



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSTGRADO E
INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DELESTADO

CAMBIOS EN ESPECTROSCOPIA POR RESONANCIA
MAGNÉTICA EN ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA
MÍNIMA PRE Y POST TRATAMIENTO CON
L-ORNITINA L-ASPARTATO

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:
DRA. RUTH LIZETH ROBLES RODRÍGUEZ

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD:
GASTROENTEROLOGÍA

ASESOR DE TESIS:
DRA. MARÍA ANTONIETA XOCHITL GARCÍA SAMPER
DRA. MAYRA GUADALUPE SANTIAGO ARANO
DR. JUAN ALEJANDRO REGALADO CHICO



ISSSTE

NO. DE REGISTRO DE PROTOCOLO:
607.2016

CIUDAD DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. DANIEL ANTONIO RODRÍGUEZ ARAIZA
COORDINADOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DRA. FLOR MARÍA DE GUADALUPE
ÁVILA FEMATT
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

DRA. MARTHA EUNICE RODRÍGUEZ
ARELLANO
JEFE DE INVESTIGACIÓN

AGRADECIMIENTOS

A mi familia:

A mis padres, María Teresa y Edgar Manuel, por ser el pilar fundamental de todo lo que soy, por brindarme su amor, su paciencia y haberme inculcado desde pequeña el deseo de superación.

A mis hermanos María y Edgar, por todos los momentos buenos y malos que hemos vivido, porque además de hermanos son mis amigos.

A Manuel, por acompañarme en este recorrido lleno de aventuras, por darme amor y apoyo incondicional en los momentos más difíciles, y por hacer feliz cada uno de mis días.

A Yoshi, por recibirme siempre con una sonrisa.

A mis maestros:

A la Dra. Xochitl García, mi maestra y mentora, por haberme dado la oportunidad de continuar mis sueños, y enseñarme no sólo como ser mejor médico, sino también como ser mejor persona. Gracias por confiar en mí y darme la oportunidad de culminar esta etapa de mi vida.

A la Dra. Mayra Santiago y al Dr. Alejandro Regalado, porque además de brindarme su conocimiento, tiempo y dedicación, me brindaron su apoyo y amistad.

A mis compañeros:

Por enseñarme el valor del trabajo en equipo

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	1
RESUMEN.....	2
ABSTRACT	3
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	4
ANTECEDENTES.....	5
JUSTIFICACIÓN.....	6
HIPÓTESIS	6
OBJETIVO GENERAL	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
MATERIAL Y MÉTODOS.....	7
RESULTADOS	9
DISCUSIÓN.....	15
CONCLUSIONES	16
ANEXOS	17
Anexo 1. Formato de consentimiento informado.....	17
Anexo 2. Prueba de números y símbolos	18
Anexo 3. Prueba de secuencia de números	19
Anexo 5. Prueba de marcar el centro del círculo	21
Anexo 6. Prueba de seguimiento de líneas	22
Anexo 7. Área de interés para espectroscopia	23
Anexo 8. Metabolitos en espectroscopia	23
BIBLIOGRAFÍA.....	24

ABREVIATURAS

AASLD: American Association for the Study of Liver Diseases (Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas)

CBP: Colangitis biliar primaria

Cho: Colina

Cr: Creatina

EASL: European Association for the Study of the Liver (Asociación Europea para el Estudio del Hígado)

EHM: Encefalopatía hepática mínima

FCP: Frecuencia crítica de parpadeo

Glx: Glutamina/glutamato

ISHEN: International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (Sociedad Internacional para Encefalopatía Hepática y metabolismo del Nitrógeno)

LOLA: L-ornitina L-aspartato

My: Mioinositol

NAA: N-acetil aspartato

PHES: Psychometric Hepatic Encephalopathy Score (puntuación psicométrica de encefalopatía hepática)

PPM: Partículas por millón

VHC: Virus de la hepatitis C

WH: West Haven

RESUMEN

Introducción: La encefalopatía hepática mínima es una entidad neurocognitiva subclínica, que afecta negativamente la calidad de vida del paciente, y tiene una implicación pronóstica para el desarrollo de encefalopatía manifiesta. Para su diagnóstico se utiliza una combinación de al menos dos estudios psicométricos y neurofisiológicos. Dentro de los estudios neurofisiológicos de imagen se encuentra la espectroscopia por resonancia magnética, en la que se obtienen las concentraciones de diversos metabolitos cerebrales en un área de interés, con reportes de alteraciones en pacientes que presentan encefalopatía hepática mínima (disminución del mioinositol y aumento de la glutamina/glutamato). La L-ornitina L-aspartato ha mostrado beneficio en pacientes con encefalopatía hepática manifiesta, al aumentar la conversión del amonio en urea y glutamina, por lo que se decidió valorar su efecto sobre las concentraciones de los metabolitos cerebrales en pacientes con encefalopatía mínima.

Objetivo: Evaluar, por medio de espectroscopia por resonancia magnética, las diferencias en las proporciones de concentración de metabolitos cerebrales (glutamina/glutamato, mioinositol, colina, creatinina, N-acetil aspartato) en pacientes cirróticos diagnosticados con encefalopatía hepática mínima antes y después del tratamiento con L-ornitina L-aspartato.

Material y métodos: Se incluyeron un total de 15 pacientes cirróticos de la clínica de hígado del HR Lic. Adolfo López Mateos que cumplieran los criterios de inclusión del protocolo. Todos los sujetos realizaron una batería de PHES y FCP, incluyéndose en el grupo con encefalopatía hepática mínima aquellos que tuvieran alteración en cualquiera de las dos pruebas (PHES<-4, FCP<39s). Se realizaron estudios de espectroscopia por resonancia magnética a todos los pacientes, con repetición a las 4 semanas posterior al inicio de tratamiento con L-ornitina L-aspartato vía oral (9g/día) en aquellos positivos para EHM. En ambos estudios se midieron las concentraciones de mioinositol(My), colina(Cho), creatina(Cr), glutamina/glutamato(Glx), y N-acetil aspartato(NAA). Posteriormente se calcularon las proporciones Glx/Cr, NAA/Cr, My/Cr, Cho/Cr, Glx/My, NAA/Glx, Ch/Glx, Glx/Ch+Cr y se analizaron para significancia estadística en el grupo pre y post tratamiento.

Resultados: Se encontró diferencia estadísticamente significativa en la relación My/ Cr en la región parietal derecha entre el grupo sin y con EHM ($p=0.028$) En el análisis antes y después, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la región parietal derecha para las proporciones de NAA/ Cr ($p=0.043$), Glx/Cr ($p=0.043$) y Glx/(Cho+Cr) ($p=0.038$), mientras que en la región parietal izquierda ninguna de las relaciones alcanzó significancia.

Conclusión: Los resultados de este estudio sugieren diferencias significativas post tratamiento en las proporciones de metabolitos en la región parietal derecha, evidenciables desde las 4 semanas de tratamiento con L-ornitina L-aspartato.

Palabras clave: Encefalopatía hepática mínima, espectroscopia, resonancia magnética, L-ornitina L-aspartato, LOLA.

ABSTRACT

Introduction: Minimal hepatic encephalopathy is a subclinical neurocognitive entity that negatively affects the quality of life of the patient and has a prognostic implication for the development of overt encephalopathy. For its diagnosis, a combination of at least two psychometric and neurophysiological studies is used. The neurophysiological imaging studies include magnetic resonance spectroscopy, in which the concentrations of various cerebral metabolites are obtained in a region of interest, with reports of alterations in patients with minimal hepatic encephalopathy (decrease in myoinositol and increase in glutamine/glutamate). L-ornithine L-aspartate has shown benefit in patients with overt hepatic encephalopathy, by increasing the conversion of ammonium to urea and glutamine, so we decided to assess its effect on the concentrations of cerebral metabolites in patients with minimal encephalopathy.

