demostró que la extensión de la activación microglial y la presencia de elevación de los niveles de ARNm proinflamatorios eran predictores tanto de EH como de edema cerebral. El reclutamiento microglial se relaciona con niveles elevados de TNF y la consecuente formación de quimiocina ligando 2 (CCL2), que forma parte de las llamadas quimiocinas<sup>62</sup>. Estos hallazgos han sugerido que se trata de una nueva vía de comunicación mediada por inmunidad contra la neurona, resultando en excitabilidad alterada y complicaciones neurológicas en pacientes con enfermedades colestásicas. Se ha visto que la inhibición en CCL2 reduce notablemente la progresión a encefalopatía en modelos animales. También se ha podido demostrar que la activación microglial presenta predominio de lóbulo frontal. La GS cerebral es generada principalmente por las células de la microglía y constituye uno de los primeros mecanismos de detoxificación cerebral, por lo que se ha propuesto que el flujo anaplerótico entre el ciclo de glutamato-glutamina y el del ácido cítrico mediante la enzima piruvato carboxilasa tiene capacidades de detoxificación<sup>63</sup>.

En condiciones hiperamonémicas, al comparar la susceptibilidad a los cambios morfológicos y funcionales de las células astrogliales y microgliales, los astrocitos presentan mayor susceptibilidad<sup>64</sup>. En este contexto, se ha estudiado también la capacidad del amonio para generar liberación de sustancias proinflamatorias por parte de la microglía: hasta ahora, los resultados no muestran relación directa, y se necesitan más estudios *in vivo* y *ex vivo* en regiones cerebrales dirigidas. Estudios realizados en pacientes cirróticos encuentran gran sinergia entre el  $\text{NH}_3$  y las citocinas proinflamatorias, en especial el TNF<sup>59</sup>.

Como se ha mencionado antes, el lactato juega también un papel importante en la neuroinflamación. Existe evidencia concreta de que los niveles de este correlacionan con las concentraciones elevadas de  $\text{NH}_3$  en el cerebro de pacientes con enfermedad hepática terminal. Al mismo tiempo, se relaciona con activación microglial, severidad de los síntomas clínicos y los cambios en el electroencefalograma; ya que el ciclo del ácido cítrico y de la urea tienen conexión, por lo que el acúmulo de lactato tiene la capacidad de inhibir la producción de  $\text{NH}_3$  por desactivación de la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa, lo cual puede activar la fosfo-fructocinasa 1, que es una enzima reguladora de la vía glucolítica, y como consecuencia llevar a más producción de lactato y con ello perpetuar el daño<sup>65</sup>.

Uno de los hallazgos más llamativos en los encéfalos de pacientes cirróticos *post mortem* es la gran cantidad de manganeso acumulado en los ganglios basales, acúmulo que sucede gracias a 2 vías: en primer lugar, gracias a la pobre o nula eliminación de este metal por la vía biliar, lo cual genera una concentración sérica elevada; en este

orden de ideas, la hipertensión portal y la generación de circulación colateral serían la segunda vía de propagación hacia el encéfalo, favorecida por la disrupción de la barrera hematoencefálica. El manganeso ha sido identificado, junto con el estrés oxidativo/nitrosativo, como el principal agente de muerte selectiva de las células dopaminérgicas cerebrales, lo cual es compatible con la relación encontrada entre cirrosis y parkinsonismo<sup>66-68</sup>.

La última barrera de neuroprotección en el contexto de un paciente cirrótico es, sin duda, la barrera hematoencefálica. En estudios recientes se ha confirmado que, ante la exposición a un ambiente proinflamatorio (TNF e IL-1 $\beta$ ), esta barrera tiende a perder su capacidad de contención, favoreciendo el paso de las toxinas provenientes del resto de la economía, y convirtiéndose así en otra vía deletérea entre el hígado y el cerebro. La razón de esta permeabilidad sigue siendo sujeto de estudio; algunas teorías sugieren que las proteínas de adhesión celular podrían jugar un papel importante en la génesis de este fenómeno<sup>69</sup>.

