

MARCADORES DIAGNÓSTICOS Y MECANISMOS NEUROQUÍMICOS DE LA ENCEFALOPATÍA SECUNDARIA A LA INSUFICIENCIA HEPÁTICA *

Carlos A. Hernandez-Avila¹, Hector A. Ortega-Soto^{2,3}

SUMMARY

Hepatic encephalopathy (HE) is a complex neuropsychiatric disorder secondary to acute or chronic failure of the liver. No specific diagnostic markers for this condition are available and the exact neuro-chemical mechanism underlying this condition is unknown. The neurotoxic effects of ammonia accumulation, the production of "false neurotransmitters", and the enhancement of the inhibitory GABAergic tone in the CNS have been proposed as plausible mechanisms for this disorders. Nevertheless, researches exploring these hypotheses have yielded contradictory findings. Several reports suggest that the increased levels of endogenous benzodiazepine receptor ligands (BZDRL) may play a role in the pathogenesis of HE, though the evidence supporting this hypothesis is inconclusive. This suggests that neuropsychiatric symptoms in HE are difficult to explain only in terms of the accumulation of these compounds.

Key words: Hepatic encephalopathy, neurochemistry, diagnostic markers, benzodiazepines.

RESUMEN

La encefalopatía hepática (EH) es un trastorno neuropsiquiátrico complejo secundario a la insuficiencia hepática aguda o crónica, para el cual no se cuenta con marcadores diagnósticos específicos que contribuyan a dilucidar su mecanismo neuroquímico exacto. Como posibles mecanismos de este trastorno se han propuesto los efectos neurotóxicos de la acumulación del amonio, la producción de "neurotransmisores falsos", y el incremento del tono inhibitorio GABAérgico en el SNC. No obstante, las diversas investigaciones que han explorado estas hipótesis han arrojado hallazgos contradictorios. Diversos informes han propuesto que el incremento de las concentraciones de

ligandos endógenos en el receptor de las benzodiazepinas (LRBZD) pudiera contribuir a la patogénesis de la EH. Sin embargo, los datos disponibles también sugieren que los síntomas neuropsiquiátricos de la EH difícilmente pueden explicarse únicamente por la acumulación de estos compuestos.

Palabras clave: Encefalopatía hepática, neuroquímica, marcadores diagnósticos, benzodiazepinas.

INTRODUCCIÓN

La encefalopatía hepática (EH) es un síndrome caracterizado por el deterioro de la función mental que ocurre como complicación de la falla hepática en los pacientes con enfermedad hepatocelular aguda, subaguda o crónica. A pesar de desconocerse la patogénesis precisa de este síndrome se considera que el incremento de la inhibición neuronal es un componente importante.

Se considera que la EH es reversible y no está asociada con las alteraciones estructurales del SNC, aunque se desconoce si los episodios recurrentes de EH pueden condicionar la lesión neuronal. En algunos enfermos, particularmente en aquellos que han fallecido de cirrosis y cortocircuitos portal-sistémicos, se ha descrito un incremento reversible y específico del número y volumen de los astrocitos del Alzheimer de tipo II en la sustancia gris del cerebro, del cerebelo, del putamen y del *globus pallidus* (99). Asimismo, se ha de-

¹ University of Connecticut School of Medicine. Department of Psychiatry, Alcohol Research Center. Farmington, Connecticut 06030. Correo electrónico: hernand@psychiatry.uconn.edu; telefono: (860) 679-4629; facsimile: (860) 679-1316.

² Departamento de Psiquiatría y Salud Mental de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. Universitaria, México D.F.

³ División de Servicios Clínicos del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Calzada México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, 14370, Mexico, D.F. Teléfono: 5655-2811 ext.379. Correo electrónico: ortegash@imp.edu.mx

Correspondencia: Dr. Héctor A. Ortega-Soto.

* Este trabajo es parte de la tesis para obtener el grado de Maestro en Psiquiatría que presentó el doctor Carlos A. Hernández-Avila.

Recibido: 15 de enero de 2001

Aceptado: 25 de enero de 2001

mostrado el efecto tóxico del amoníaco sobre los astrocitos en cultivo (33), aunque se desconoce cuál sea el significado de estos hallazgos.