Objective: To evaluate, by means of magnetic resonance spectroscopy, the differences in the concentration ratios of cerebral metabolites (glutamine/glutamate, myoinositol, choline, creatinine, N-acetyl aspartate) in cirrhotic patients diagnosed with minimal hepatic encephalopathy before and after treatment with L-ornithine L-aspartate.

Methods: A total of 15 cirrhotic patients of the liver clinic of the HR ISSSTE Lic. Adolfo López Mateos were included. All subjects performed a battery of PHES and FCP, classifying those with alteration in any of the two tests (PHES <-4, FCP <39s) in the group with minimal hepatic encephalopathy. Magnetic resonance spectroscopy studies were performed on all patients, with a second study 4 weeks after the start of treatment with L-ornithine L-aspartate orally (9g / day) in those positive for MHE. In both studies the concentrations of myoinositol (My), choline (Cho), creatine (Cr), glutamine/glutamate (Glx), and N-acetyl aspartate (NAA) were measured. The ratios Glx/Cr, NAA/Cr, My/Cr, Cho/Cr, Glx/My, NAA/Glx, Ch/Glx, Glx/Ch + Cr were then calculated and analyzed for statistical significance in the pre and post treatment group.

Results: A statistically significant difference was found in the My/Cr ratio in the right parietal region between the group without and with MHE ($p = 0.028$). In the before and after analysis, statistically significant differences were found in the right parietal region for the ratios NAA/Cr ($p = 0.043$), Glx/Cr ($p = 0.043$) and Glx/(Cho + Cr) ($p = 0.038$), while in the left parietal region none of the relationships reached significance.

Conclusion: The results of this study suggest significant differences after treatment in the proportions of metabolites in the right parietal region, evident from 4 weeks of treatment with L-ornithine L-aspartate.

Keywords: minimal hepatic encephalopathy, spectroscopy, magnetic resonance, L-ornithine L-aspartate, LOLA.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La encefalopatía hepática es una complicación frecuente durante la evolución de los pacientes con cirrosis, presentándose hasta en el 30% de los pacientes a lo largo de 5 años. La encefalopatía mínima (EHM), es la presentación inicial de esta entidad, siendo definida como una alteración neuropsiquiátrica, sin encontrarse alteraciones evidenciables a la exploración física, sólo trastornos cognitivos relacionados con la velocidad psicomotora, asociación selectiva y funcionamiento selectivo, una vez excluidas otras causas de enfermedad neurológica. (Vilstrup et al, 2014). Su prevalencia estimada es de hasta el 80% de los pacientes con cirrosis (Das, 2001).

Para el diagnóstico de la EHM no existe un estándar establecido, por lo que se utiliza una combinación de al menos dos estudios psicométricos y neurofisiológicos (Bajaj et al., 2011; Vilstrup et al., 2014). Dentro de las pruebas más utilizadas se encuentra la batería PHES (Psychometric Hepatic Encephalopathy Score), validada para su aplicación en pacientes mexicanos desde 2011 (Duarte-Rojo et al, 2011), sin embargo éste estudio se encuentra influenciado por la edad y el nivel de escolaridad. Entre los estudios neurofisiológicos se han explorado diversos métodos para el diagnóstico de la encefalopatía mínima, entre los cuales se encuentran el electroencefalograma, potenciales evocados, tomografía axial computada y recientemente la espectroscopia con resonancia magnética. Ésta última puede establecer el perfil neurobioquímico en diferentes áreas de interés, con la mayoría de los estudios reportando aumento en las concentraciones de glutamato y disminución en las de mioinositol respecto a sujetos sanos (Laubenberger et al., 1997; Geissler et al., 1997; Ciecío-Michalska et al., 2012; Kooka et al., 2016).

La encefalopatía hepática mínima, a pesar de ser una condición no letal, representa una influencia negativa para la calidad de vida, así como en la seguridad del paciente al manejar u operar maquinaria pesada (Torre et al., 2006; Prakash, 2013) Además, predispone al desarrollo posterior de encefalopatía manifiesta (Das, 2001). Sin embargo, en la actualidad tampoco existe un estándar para su tratamiento.

La L-ornitina, L-aspartato es una de las terapias propuestas, disponible en México pero no en Estados Unidos, por lo que existen pocos estudios con el empleo de esta terapéutica, hasta la fecha ninguno en nuestro país, por lo que en el presente estudio se pretende analizar su efecto en los parámetros bioquímicos medidos por espectroscopia por resonancia magnética pre y post tratamiento.

ANTECEDENTES

El término encefalopatía hepática se refiere a un deterioro en la función cerebral, asociado a cambios bioquímicos, en ausencia de inflamación y de otros trastornos neurológicos, que se presenta en pacientes con hepatopatía crónica y con una gama de alteraciones que van desde las no detectables clínicamente hasta el coma. (Torre et al, 2006). Dependiendo de la etiología subyacente, puede clasificarse en A (falla hepática aguda), B (cortocircuitos portosistémicos), C (cirrosis). De acuerdo a la severidad, se divide de acuerdo a la escala de West Haven en grados 0 (mínima) a IV, y de acuerdo al ISHEN en oculta (incluye los grados 0 y 1) y manifiesta (grados II a IV) (Vilstrup et al, 2014).

La encefalopatía hepática en su forma mínima es un estado patológico en el que los pacientes no exhiben desorientación ni asterixis, pero en el que pueden encontrarse ligeras alteraciones neurocognitivas detectadas mediante pruebas psicométricas y neurofisiológicas. Se estima que está presente en un rango de 30 a 80% de los pacientes con cirrosis, predisponiendo a aquellos que la padecen al desarrollo de encefalopatía hepática manifiesta, con un riesgo de 3.7 veces respecto a cirróticos sin EHMs (Vilstrup et al, 2014). Por lo tanto, un diagnóstico y tratamiento precoz de encefalopatía hepática mínima podría tener un impacto sobre la historia natural y la progresión de la enfermedad (Prakash, 2013).

Los mecanismos de la aparición de la encefalopatía hepática son multifactoriales y aún no se comprenden del todo, sin embargo el amonio juega un papel fundamental como sustancia causal. En el paciente cirrótico, ocurren numerosos cambios en el metabolismo del amonio. Las bacterias que componen la microbiota del colon son significativamente diferentes en pacientes con cirrosis y encefalopatía hepática, comparados con los que sólo tienen cirrosis, lo cual puede estar vinculado directamente a la producción de amonio o mediadores inflamatorios. Por otra parte, se desarrollan cortocircuitos, con hasta el 50% del flujo sanguíneo portal desviado alrededor del hígado. Como resultado, los niveles de amonio en la circulación central tienden a ser mayores, y mientras el hígado falla, el músculo esquelético se convierte en el sitio principal para la eliminación de amonio, habiendo una menor eliminación de éste en los pacientes sarcopénicos (Jover et al, 2009). Los niveles de amonio en sangre periférica presentan una correlación lineal con los encontrados a nivel cerebral debido a un aumento en la permeabilidad en la barrera hematoencefálica, así como a un incremento en la tasa y metabolismo del mismo, llevado a cabo por la enzima glutamina sintetasa en los astrocitos, que da como producto glutamina. Este aumento de la glutamina tiene un efecto osmótico, el cual provoca edema en la forma aguda, y en la forma crónica altera el metabolismo energético y acelera el transporte de aminoácidos aromáticos que generan perturbaciones en la neurotransmisión (Gomez, 2016; Torre et al., 2009; Dejong et al,2007).