## Puntos fisiopatológicos sin relación directa con el amonio

### Vasorreactividad cerebral

La hemodinámica cerebral se ha involucrado en la fisiopatología de la EH, a través de daño directo sobre el endotelio vascular, lo cual genera endógenamente mayores tasas de TNF e IL-1 $\beta$ , como se demostró en el estudio realizado por Macías-Rodríguez et al., donde por medio de mediciones de velocidad de flujo mediante ultrasonido Doppler transcraneal, la hemodinámica cerebral se encontró alterada en los pacientes con cirrosis<sup>70</sup>. Esto se correlacionó con la medición de gravedad mediante la escala de MELD y su variable MELD-Na. La conclusión del estudio fue que tanto la estructura vascular como la capacidad de autorregulación del flujo podrían ser parte de la fisiopatología de la EH.

### Hiponatremia

Los niveles bajos de sodio son comunes en la población cirrótica, gracias a la activación de la hormona antidiurética. Esto se genera por una disminución en el volumen arterial efectivo relacionado con la vasodilatación esplácnica. Cuando este estado cronifica, lleva a una depleción intracelular de osmolitos orgánicos, como el mioinositol, que juega un papel importante en la hidrorregulación intracelular. Los osmolitos presentes en los astrocitos proporcionan una defensa celular contra el edema y pueden ser rápidamente acumulados o depletados según los sensores osmóticos. Una de las teorías del edema astrocitario es la presencia de hiponatremia crónica como depletor de estos osmolitos. En este orden de ideas, con la permeabilidad presente en la barrera hematoencefálica y la vulnerabilidad al ambiente hiperamónico e inflamatorio, se produce, por ende, el edema de bajo grado y la presencia de estrés oxidativo/nitrosativo, con disfunción astrocitaria<sup>71</sup>.

## Nuevos blancos terapéuticos

### Agentes quelantes del manganeso

Con base en la evidencia que sugiere que este metal podría estar implicado en la muerte de las células dopaminérgicas y su acúmulo reportado en el tejido cerebral de los pacientes cirróticos, no es descabellado pensar que los agentes quelantes del manganeso podrían ayudar a disminuir las tasas de parkinsonismo asociado a cirrosis, además de reducir la expresión de los radicales de estrés oxidativo generados por su interacción con la microglía. Acido etilendiaminotetraacético (EDTA) y acido p amino salicílico (PAS) han sido estudiados en este punto, pero se requiere llevar a cabo más estudios<sup>72</sup>.

### Proteínas transportadoras de urea

La urea, como sabemos, es una molécula hidrosoluble, la cual clásicamente ha sido descrita como de difusión pasiva. Actualmente el descubrimiento de la secuenciación de proteínas que facilitan el transporte en ciertos tejidos ha sido revolucionario para entender la importancia fisiológica de la urea. Se han encontrado los genes responsables de la codificación en estas proteínas (SLC14A1 y SLC14A2), genes que forman parte del mismo cromosoma (18q12.q21.1). Lo novedoso de este descubrimiento en el campo de la EH radica en que su posible bloqueo podría detener la producción incrementada de NH<sub>3</sub> intestinal (transportador de urea [UT]-B) y la estimulación de UT-A isoformas 1 y 3 reguladas por vasopresina como inductores de la urea en la médula renal<sup>73</sup>.

### Taurina

Uno de los puntos interesantes al analizar la fisiopatología de la EH es la baja concentración de taurina; este aminoácido actúa a nivel cerebral como antioxidante potente, como regulador de la enzima sintetasa de óxido nítrico, además de poseer propiedades antimicrobianas aumentando la habilidad fagocítica de los neutrófilos y la protección del endotelio<sup>74</sup>.

### Folistatina

Es una glucoproteína miembro de la familia de TGF- $\beta$  que antagoniza a muchos miembros de dicha familia, incluyendo la activina A, el factor de crecimiento y diferenciación 11 (GDF-11) y el GDF-8. La administración de esta molécula ha mostrado incrementar el peso corporal a expensas de masa muscular en ratas; además, ha mostrado mejora en la agresión y atrofia muscular, modulando la respuesta temprana de la fase inflamatoria por incremento de la densidad macrofágica y de las células Pax7+, acelerando el proceso de restauración de las miofibras y de la función muscular<sup>75</sup>.