El espectro de las anormalidades neuropsiquiátricas de la EH es muy amplio; desde los déficits cognoscitivos sutiles, detectables sólo por pruebas neuropsicológicas o electrofisiológicas, hasta el coma. Comúnmente, las primeras manifestaciones son las alteraciones conductuales en compañía de un deterioro intelectual leve, lo que aparentemente refleja un trastorno en el funcionamiento de las porciones anteriores del cerebro de manera bilateral. Conforme el cuadro avanza se pueden presentar alteraciones del sueño, enlentecimiento o agitación psicomotriz, un incremento importante del déficit cognoscitivo, cuadros confusionales, letargia y coma. El estado mental suele estimarse clínicamente con base en la clasificación (17) que se muestra en el cuadro 1. En general, se considera que la EH puede presentarse en dos formas principales, dependiendo de la rapidez con la que se desarrolle el daño hepático, de su extensión, de la magnitud de los cortocircuitos portal-sistémicos, así como de los factores precipitantes. Una de ellas es la encefalopatía portal-sistémica, considerada como la forma más común. Esta se acompaña del incremento de la circulación colateral debido al desarrollo de la cirrosis hepática (CH) y de la hiperten-

sión portal-sistémica secundaria. Característicamente, el principio de la encefalopatía es insidioso y su desarrollo es lento, y son frecuentes los episodios múltiples de este tipo de encefalopatía. Otra de las principales formas en las que se presenta la EH está relacionada con la insuficiencia hepática fulminante. Esta se caracteriza por ser un síndrome que se presenta rápidamente como resultado de inflamación severa o de la necrosis del hígado. En este caso el estado mental del paciente evoluciona de las alteraciones cognoscitivas leves al coma profundo en cuestión de horas o días. Frecuentemente la muerte se presenta como consecuencia de la herniación cerebral, secundaria al edema cerebral masivo, y del consecuente incremento de la presión intracraneal. El tercer tipo es la denominada encefalopatía portal-sistémica mínima, también denominada encefalopatía latente o subclínica, que generalmente ocurre en los pacientes con cirrosis, tanto de origen alcohólico como no alcohólico, y que se acompaña de hipertensión portal y cortocircuitos portal-sistémicos. El resultado del examen neuropsiquiátrico generalmente es normal, pero los resultados de las pruebas psicométricas y de los potenciales evocados visuales (PEV) frecuentemente revelan deficiencias características de este trastorno (60,94).

CUADRO 1
Clasificación de la severidad de la encefalopatía hepática¹

<i>Etapa de la EH</i>	<i>Síntomas Neuropsiquiátricos</i>	<i>Signos Neuromusculares</i>
1	Trastornos del sueño Disminución de la atención Inquietud psicomotriz Ansiedad Agitación e irritabilidad Apatía	Temblor Falta de coordinación
2	Cambios en la personalidad Afecto inapropiado Desorientación en el tiempo Respuestas lentas Memoria disminuida	Asterixis Ataxia Disartria Anormalidades en el tono muscular
3	Conducta extraña Ideas paranoides Confusión Somnolencia Estupor	Reflejos hiperactivos Rigidez muscular Babinski positivo
4	Coma: 1) Con reacción positiva a los estímulos dolorosos 2) Con reacción negativa a los estímulos dolorosos	