La resonancia magnética es una técnica no invasiva, libre de radiación ionizante, basado en el principio de que el núcleo de ciertos átomos interactúa de forma diferente con el campo magnético, lo que permite analizar las características bioquímicas del tejido estudiado (Cousins, 1995). De esta forma, se genera un espectro en forma gráfica, en donde el eje x representa las partículas por millón (ppm) y el y las intensidades de señal de cada elemento. Así, se pueden medir las concentraciones del metabolito neuronal N- acetil aspartato, ubicado a 2.0 ppm; el metabolito glial mioinositol, 3.5 ppm; colina, 3.2 ppm; creatina, 3 ppm; y los neurotransmisores glutamina/glutamato (Glx), 2.2-2.5 ppm (Öz et al.,2014).

Estudios previos con espectroscopia por resonancia magnética (Laubenberger et al., 1997; Kooka et al., 2016) han encontrado niveles disminuidos de mioinositol y colina y aumento en los niveles de glutamina en el cerebro en pacientes con encefalopatía hepática en comparación a pacientes cirróticos sin encefalopatía.

El medicamento L-ornitina L- aspartato mejora el metabolismo del amonio al aumentar la producción hepática de urea, la actividad de la glutamina sintetasa y la utilización por el músculo esquelético (Rose et al, 1998), por lo que se esperaría un efecto teórico sobre la concentración de los metabolitos cerebrales, en especial de la glutamina/glutamato.

JUSTIFICACIÓN

La importancia de la presente investigación sobre el uso de L-ornitina L-aspartato en encefalopatía hepática mínima reside en el hecho de que se analiza su efectividad en el cambio de los patrones neurometabólicos pre y post tratamiento a través de espectroscopia por resonancia magnética.

A pesar de que estudios previos han sugerido la utilidad de la espectrometría por resonancia magnética para el diagnóstico de encefalopatía hepática mínima (Hassan et al, 2014; Kooka et al, 2015) pocos han hecho un estudio comparativo posterior al establecimiento de terapéutica (Grover et al, 2016), siendo éste el primero realizado en población mexicana. Así, este estudio puede servir como base para estudios posteriores utilizando esta modalidad diagnóstica ya sea con esta terapia u otras alternativas de tratamiento.

HIPÓTESIS

El uso de L-ornitina L- aspartato por 4 semanas tiene efecto en las proporciones de los metabolitos cerebrales (glutamina/glutamato, mioinositol, colina, creatinina, N-acetil aspartato) medidas por espectroscopia por resonancia magnética en pacientes con encefalopatía hepática mínima.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar, por medio de espectroscopia por resonancia magnética, las diferencias en las proporciones de concentración de metabolitos cerebrales (glutamina/glutamato, mioinositol, colina, creatinina, N-acetil aspartato) en pacientes cirróticos diagnosticados con encefalopatía hepática mínima antes y después del tratamiento con L-ornitina L-aspartato.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar los cambios basales al momento del diagnóstico de encefalopatía hepática mínima a parietal de los metabolitos glutamina/glutamato, mioinositol, colina, creatinina, y N-acetil aspartato por medio de espectroscopia por resonancia magnética, respecto al grupo control negativo para encefalopatía hepática mínima.

Determinar la presencia de cambios estadísticamente significativos en la proporción de la concentración de metabolitos cerebrales posterior a 4 semanas de tratamiento con L-ornitina L-aspartato en los pacientes positivos a encefalopatía hepática mínima.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de intervención, cuasi experimental, antes y después, con muestreo por conveniencia, financiado con presupuesto institucional del ISSSTE.

Se incluyeron pacientes de ambos géneros, con diagnóstico de insuficiencia hepática (por criterios bioquímicos, clínicos y de imagen), independientemente de la etiología, diestros, en seguimiento por el servicio de gastroenterología del Hospital Regional ISSSTE Lic Adolfo López Mateos, los cuales fueron captados en el periodo de marzo 2017 a febrero 2018, siendo la participación voluntaria y anónima, todos ellos firmando consentimiento informado, aprobado por el comité de investigación y bioética, y en acuerdo con los principios de la declaración de Helsinki (Anexo 1). Se excluyeron aquellos pacientes con enfermedades neurológicas previamente diagnosticadas; con algún episodio de encefalopatía hepática manifiesta dentro de los 6 meses previos; con hiponatremia menor de 130 mEq/L; glucosa mayor de 180mg/dl; portadores de marcapasos o prótesis metálicas; uso activo de alcohol y/o drogas; uso actual de L-ornitina L-aspartato, uso actual de lactulosa, uso de benzodiazepinas; y creatinina ≥ 1.5 mg/dl.

A los pacientes incluidos se les realizó una valoración clínica inicial, de aproximadamente 1 hora de duración, en la cual se efectuó exploración física y neurológica (minimental). Posteriormente se aplicó una batería de pruebas psicométricas (PHES- Psychometric Hepatic Encephalopathy Score), compuesta

de 5 pruebas individuales (prueba de números y símbolos, secuencia de números, secuencia de números y letras, marcar el centro del círculo, seguimiento de líneas). La aplicación de estas pruebas se realizó en una habitación iluminada, sin ruido, por un investigador experimentado. Para la prueba de números y símbolos (Anexo 2) se realizó una línea de ensayo, y posteriormente se dispuso de 90 segundos para relacionar los números con su símbolo correspondiente, tomándose como resultado el número de aciertos. Para el test de secuencia de números (previo ensayo), secuencia de números y letras, y marcar el centro del círculo (dos líneas de ensayo) (Anexos 3 a 5) se tomó como resultado el tiempo total de aplicación. Para el seguimiento de línea (Anexo 6) se tomó el tiempo total de la prueba menos el ajuste por errores (1 segundo por tocar la línea, 2 segundos por cruzar la línea, 3 segundos por cruzar la línea externa de la plantilla). Los resultados se introdujeron en la página RedEH (<http://www.redeh.org/phesapp/datos.html>), obteniéndose un puntaje global ajustado para la edad y escolaridad de cada paciente.

En la misma sesión se realizó medición de frecuencia crítica de parpadeo (FCP) con el equipo HEPATonorm Analyzer (nevoLAB GmbH, Alemania), obteniéndose el promedio de 10 repeticiones. De acuerdo a lo sugerido por la ISHEN, AASLD y EASL (Bajaj et al., 2011; Vilstrup et al., 2014), aquellos pacientes con un resultado a partir de -4 DE en el PHES, o menor de 39 Hz en la FCP fueron clasificados en el grupo positivo a EHM. De forma paralela, se obtuvo una muestra de sangre venosa para las mediciones bioquímicas, con lo cual se clasificó la enfermedad de acuerdo a Child Pugh y MELD.

Para la espectroscopia se utilizó un resonador GE Signa Excite 1.5 tesla (GE Healthcare, EEUU); con Advantage Workstation V4.4, Volume Share 2 para el procesamiento de imágenes. Se seleccionó el área de interés (técnica single voxel 2x2x2 cm, TE 144ms) en la región parietal tanto en el hemisferio derecho como izquierdo (Anexo 7), obteniendo los valores de los metabolitos mioinositol (My), con pico ubicado a 3.5 ppm; colina (Cho), 3.2 ppm; creatina (Cr), 3 ppm; glutamina/glutamato (Glx), 2.2-2.5 ppm; y N-acetil aspartato (NAA) 2.0 ppm (anexo 8). Posteriormente se calcularon las proporciones Glx/Cr, NAA/Cr, My/Cr, Cho/Cr, así como las proporciones particulares para glutamina/glutamato (Glx/My, NAA/Glx, Ch/Glx, Glx/Ch+Cr).

Los pacientes que se clasificaron positivos para encefalopatía hepática mínima recibieron después de los estudios iniciales L-ornitina L- aspartato en su presentación oral, a razón de 9 gramos al día (un sobre de 3 g cada 8 horas) durante un periodo de 4 semanas, al cabo de las cuales se repitieron la pruebas PHES, FCP y el estudio de espectroscopia por resonancia magnética.