### Terapia génica

Como mencionamos previamente, las medidas antiamonio utilizadas en el tratamiento de la EH tienen una eficacia limitada; en 2015, Torres-Vega et al. publicaron un ensayo en el

**Tabla 1** Opciones terapéuticas en EH

Órgano	Mecanismo	Tratamiento planteado
Hígado	UT-B gen <i>SLC14A1</i>	Inhibición por antagonismo de receptores o manipulación génica en su expresión
Músculo	Aumento de GDF-8	Folostatina
SNC	Aumento de la GS	Ejercicio
	Generación de ureagénesis	Acetil-L-carnitina
	Antioxidante potente	Taurina
	Quelantes de manganeso	EDTA y PAS
Riñón	Glucólisis infectiva	Inhibición de la folostatina 1
	UT-A	Aumentar la expresión génica o crear una proteína humanizada <i>in vitro</i>
Intestino	Aumentar el tránsito orocecal	Procinéticos
	Disminuir el amonio arterial	Probióticos

EH: encefalopatía hepática; GDF-8: factor de crecimiento y diferenciación 8; GS: glutamina sintetasa; SNC: sistema nervioso central; UT: transportador de urea.

que se utilizó el baculovirus Bac-GS como vector para la liberación del gen de GS. La transducción en las células MA 104 o L6 mioblasto/miotúbulo con Bac-GS dio como resultado una alta expresión del gen GS, con incremento en la concentración de GS, lo cual se ha aplicado vía intramuscular en un modelo murino de hiperamonemia aguda, disminuyendo 351  $\mu\text{M}$  la concentración de amonio en comparación con los controles, con incremento en la concentración de GS en el músculo gastrocnemio<sup>76</sup>. Estos resultados abren la puerta hacia opciones promisorias en el manejo de la EH.

### Inhibidores de la FKS1

Por la relación de esta enzima como reguladora de la glucólisis, su impacto en la generación de lactato, y con ello el aumento en el riesgo de edema cerebral, podría ser un blanco terapéutico interesante a explorar. En este punto, dietas pobres en fructosa, la inhibición de esta enzima y el aumento de la entrada a vías metabólicas aerobias podrían ser terapias a explorar en la población cirrótica (tabla 1).

### Trasplante fecal

Recientemente la flora intestinal (microbioma) ha cobrado especial interés como una opción terapéutica en los pacientes con encefalopatía dada la generación de citocinas inflamatorias generadas en el intestino, aunado a la generación primaria de glutamina y producción secundaria de amonio.

Es bien sabido que el microbioma humano es un complejo de genes que abarca más de  $1 \times 10^{10}$  bacterias las cuales residen en el intestino<sup>75</sup>. Dicho microbioma ampliamente ha sido caracterizado en 5 *phyla* llamados *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*. Cuando estos *phyla* entran en un desbalance se denomina disbiosis y esto ha sido descrito ampliamente en el paciente con cirrosis, siendo lo más característico en los pacientes con encefalopatía un incremento en las bacterias gramnegativas, específicamente enterobacterias, lo que ha llevado a postular el trasplante fecal como una opción de tratamiento en estos pacientes<sup>76,77</sup>.

### Financiación

No se recibió patrocinio de ningún tipo para llevar a cabo este artículo.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés para este trabajo.

### Referencias

1. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, 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;35:716–21.
2. Häussinger D, Kircheis G, Fischer R, et al. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: a clinical manifestation of astrocyte swelling and low-grade cerebral edema? *J Hepatol*. 2000;32:1035–8.
3. Blei AT. Pathophysiology of brain edema in fulminant hepatic failure, revisited. *Metab Brain Dis*. 2001;16:85–94.
4. Yurdaydin C. The central opioid system in liver disease and its complications. *Metab Brain Dis*. 2001;16:79–83.
5. Ahboucha S, Butterworth RF. Pathophysiology of hepatic encephalopathy: a new look at GABA from the molecular standpoint. *Metab Brain Dis*. 2004;19:331–43.
6. Ozsoylu S, Koçak N. Naloxone in hepatic encephalopathy. *Am J Dis Child*. 1985;139:749–50.
7. Córdoba J, Gottstein J, Blei AT. Chronic hyponatremia exacerbates ammonia induced brain edema in rats after portacaval anastomosis. *J Hepatol*. 1998;29:589–94.
8. Mullen KD. Hepatic encephalopathy after portosystemic shunts: any clues from TIPS? *Am J Gastroenterol*. 1995;90:531–3.
9. Butterworth RF. Pathogenesis of hepatic encephalopathy: new insights from neuroimaging and molecular studies. *J Hepatol*. 2003;39:278–85.
10. Dhiman RK, Saraswat VA, Sharma BK, et al. Minimal hepatic encephalopathy: consensus statement of a working party of the Indian National Association for Study of the Liver. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25:1029–41.
11. Bai M, Yang Z, Qi X, et al. L-ornithine-L-aspartate for hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a meta-analysis