¹Conn H.O. y cols. Gastroenterology. 72: 573-83, 1977

LOS MARCADORES DIAGNÓSTICOS

Es importante señalar que no hay datos diagnósticos específicos sobre la encefalopatía hepática que permitan hacer un diagnóstico diferencial con otros estados confusionales o con las encefalopatías. En este sentido, ninguna prueba de laboratorio ha demostrado tener una sensibilidad o especificidad adecuada para evaluar este trastorno. Se ha observado que hay una buena correlación entre las concentraciones de glutamina y alfa-glutarato en el líquido cefalorraquídeo (LCR) con la etapa de la EH (89), sin embargo, raramente se indica la punción lumbar para estos pacientes. Las anomalías que aparecen en el electroencefalograma no son específicas de estas encefalopatías y pueden presentarse en otras. Desde antes de que aparezca el cuadro clínico pueden presentarse los cambios típicos, y persistir después de la remisión del síndrome. Sin embargo, suele haber una buena correlación entre la etapa clínica de la encefalopatía hepática y los cambios electroencefalográficos. En las etapas iniciales suele presentarse enlentecimiento progresivo del trazo electroencefalográfico. Posteriormente, conforme progresa el trastorno, aparecen ondas fásicas paroxísticas características, pero no específicas, así como la disminución progresiva de la amplitud del trazo, no acompañada del retorno de frecuencias rápidas, lo que se considera de mal pronóstico, al igual que los periodos de supresión del EEG (84,91). Las anomalías de los potenciales evocados somatosensoriales (PES), particularmente de los PEV, también guardan una estrecha correlación con la etapa clínica del síndrome, y se proponen como un índice cuantitativo de la gravedad de la EH (75,94). En los conejos con encefalopatía inducida por la administración de gama-vinil-GABA se ha observado un aumento significativo de la amplitud de la primera onda positiva (P1) (9). Por otro lado, los cambios en los PES se han empleado en el diagnóstico de la EH en los seres humanos. Al parecer, los componentes tardíos de los PES son de utilidad para determinar el estado de severidad de la EH, particularmente la latencia entre las ondas negativas N1 y N3 (92). Se ha observado que este componente se relaciona con la etapa clínica de la EH. En las etapas tardías, los PES difieren no sólo cualitativa sino cuantitativamente. Se ha descrito que las ondas P3 y N3 desaparecen durante la etapa 4 de la EH. Algunos investigadores han sugerido que la prolongación de la latencia del componente N3 de los PES puede discriminar entre la EH subclínica y la clínica (94). También se ha sugerido que la sensibilidad de los PES para diagnosticar la EH subclínica, es mayor que la de las pruebas neuropsicológicas (46), aunque los datos disponibles que apoyan esta idea son contradictorios (71).

LAS HIPÓTESIS SOBRE LOS MECANISMOS NEUROQUÍMICOS DE LA EH

Inicialmente se pensó que la EH se debía a la disminución de la síntesis hepática de una sustancia necesaria para el funcionamiento normal del cerebro, pero de naturaleza distinta a la glucosa (31). En la actualidad se considera que la génesis de la EH es multifactorial, y que es resultado de la incapacidad del hígado para eliminar del plasma las sustancias con propiedades neuromoduladoras. Los datos que apoyaron inicialmente esta hipótesis provinieron de las observaciones hechas durante los experimentos de circulación cruzada en las ratas con insuficiencia hepática experimental, en las que se mostró que la función cerebral, evaluada por el grado de anomalías electroencefalográficas, mejoraba si la sangre arterial de los roedores afectados se perfundía en la vena porta de las ratas normales. En contraste, el grado de mejoría de la función cerebral era menor cuando la perfusión se hacía en la vena yugular (65). Por otro lado, el hecho de que el tratamiento estándar de la EH, tendiente a reducir la interacción entre la flora bacteriana y las sustancias nitrogenadas mejora el cuadro de encefalopatía en los pacientes cirróticos, sugirió que la flora intestinal pudiera originar estas sustancias (17,18,99).

El estudio sobre la utilización cerebral del oxígeno (CMR_{O_2}) y de la glucosa ($CMR_{glucosa}$) durante los episodios de EH ha mostrado una reducción importante de la tasa del metabolismo cerebral. Se ha observado que esta reducción se da de manera paralela a la aparición y al progreso del deterioro cognoscitivo (38), por lo que se ha sugerido que la reducción en la utilización de la glucosa por el cerebro durante los episodios de EH probablemente se deba al decremento de la demanda de energía, debido, a su vez, a la reducción de la actividad neuronal. En este sentido, los modelos experimentales de la EH han demostrado que las manifestaciones neuropsiquiátricas de este síndrome preceden a la reducción de los niveles cerebrales de fosfatos de alta energía (38). Más aún, el estudio del metabolismo cerebral por medio de la espectroscopía con 1H -NMR y ^{31}P -NMR, en los modelos experimentales de EH fulminante, ha mostrado que las concentraciones de fosfatos de alta energía no se alteran significativamente durante los episodios de EH (10,20). Los hallazgos anteriores sugieren que la EH es consecuencia de la reducción de la actividad neuronal que resulta del deterioro de los sistemas de neurotransmisión, y no como se pensaba anteriormente, de una falla energética primaria en el cerebro. Como consecuencia de lo anterior, las hipótesis actuales sobre la patogénesis de la EH se han enfocado en las anomalías de los sistemas de neurotransmisión que pudieran ser responsa-

bles de la inhibición neuronal característica de este síndrome.