Para el análisis y realización de gráficas se utilizó el programa SPSS versión 24.0 (IBM, EEUU). Los datos se probaron para normalidad utilizando el test de Shapiro-Wilk, así como mediciones de curtosis y asimetría. Las variables entre grupos independientes se analizaron para significancia con la prueba U de Mann-Whitney. Para el análisis de significancia ($p < 0.05$) del grupo antes y después (datos pareados), se utilizó la prueba de rangos de Wilcoxon.

RESULTADOS

La población se compuso de 15 pacientes con insuficiencia hepática (3 hombres, 5 mujeres), de los cuales 5 fueron clasificados en el grupo positivo para encefalopatía hepática mínima posterior a la realización de PHES y FCP. La etiología en los pacientes sin EHM fue la siguiente: virus de hepatitis C (7), hepatitis autoinmune (1), Colangitis biliar primaria (1), alcohol (1). En el grupo con EHM: VHC (3), hepatitis autoinmune (1), síndrome de sobreposición hepatitis autoinmune /colangitis biliar primaria (1).

Las características clínicas y bioquímicas basales entre los grupos con y sin EHM no fueron estadísticamente significativas (Tabla 1).

En la espectroscopia por resonancia magnética basal, se encontró diferencia estadísticamente significativa en la relación My/ Cr en la región parietal derecha entre el grupo sin y con EHM ($p = 0.028$) (Tabla 2).

En el análisis antes y después, no existieron diferencias en las características bioquímicas. (Tabla 3). Las pruebas psicométricas mejoraron en 4 de los 5 pacientes, sin embargo no se alcanzó una diferencia estadísticamente significativa. Se encontró alteración en la FCP en 2 de los 5 pacientes, uno de los cuales presentó mejoría post tratamiento. En el estudio de espectroscopia se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la región parietal derecha para las proporciones de NAA/ Cr ($p = 0.043$), Glx/Cr ($p = 0.043$) y Glx/(Cho+Cr) ($p = 0.038$), mientras que en la región parietal izquierda ninguna de las relaciones alcanzó significancia.

Tabla 1. Características demográficas y clínicas basales de la población en los grupos con y sin encefalopatía hepática mínima.

	Sin EHM (n=10)	EHM (n=5)	p
Edad	54 (48-64)	59 (53-67)	0.310
Sexo (n)			
H	3	0	
M	7	5	
Escolaridad	12 (11-16)	9 (6-15)	0.310
Etiología (n)			
VHC	7	3	
Autoinmune	1	1	
CBP	1	0	
Sobreposición	0	1	
Alcohol	1	0	
Child Pugh (n)			
A	9	4	
B	1	1	
C	0	0	
MELD	6 (6, 8.2)	6 (6, 9)	0.953
Bioquímica			
Na	141 (139, 143)	140(139, 142)	0.768
Glu	86 (80, 107)	92 (78, 167)	0.679
Cr	0.7 (0.62, 0.85)	0.65 (0.53, 0.74)	0.310
Alb	4.3 (3.5, 4.4)	4.3 (3.8, 4.3)	0.953
BT	0.69 (0.48, 1)	0.60 (0.3, 2.1)	0.953
INR	1 (1, 1.1)	1 (1, 1)	0.594

*En las variables marcadas con (n) se especifica frecuencia. En el resto se expresa el valor mediana (rango intercuartil)

Tabla 2. Proporción de metabolitos cerebrales en pacientes con y sin encefalopatía hepática mínima.

	Sin EHM	EHM	p
Parietal derecho			
NAA/Cr	1.54(1.44, 1.73)	1.59(1.36, 1.75)	0.953
Cho/Cr	0.95(0.90, 1.00)	0.97(0.95, 1.08)	0.440
Glx/Cr	0.51(0.48, 0.60)	0.53(0.49, 0.62)	0.513
My/Cr	0.69(0.62, 0.77)	0.58(0.47, 0.65)	0.028
Glx/My	0.76(0.69, 0.84)	1.12(0.76, 1.19)	0.075
NAA/Glx	3.07(2.60, 3.39)	2.85(2.47, 3.19)	0.679
Cho/Glx	1.88(1.60, 2.02)	1.79(1.70, 1.98)	1.000
Glx/(Cho+Cr)	0.27(0.24, 0.31)	0.27(0.25, 0.30)	0.859
Parietal izquierdo			
NAA/Cr	1.51(1.47, 1.60)	1.51(1.45, 1.75)	0.953
Cho/Cr	0.91(0.84, 0.96)	1.01(0.92, 1.10)	0.075
Glx/Cr	0.48(0.45, 0.51)	0.54(0.48, 0.56)	0.206
My/Cr	0.68(0.65, 0.72)	0.62(0.56, 0.68)	0.075
Glx/My	0.72(0.67, 0.74)	0.85(0.70, 0.96)	0.075
Naa/Glx	3.28(2.94, 3.45)	3.04(2.69, 3.46)	0.513
Cho/Glx	1.96(1.72, 2.14)	1.94(1.76, 2.18)	0.859
Glx/(Cho+Cr)	0.25(0.22, 0.26)	0.26(0.24, 0.28)	0.371

*Valores expresados en mediana (rango intercuartil)

Tabla 3. Características bioquímicas pre y post tratamiento.

	Pre LOLA	Post LOLA	p
Na	140(139, 142)	141(138, 142.5)	1.000
Glu	92 (78, 167)	102 (79, 162)	0.893
Cr	0.65 (0.53, 0.74)	0.65 (0.56, 0.73)	0.893
Alb	4.3 (3.8, 4.3)	4.3 (3.6, 4.5)	1.000
BT	0.60 (0.3, 2.1)	0.47 (0.27, 2.2)	0.686
INR	1 (1, 1)	1 (0.95, 1)	0.317

*Valores expresados en mediana (rango intercuartil)

Tabla 4. Pruebas psicométricas individuales y PHES global.

Prueba	Pre LOLA*	Post LOLA*	p
Números y símbolos	0(0, -1.5)	0(0, -1)	0.317
Secuencia de números	-1(-0.5, -2)	0(0, -2)	0.157
Secuencia de números y letras	-1(0, -1.5)	0(0, -1)	0.317
Centro del círculo	-1(-0.5, -3)	-1(0, -2)	0.180
Seguimiento de línea	0(0.5, -2)	0(1, -1)	0.083
PHES global	-5(-1, -8.5)	-1(0, -6)	0.066

*Valores expresados en mediana (rango intercuartil)

Tabla 5. Proporción de metabolitos en pacientes con encefalopatía hepática mínima (**parietal derecho**).

Proporción de metabolito	Pre LOLA*	Post LOLA*	p
NAA/Cr	1.59(1.36, 1.75)	1.47(1.33, 1.53)	0.043
Cho/Cr	0.97(0.95, 1.08)	0.95(0.87, 1.05)	0.498
Glx/Cr	0.53(0.49, 0.62)	0.50(0.45, 0.54)	0.043
My/Cr	0.58(0.47, 0.65)	0.50(0.46, 0.65)	0.593
Glx/My	1.12(0.76, 1.19)	1.02(0.70, 1.13)	0.138
NAA/Glx	2.85(2.47, 3.19)	2.93(2.51, 3.34)	0.138
Cho/Glx	1.79(1.70, 1.98)	1.83(1.67, 2.31)	0.343
Glx/(Cho+Cr)	0.27(0.25, 0.30)	0.26(0.23, 0.28)	0.038