- of randomized controlled trials. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013;28:783–92.
12. Butterworth RF, Kircheis G, Hilger N, et al. Efficacy of L-ornithine L-aspartate for the treatment of hepatic encephalopathy and hyperammonemia in cirrhosis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Exp Hepatol.* 2018;8:301–13.
  13. Poo JL, Rosas-Romero R, Rodríguez F, et al. Serum zinc concentrations in two cohorts of 153 healthy subjects and 100 cirrhotic patients from Mexico City. *Dig Dis.* 1995;13:136–42.
  14. Sengupta S, Wroblewski K, Aronsohn A, et al. Screening for zinc deficiency in patients with cirrhosis: when should we start? *Dig Dis Sci.* 2015;60:3130–5.
  15. Bresci G, Parisi G, Banti S. Management of hepatic encephalopathy with oral zinc supplementation: a long-term treatment. *Eur J Med.* 1993;2:414–6.
  16. Tuerk MJ, Fazel N. Zinc deficiency. *Curr Opin Gastroenterol.* 2009;25:136–43.
  17. Takuma Y, Nuoso K, Makino Y, et al. Clinical trial: oral zinc in hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32:1080–90.
  18. Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, et al. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol.* 2014;60:940–7.
  19. Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, et al. The cirrhosis dysbiosis ratio defines changes in the gut microbiome associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol.* 2014;60:940–7.
  20. Chen Y, Yang F, Lu H, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatology.* 2011;54:562–72.
  21. Bass NM, Ahmed A, Johnson L. Rifaximin treatment is beneficial for mild hepatic encephalopathy. *Hepatology.* 2004;40 Suppl.:64–6A.
  22. Pedretti G, Calzetti C, Missale G, et al. Rifaximin vs neomycin on hyperammonemia in chronic portal systemic encephalopathy of cirrhotics. A double-blind, randomized trial. *Ital J Gastroenterol.* 1991;23:175–8.
  23. Mas A, Rodés J, Sunyer L, et al. Comparison of rifaximin and lactitol in the treatment of acute hepatic encephalopathy: results of a randomized, double-blind, double-dummy, controlled clinical trial. *J Hepatol.* 2003;38:51–8.
  24. Williams R, James OF, Warnes TW, et al. Evaluation of the efficacy and safety of rifaximin in the treatment of hepatic encephalopathy: a double-blind, randomized, dose-finding multi-centre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000;12:203–8.
  25. Bucci L, Palmieri GC. Double-blind, double-dummy comparison between treatment with rifaximin and lactulose in patients with medium to severe degree hepatic encephalopathy. *Curr Med Res Opin.* 1993;13:109–18.
  26. Bass NM, Mullen KD, Sanyal A, et al. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N Engl J Med.* 2010;362:1071–81.
  27. Massa P, Vallerino E, Doderio M. Treatment of hepatic encephalopathy with rifaximin: double blind, double dummy study versus lactulose. *Eur J Clin Res.* 1993;4:7–18.
  28. Vrieze A, Out C, Fuentes S, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. *J Hepatol.* 2014;60:824–31.
  29. Tarao K, Ikeda T, Hayashi K, et al. Successful use of vancomycin hydrochloride in the treatment of lactulose resistant chronic hepatic encephalopathy. *Gut.* 1990;31:702–6.
  30. Uribe M, Campollo O, Vargas F, et al. Acidifying enemas (lactitol and lactose) vs. Nonacidifying enemas (tap water) to treat acute portal-systemic encephalopathy: a double-blind, randomized clinical trial. *Hepatology.* 1987;7:639–43.