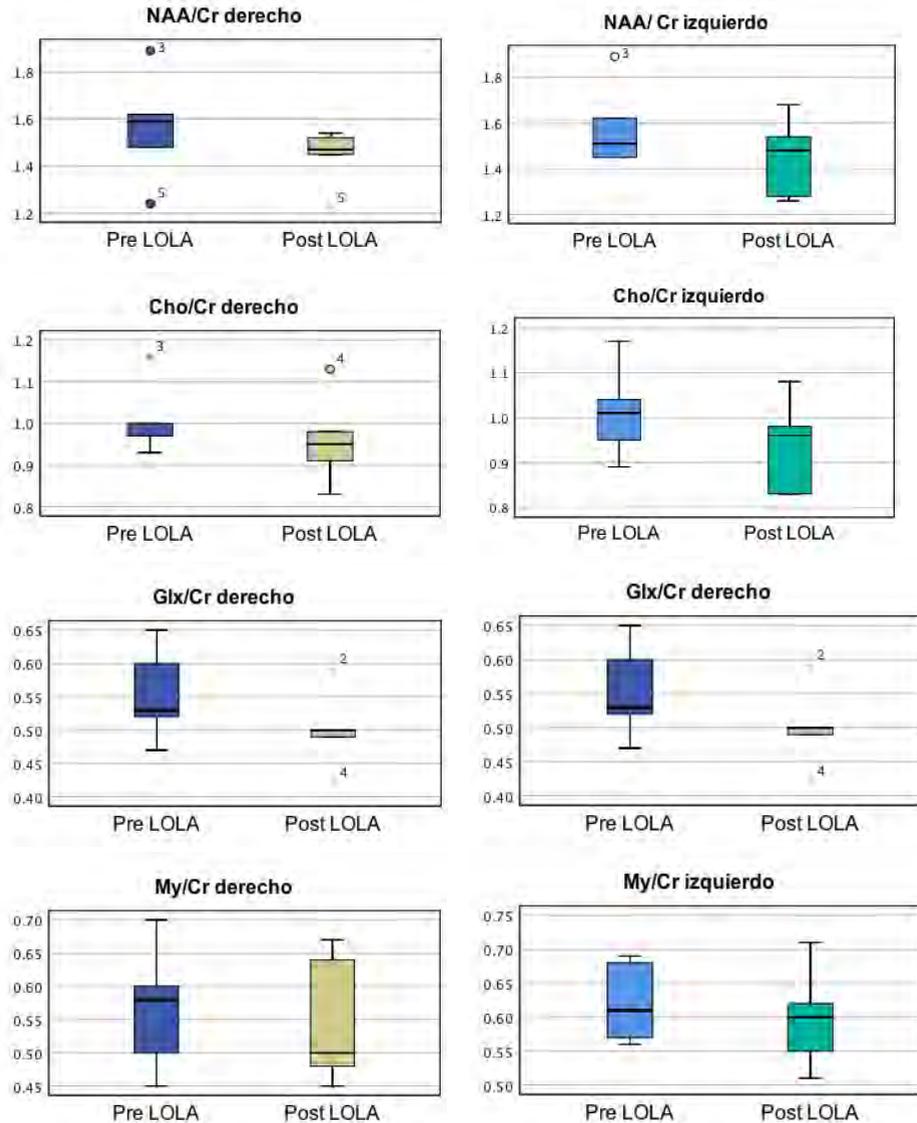
*Valores expresados en mediana (rango intercuartil)

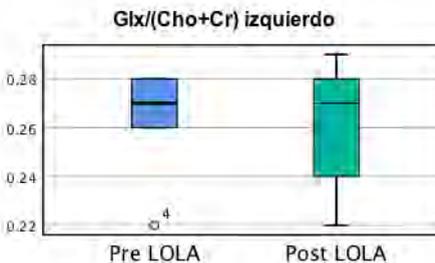
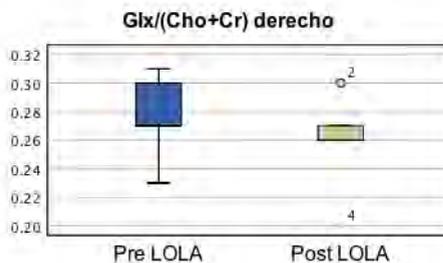
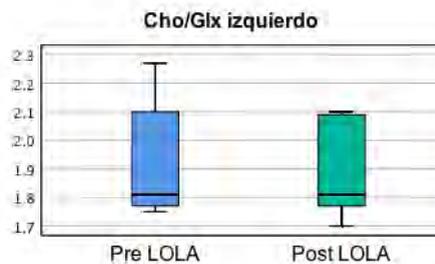
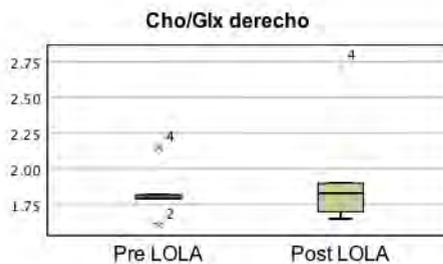
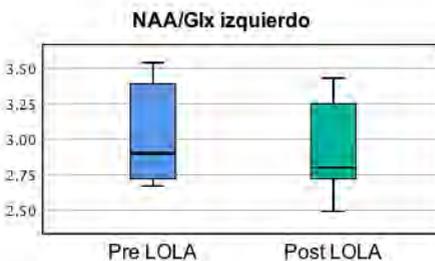
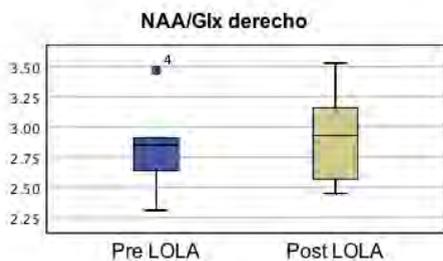
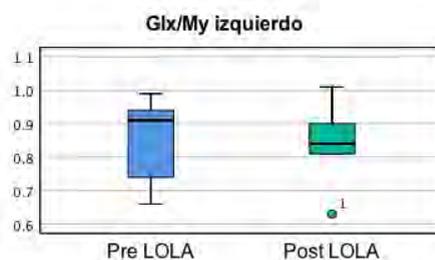
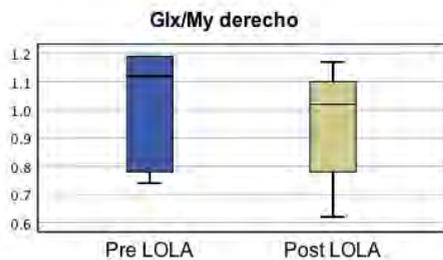
Tabla 6. Proporción de metabolitos en pacientes con encefalopatía hepática mínima (**parietal izquierdo**).

Proporción de metabolito	Pre LOLA*	Post LOLA*	p
NAA/Cr	1.51(1.45, 1.75)	1.44(1.27, 1.61)	0.080
Cho/Cr	1.01(0.92, 1.10)	0.94(0.83, 1.03)	0.345
Glx/Cr	0.54(0.48, 0.56)	0.49(0.42, 0.57)	0.500
My/Cr	0.62(0.56, 0.68)	0.59(0.53, 0.66)	0.216
Glx/My	0.85(0.70, 0.96)	0.84(0.72, 0.95)	0.786
NAA/Glx	3.04(2.69, 3.46)	2.94(2.60, 3.34)	0.500
Cho/Glx	1.94(1.76, 2.18)	1.89(1.73, 2.09)	0.500
Glx/(Cho+Cr)	0.26(0.24, 0.28)	0.26(0.23, 0.28)	1.000

*Valores expresados en mediana (rango intercuartil)

Gráfica 1. Distribuciones de las proporciones de metabolitos en parietales derecho e izquierdos (pre y post tratamiento).





DISCUSIÓN

La mayoría de los estudios previos con espectroscopia por resonancia magnética se han realizado en pacientes con encefalopatía hepática manifiesta (Rovira et al, 2008; Chavarria, 2015), siendo pocos los que comparan cambios en los metabolitos en la encefalopatía hepática mínima, y aún menos en los que se analizan los cambios posterior a una terapéutica (Grover et al, 2016).