  31. Watanabe A, Sakai T, Sato S, et al. Clinical efficacy of lactulose in cirrhotic patients with and without subclinical hepatic encephalopathy. *Hepatology.* 1997;26:1410–4.
  32. Horsmans Y, Solbreux PM, Daenens C, et al. Lactulose improves psychometric testing in cirrhotic patients with subclinical encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther.* 1997;11:165–70.
  33. Dhiman RK, Sawhney MS, Chawla YK, et al. Efficacy of lactulose in cirrhotic patients with subclinical hepatic encephalopathy. *Dig Dis Sci.* 2000;45:1549–52.
  34. Morgan MY, Hawley KE. Lactitol vs. lactulose in the treatment of acute hepatic encephalopathy in cirrhotic patients: a double-blind, randomized trial. *Hepatology.* 1987;7:1278–84.
  35. Morgan MY, Alonso M, Stanger LC. Lactitol and lactulose for the treatment of subclinical hepatic encephalopathy in cirrhotic patients. A randomized, cross-over study. *J Hepatol.* 1989;8:208–17.
  36. Lunia MK, Sharma BC, Sharma P, et al. Probiotics prevent hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12:1003–8.
  37. Agrawal A, Sharma BC, Sharma P, et al. Secondary prophylaxis of hepatic encephalopathy in cirrhosis: an open-label, randomized controlled trial of lactulose, probiotics, and no therapy. *Am J Gastroenterol.* 2012;107:1043–50.
  38. Amodio P, Berneur C, Butterworth R, et al. The nutritional management of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism Consensus. *Hepatology.* 2013;58:325–36.
  39. Cordoba J, López-Hellín J, Planas M, et al. Normal protein diet for episodic hepatic encephalopathy: results of a randomized study. *J Hepatol.* 2004;41:38–43.
  40. Merli M, Giusto M, Lucidi C, et al. Muscle depletion increases the risk of overt and minimal hepatic encephalopathy: results of a prospective study. *Metab Brain Dis.* 2013;28:281–324.
  41. Hanai T, Shiraki M, Watanabe S, et al. Sarcopenia predicts minimal hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *Hepatol Res.* 2017;47:1359–67.
  42. Plank LD, Gane EJ, Peng S, et al. Nocturnal nutritional supplementation improves total body protein status of patients with liver cirrhosis: a randomized 12-month trial. *Hepatology.* 2008;48:557–66.
  43. Hiraoka A, Michitaka K, Kiguchi D, et al. Efficacy of branched-chain amino acid supplementation and walking exercise for preventing sarcopenia in patients with liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2017;29:1416–23.
  44. Gluud LL, Dam G, Les I, et al. Branched-chain amino acids for people with hepatic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;8. CD001939.
  45. Qiu J, Thapaliya S, Runkana A, et al. Hyperammonemia in cirrhosis induces transcriptional regulation of myostatin by an NF- $\kappa$ B-mediated mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:18162–7.
  46. MacKenzie MG, Hamilton DL, Pepin M, et al. Inhibition of myostatin signaling through Notch activation following acute resistance exercise. *PLoS One.* 2013;8:e68743.
  47. Duarte-Rojo A, Torres-Vega MA, Villamil-Ramírez H, et al. Changes in peripheral blood mononuclear cells glutamine synthetase mRNA after exercise in healthy volunteers: exploring an alternative proposal for non hepatic ammonia metabolism. *Rev Invest Clin.* 2012;64:164–72.
  48. Adeva MM, Souto G, Blanco N, et al. Ammonium metabolism in humans. *Metabolism.* 2012;61:1495–511.
  49. Lee B, Rhead W, Diaz GA, et al. Phase 2 comparison of a novel ammonia scavenging agent with sodium phenylbutyrate in patients with urea cycle disorders: safety, pharmacokinetics and ammonia control. *Mol Genet Metab.* 2010;100:221–8.



50. Ghabri M, Zupanets IA, Vierling J, et al. Glycerol phenylbutyrate in patients with cirrhosis and episodic hepatic encephalopathy: a pilot study of safety and effect on venous ammonia concentration. *Clin Pharmacol Drug Dev.* 2013;2:278–84.
51. Rockey DC, Vierling JM, Mantry P, et al. Randomized, double-blind, controlled study of glycerol phenylbutyrate in hepatic encephalopathy. *Hepatology.* 2014;59:1073–83.
52. Ratnakumari L, Qureshi A, Butterworth RF. Effect of L-carnitine on cerebral and hepatic energy metabolites in congenitally hyperammonemic sparse-fur mice and its role during benzoate therapy. *Metabolism.* 1993;42:1039–46.
53. Rodrigo R, Cauli O, Boix J, et al. Role of NMDA receptors in acute liver failure and ammonia toxicity: therapeutical implications. *Neurochem Int.* 2009;55:113–8.
54. Rose C, Felipe V. Limited capacity for ammonia removal by brain in chronic liver failure: potential role of nitric oxide. *Metab Brain Dis.* 2005;20:275–83.
55. Malaguarnera M, Gargante MP, Cristadi E, et al. Acetyl-L-carnitine treatment in minimal hepatic encephalopathy. *Dig Dis Sci.* 2008;53:3018–25.
56. Malaguarnera M, Bella R, Vacante M, et al. Acetyl-L-carnitine reduces depression and improves quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Scand J Gastroenterol.* 2011;46:750–9.
57. Malaguarnera M, Vacante M, Giordano M, et al. Oral acetyl-L-carnitine therapy reduces fatigue in overt hepatic encephalopathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Am J Clin Nutr.* 2011;93:799–808.
58. Malaguarnera M, Vacante M, Motta M, et al. Acetyl-L-carnitine improves cognitive functions in severe hepatic encephalopathy: a randomized and controlled clinical trial. *Metab Brain Dis.* 2011;26:281–9.
59. Jiang W, Desjardins P, Butterworth RF. Direct evidence for central proinflammatory mechanisms in rats with experimental acute liver failure: protective effect of hypothermia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009;29:944–52.
60. Butterworth RF. Parkinsonism in cirrhosis: pathogenesis and current therapeutic options. *Metab Brain Dis.* 2013;28:261–7.
61. Zemtsova I, Görg B, Keitel V, et al. Microglia activation in hepatic encephalopathy in rats and humans. *Hepatology.* 2011;54:204–15.
62. Zhang L, Tan J, Jiang X, et al. Neuron-derived CCL2 contributes to microglia activation and neurological decline in hepatic encephalopathy. *Biol Res.* 2017;50:26.
63. Murin R, Cesar M, Kowtharapu BS, et al. Expression of pyruvate carboxylase in cultured oligodendroglial, microglial and ependymal cells. *Neurochem Res.* 2009;34:480–9.
64. Chastre A, Jiang W, Desjardins P, et al. Ammonia and proinflammatory cytokines modify expression of genes coding for astrocytic proteins implicated in brain edema in acute liver failure. *Metab Brain Dis.* 2010;25:17–21.
65. Oria M, Jalan R. Brain lactate in hepatic encephalopathy: friend or foe? *J Hepatol.* 2014;60:476–7.
66. Butterworth RF, Spahr L, Fonatine S, et al. Manganese toxicity, dopaminergic dysfunction and hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 1995;10:259–67.
67. Spahr L, Butterworth RF, Fontaine S, et al. Increased blood manganese in cirrhotic patients: relationship to pallidal magnetic resonance signal hyperintensity and neurological symptoms. *Hepatology.* 1996;24:1116–20.
68. Burkhard PR, Delavelle J, Du Pasquier R, et al. Chronic parkinsonism associated with cirrhosis: a distinct subset of acquired hepatocerebral degeneration. *Arch Neurol.* 2003;60:521–8.
69. Mishchenko VA, Goriukhina OA, Iliuk RD. Changes in the hemato-encephalic barrier in experimental liver cirrhosis. *Biull Eksp Biol Med.* 1993;116:638–41.
70. Macías-Rodríguez RU, Duarte-Rojo A, Cantú-Brito C, et al. Cerebral haemodynamics in cirrhotic patients with hepatic encephalopathy. *Liver Int.* 2015;35:344–52.
71. Guevara M, Baccaro ME, Torre A, et al. Hyponatremia is a risk factor of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a prospective study with time-dependent analysis. *Am J Gastroenterol.* 2009;104:1382–9.
72. Aschner M, Guilarte TR, Schneider JS, et al. Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007;221:131–47.
73. Stewart G. The emerging physiological roles of the SLC14A family of urea transporters. *Br J Pharmacol.* 2011;164:1780–92.
74. Zwingmann C, Leibfritz D. Ammonia toxicity under hyponatremic conditions in astrocytes: de novo synthesis of amino acids for the osmoregulatory response. *Neurochem Int.* 2005;47:39–50.
75. Dasarathy S, McCullough AJ, Muc S, et al. Sarcopenia associated with portosystemic shunting is reversed by follistatin. *J Hepatol.* 2011;54:915–21.
76. Torres-Vega MA, Vargas-Jerónimo RY, Montiel-Martínez AG, et al. Delivery of glutamine synthetase gene by baculovirus vectors: a proof of concept for the treatment of acute hyperammonemia. *Gene Ther.* 2015;22:58–64.
77. Bajaj JS, Kassam Z, Fagan A, et al. Fecal microbiota transplant from a rational stool donor improves hepatic encephalopathy: a randomized clinical trial. *Hepatology.* 2017;66:1727–38.