Dadas las implicaciones pronósticas de la encefalopatía hepática mínima con el desarrollo de encefalopatía manifiesta, en este estudio decidimos evaluar los efectos de la terapia con L- ornitina L- aspartato a nivel de los metabolitos cerebrales, tomando como base observaciones previas que sugieren cambios significativos tanto en las pruebas psicométricas como en la FCP (Abdo-Francis, 2013; Rai et al, 2015; Grover et al, 2016).

En la comparación de las proporciones de los metabolitos cerebrales entre el grupo de pacientes con insuficiencia hepática sin y con EHM, encontramos como único hallazgo significativo una disminución en la proporción My/Cr. Al ser la creatina el metabolito más estable, podríamos atribuir esta observación a la disminución del mioinositol en pacientes con encefalopatía hepática, previamente reportado en otros estudios (Laubenberger et al., 1997; Geissler et al., 1997; Ciećko-Michalska et al., 2012; Kooka et al., 2016). Así mismo, llama la atención que los hallazgos estadísticamente significativos se encontraran únicamente en la región parietal derecha, ya que la mayoría de las investigaciones previas se han concentrado en regiones del hemisferio izquierdo (dominante para pacientes diestros), pudiendo atribuirse estos hallazgos a una lateralización bioquímica que se ha reportado para las regiones parietal, occipital, temporal, frontal, talamo y cerebelo en sujetos normales (Jayasundar, 2002; Jayasundar y Raghunathan, 1997).

Existen algunas limitaciones potenciales de este estudio que deben tenerse en cuenta al interpretar los resultados. Primero, el número reducido de pacientes que resultaron positivos para encefalopatía hepática mínima, esto en parte por la cantidad de criterios de exclusión utilizados para evitar confusores con otros tipos de encefalopatías, así como los necesarios para someter a los pacientes a un estudio de resonancia magnética. Por otra parte, al ser el Hospital Regional ISSSTE Lic Adolfo López Mateos un centro de atención de tercer nivel, la mayoría de los pacientes de la clínica de hígado se encuentran en estadios avanzados de la enfermedad, con episodios previos de encefalopatía manifiesta.

Segundo, a pesar de que existen diversos estudios sobre los cambios metabólicos medidos por espectroscopia en encefalopatía hepática mínima, no existe una estandarización en cuanto al protocolo que debe usarse en el resonador, es decir, el tiempo de eco, la región de interés óptima para la medición de estas sustancias, el uso de single o multi voxel, y la determinación de metabolitos en ambos hemisferios. Tercero, el tiempo de las mediciones post terapéuticas se decidió a 4 semanas de forma arbitraria, ya que aunque se han observado cambios clínicos desde los 4 días de tratamiento, éstos han sido en pacientes con encefalopatía manifiesta y en la presentación intravenosa del medicamento (Amodio y Ampuero, 2018), y aún no está determinado a partir de qué semana del tratamiento oral comienzan los efectos y cuándo se alcanza el efecto máximo. Es por esto que un estudio a mayor plazo permitiría analizar si las diferencias en las proporciones de metabolitos observadas en el hemisferio derecho son un primer paso hacia la normalización y posteriormente se generalizan, o continúan existiendo solamente en esta región cerebral.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio sugieren diferencias significativas post tratamiento en las proporciones de NAA/ Cr, Glx/Cr, y Glx/(Cho+Cr) en la región parietal derecha, las cuales son evidenciables desde las 4 semanas de tratamiento con L-ornitina L-aspartato. Sin embargo, se requieren estudios con mayor número de pacientes, multicéntricos, aleatorizados, y con un protocolo estricto de espectroscopía por resonancia magnética para corroborar los hallazgos aquí encontrados, y poder llegar a conclusiones en cuanto a la utilización de la L-ornitina L-aspartato en un contexto clínico.

ANEXOS

Anexo 1. Formato de consentimiento informado.

ISSSTE Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos
Avenida Universidad 1321 Col. Florida Del. Álvaro Obregón, Ciudad de México

Fecha: _____

Título del estudio: Cambios en espectroscopia por resonancia magnética en encefalopatía hepática mínima pre y post tratamiento con L-ornitina L-aspartato.

Investigador principal: Dra. Ruth Lizetth Robles Rodríguez. Ced. Prof. 8443655

Yo _____, de _____ años de edad acepto mi participación de manera libre y voluntaria en el presente protocolo de investigación, en el entendido que:

El estudio consta de la detección de encefalopatía hepática en su forma mínima, es decir, que aún no tiene manifestaciones clínicas. Para tal efecto se realizará la aplicación de un examen psicométrico, toma de muestras de sangre, y realización de dos resonancias magnéticas. Duración aproximada del estudio: 1 mes.

Durante la duración del estudio se utilizará el fármaco L-ornitina L-aspartato, con registro sanitario 243M2000 SSA, aprobado para su uso en encefalopatía.

Se me ha explicado detalladamente los beneficios del estudio (mejoría de la función cognoscitiva) y sus riesgos (reacción adversa al fármaco)

Se han contestado todas mis preguntas y dudas sobre el estudio

Mis datos personales serán manejados de forma confidencial y no se publicará mi nombre ni historial clínico.

No cuento con ningún dispositivo de marcapasos ni implantes metálicos.

Puedo retirarme del estudio en cualquier momento, sin necesidad de explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Se me ha entregado copia de esta carta de consentimiento informado fechada y firmada.

Nombre y firma del participante

Dra Ruth Lizetth Robles Rodríguez
Investigador principal

Testigo

Anexo 2. Prueba de números y símbolos.

Nombre del paciente: _____

Fecha de nacimiento: _____

Fecha de la prueba: _____ Hora de la prueba: _____

Tiempo de la prueba: _____ Errores: _____

1	2	3	4	5	6	7	8	9											
∇	□	•	△	×	□	□	•	□											
2	1	3	1	4	2	1	3	5	3	2	1	4	2	1	3	1	2	4	1

1	2	3	4	5	6	7	8	9											
∇	□	•	△	×	□	□	•	□											
2	1	3	1	2	1	3	1	4	2	4	2	5	1	4	3	5	3	6	2
1	6	5	2	4	7	3	5	1	7	6	3	8	5	3	6	4	2	1	8
9	2	7	6	3	5	8	3	6	5	4	9	7	1	8	5	3	6	8	2
7	1	9	3	8	2	5	7	4	1	6	7	4	5	8	2	9	6	4	3

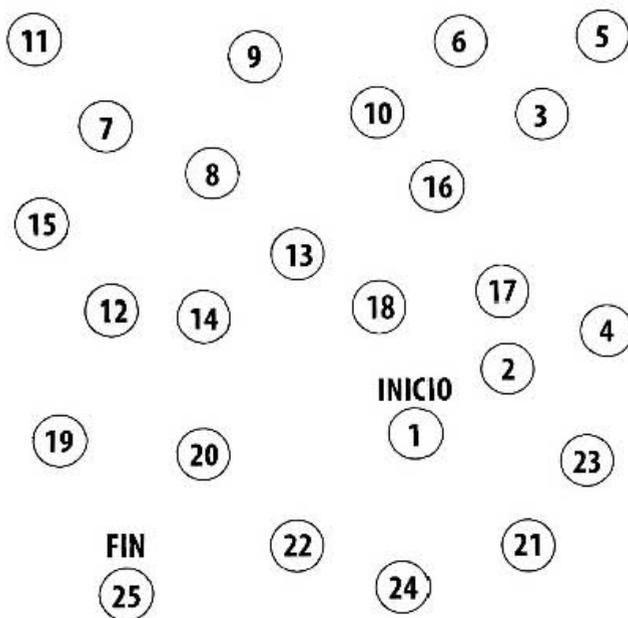
Anexo 3. Prueba de secuencia de números.

Nombre del paciente: _____

Fecha de nacimiento: _____

Fecha de la prueba: _____ Hora de la prueba: _____

Tiempo de la prueba: _____ Último número conectado: _____



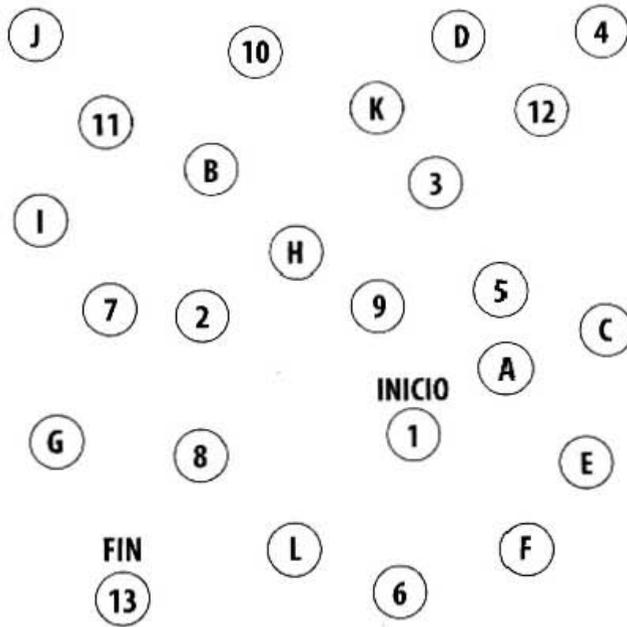
Anexo 4. Prueba de secuencia de números y letras.

Nombre del paciente: _____

Fecha de nacimiento: _____

Fecha de la prueba: _____ Hora de la prueba: _____

Tiempo de la prueba: _____ Último número/letra conectados: _____



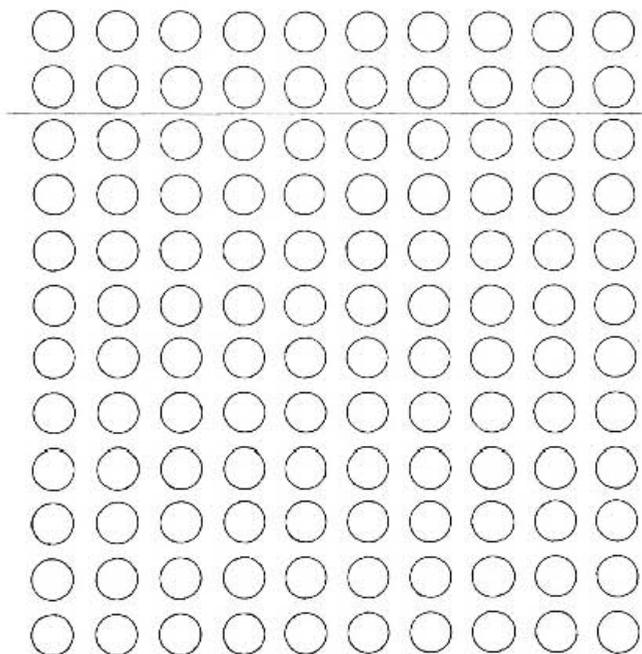
Anexo 5. Prueba de marcar el centro del círculo.

Nombre del paciente: _____

Fecha de nacimiento: _____

Fecha de la prueba: _____ Hora de la prueba: _____

Tiempo de la prueba: _____



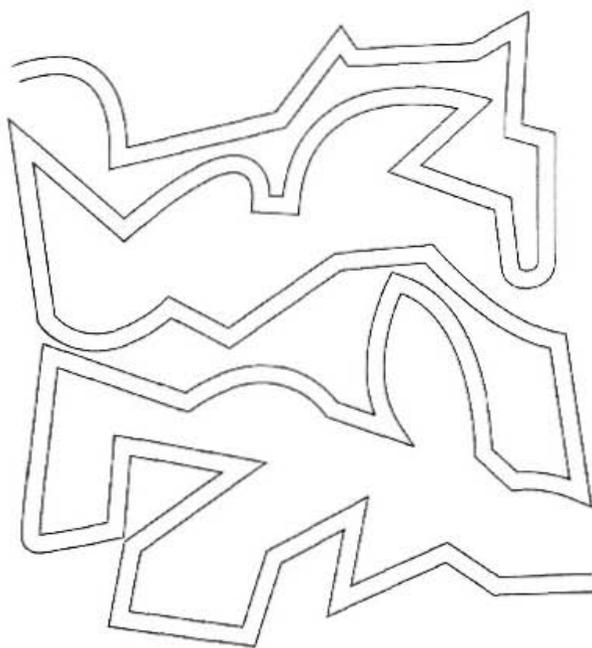
Anexo 6. Prueba de seguimiento de líneas.

Nombre del paciente: _____

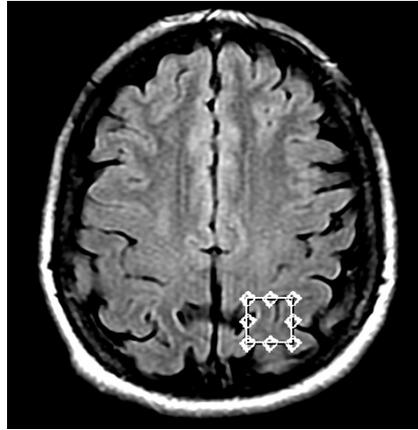
Fecha de nacimiento: _____

Fecha de la prueba: _____ Hora de la prueba: _____

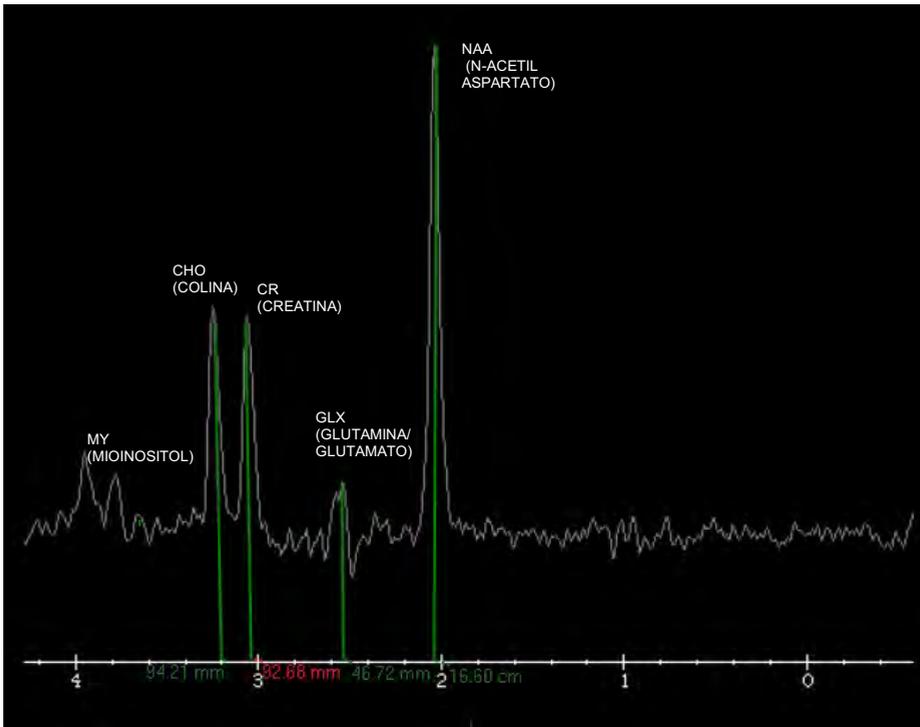
Tiempo de la prueba: _____ Errores: _____



Anexo 7. Área de interés para espectroscopia.



Anexo 8. Metabolitos en espectroscopia



BIBLIOGRAFÍA

Abdo-Francis, J., Ornelas-Escobedo, E., Tenorio-Flores, C., Jiménez-Ponce, F., Ramírez-Tapia, Y. and Kershenovich-Stalnikowitz, D. (2013). Frecuencia crítica de centelleo como evaluación de la respuesta terapéutica en pacientes con encefalopatía hepática mínima. *Revista Médica del Hospital General de México*, 76(3), pp.125-131.

Amodio, P. y Ampuero, J. (2018). Solving doubts about L-ornithine L-aspartate for overt hepatic encephalopathy: Whom and how to treat. *Hepatology*, 67(2), pp.476-478.

Bajaj, J., Cordoba, J., Mullen, K., Amodio, P., Shawcross, D., Butterworth, R. and Morgan, M. (2011). Review article: the design of clinical trials in hepatic encephalopathy – an International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN) consensus statement. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 33, pp.739–747.

Das, A., Dhiman, R., Saraswat, V., Verma, M. and Naik, S. (2001). Prevalence and natural history of subclinical hepatic encephalopathy in cirrhosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 16(5), pp.531-535.

Duarte-Rojo, A., Estradas, J., Hernández-Ramos, R., Ponce-de-León, S., Córdoba, J. and Torre, A. (2011). Validation of the Psychometric Hepatic Encephalopathy Score (PHES) for Identifying Patients with Minimal Hepatic Encephalopathy. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(10), pp.3014-3023.

Chavarria, L. and Cordoba, J. (2015). Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy in Hepatic Encephalopathy. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 5, pp.S69-S74.

Ciećko-Michalska, I., Dziedzic, T., Banyś, R., Senderecka, M., Binder, M., Wyczęsany, M., Szewczyk, J., Wójcik, J., Słowik, A. and Mach, T. (2012). Does magnetic resonance spectroscopy identify patients with minimal hepatic encephalopathy?. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*, 46(5), pp.436-442.

Cousins, J. (1995). Clinical MR spectroscopy: fundamentals, current applications, and future potential. *American Journal of Roentgenology*, 164(6), pp.1337-1347.

Dejong, C., van de Poll, M., Soeters, P., Jalan, R., & Olde Damink, S. (2007). Aromatic Amino Acid Metabolism during Liver Failure. *The Journal Of Nutrition*, 137(6), pp.1579S-1585S.

Geissler, A., Lock, G., Fründ, R., Held, P., Hollerbach, S., Andus, T., Schölmerich, J., Feuerbach, S. and Holstege, A. (1997). Cerebral abnormalities in patients with cirrhosis detected by proton magnetic resonance spectroscopy and magnetic resonance imaging. *Hepatology*, 25(1), pp.48-54.

Gomez, C. y Restrepo, J. (2016). Encefalopatía hepática mínima. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31(2), pp.154-160.

Grover, V., McPhail, M., Wylezinska-Arridge, M., Crossey, M., Fitzpatrick, J., Southern, L., Saxby, B., Cook, N., Cox, I., Waldman, A., Dhanjal, N., Bak-Bol, A., Williams, R., Morgan, M. and Taylor-Robinson, S. (2016). A longitudinal study of patients with cirrhosis treated with L-ornithine L-aspartate, examined with magnetization transfer, diffusion-weighted imaging and magnetic resonance spectroscopy. *Metabolic Brain Disease*, 32(1), pp.77-86.

Hassan, E., Abd El-Rehim, A., Seifeldein, G. and Shehata, G. (2014). Minimal hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis: Magnetic resonance spectroscopic brain findings versus neuropsychological changes. *Arab Journal of Gastroenterology*, 15(3-4), pp.108-113.

Jayasundar, R. (2002). Human brain: biochemical lateralization in normal subjects. *Neurology India*, 50(3), pp.267-271.

Jayasundar, R. and Raghunathan, P. (1997). Evidence for left-right asymmetries in the proton MRS of brain in normal volunteers. *Magnetic Resonance Imaging*, 15(2), pp.223-234.

Jover, M., Hoyas, E., Grande, L. and Romero-Gómez, M. (2009). Encefalopatía hepática mínima. *Revista de Gastroenterología de México*, 74(1), pp.26-34.

Kooka, Y., Sawara, K., Endo, R., Kato, A., Suzuki, K. and Takikawa, Y. (2015). Brain metabolism in minimal hepatic encephalopathy assessed by 3.0-Tesla magnetic resonance spectroscopy. *Hepatology Research*, 46(4), pp.269-276.

Laubenberger, J., Haussinger, D., Bayer, S., Gufler, H., Hennig, J. and Langer, M. (1997). Proton magnetic resonance spectroscopy of the brain in symptomatic and asymptomatic patients with liver cirrhosis. *Gastroenterology*, 112(5), pp.1610-1616.

Montgomery, J. and Bajaj, J. (2010). Advances in the Evaluation and Management of Minimal Hepatic Encephalopathy. *Current Gastroenterology Reports*, 13(1), pp.26-33.

Öz, G., Alger, J., Barker, P., Bartha, R., Bizzi, A., Boesch, C., Bolan, P., Brindle, K., Cudalbu, C., Dinçer, A., Dydak, U., Emir, U., Frahm, J., González, R., Gruber, S., Gruetter, R., Gupta, R., Heerschap, A., Henning, A., Hetherington, H., Howe, F., Hüppi, P., Hurd, R., Kantarci, K., Klomp, D., Kreis, R., Kruiskamp, M., Leach, M., Lin, A., Luijten, P., Marjańska, M., Maudsley, A., Meyerhoff, D., Mountford, C., Nelson, S., Pamir, M., Pan, J., Peet, A., Poptani, H., Posse, S., Pouwels, P., Ratai, E., Ross, B., Scheenen, T., Schuster, C., Smith, I., Soher, B., Tkáč, I., Vigneron, D. and Kauppinen, R. (2014). Clinical Proton MR Spectroscopy in Central Nervous System Disorders. *Radiology*, 270(3), pp.658-679.

Prakash, R., Kanna, S. and Mullen, K. (2013). Evolving Concepts: The Negative Effect of Minimal Hepatic Encephalopathy and Role for Prophylaxis in Patients With Cirrhosis. *Clinical Therapeutics*, 35(9), pp.1458-1473.

Rai, V., Sharma, V., Chittawar, S. and Choudhuri, G. (2015). Evaluation of Critical Flicker Frequency in detecting and Monitoring Minimal Hepatic Encephalopathy. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 4(61), pp.10704-10712.

Redeh.org. (2018). *Diagnóstico de encefalopatía hepática mínima mediante test psicométricos (PHES)*. [online] Disponible en: <http://www.redeh.org/phesapp/datos.html>

Rose, C., Michalak, A., Pannunzio, P., Therrien, G., Quack, G., Kircheis, G. and Butterworth, R. (1998). L-Ornithine-L-Aspartate in Experimental Portal-Systemic Encephalopathy: Therapeutic Efficacy and Mechanism of Action. *Metabolic Brain Disease*, 13(2), pp.147-157.

Rovira, A., Alonso, J. and Córdoba, J. (2008). MR Imaging Findings in Hepatic Encephalopathy. *American Journal of Neuroradiology*, 29(9), pp.1612-1621.

Torre, A., Bosques, F., Cortez, C., Rivera, J. and Uribe, M. (2009). Guías clínicas de diagnóstico y tratamiento de la encefalopatía hepática. Fisiopatología y diagnóstico. *Revista de Gastroenterología de México*, 74(2), pp.164-169.

Torre, A., Guerrero-Hernández, I. and Uribe, M. (2006). Encefalopatía hepática mínima: Características, diagnóstico e implicaciones clínicas. *Revista de Gastroenterología de México*, 71(1), pp.63-70.

Vilstrup, H., Amodio, P., Bajaj, J., Cordoba, J., Ferenci, P., & Mullen, K. et al. (2014). Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study Of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology*, 60(2), pp. 715-735.