La hipótesis del amonio

Hace más de un siglo, Eck (35) describió los efectos de alimentar con carne a los perros con anastomosis porto-cava experimental. Dichos animales desarrollaron estupor, coma y la pérdida de la coordinación motora lo que sugiere que los productos nitrogenados eran los causantes de lo que entonces se denominó como “intoxicación por carne”. En 1952, Gabuzda y cols. (29) intentaron tratar la ascitis experimentada por los pacientes cirróticos con resinas de intercambio iónico. Estas resinas tienen la característica de absorber el sodio a cambio de liberar el amonio. Este tratamiento produjo la reducción significativa del volumen de la ascitis, pero precipitó síntomas neuropsiquiátricos severos similares a los observados durante los episodios de EH.

Desde entonces se ha aceptado de manera general la participación del amonio en el síndrome. El amonio es producto de la desintegración de las aminas, los aminoácidos y las purinas por las bacterias entéricas. Este se convierte en urea y glutamina a través del ciclo de Krebs, el cual se encuentra alterado en la insuficiencia hepática. En consecuencia, la concentración plasmática de amoniaco se eleva, aumentando su captación por el cerebro y el tejido muscular (48). También se sabe que en los niños con deficiencias congénitas del ciclo de Krebs, la hiperamonemia puede producir encefalopatía (27). Por el contrario, se ha observado que las medidas terapéuticas tendientes a evitar la absorción intestinal de amoniaco mejoran la encefalopatía en los pacientes cirróticos (18,99). En contraste con lo que se pudiera suponer, los valores plasmáticos de amoniaco se correlacionan poco con la severidad de la encefalopatía (58). Asimismo, en la intoxicación aguda por amoniaco y en la hiperamonemia congénita, las convulsiones son frecuentes y características, mientras que éstas son raras en la EH aguda o crónica (18), lo que sugiere que los mecanismos neuroquímicos son diferentes en estas dos situaciones. Además, las cargas de amoniaco en los pacientes con cirrosis e insuficiencia hepatocelular parecen no producir las alteraciones en el EEG que se observan durante los episodios de EH.

Se ha propuesto que el amoniaco tiene un efecto deletéreo sobre los mecanismos energéticos del SNC, principalmente sobre el ciclo del ácido tricarbóxico, en el que la producción de alfa-cetoglutarato se reduce con el aumento de la producción de glutamina (11). Sin embargo esto no ha podido confirmarse en otros estudios (21), lo que ha fortalecido la idea de que la alteración en

el estado energético cerebral durante la EH es la consecuencia, más que la causa, de la encefalopatía (19). Los datos acerca del efecto del amoniaco a nivel celular también son contradictorios. Se sabe que las concentraciones altas condicionan la desinhibición neuronal postsináptica (40), pero otros trabajos indican que se trata de una inhibición neuronal (63).

La teoría de los “neurotransmisores falsos” y de las neurotoxinas

En 1971, Fischer y Baldessarini (26) propusieron la hipótesis de los “neurotransmisores falsos o débiles” en la EH. Esta hipótesis propone que la EH es el resultado de la descarboxilación, en el intestino grueso, de varios aminoácidos, que conduce a la producción de “neurotransmisores falsos”, tales como la β -feniletilamina, la tiramina y la octopamina (26). Esta hipótesis sugiere que el incremento en la inhibición neuronal se debe a una síntesis preferencial de los “neurotransmisores falsos” y al reemplazo subsecuente de los “neurotransmisores verdaderos”, particularmente de la dopamina y de la noradrenalina. Esta hipótesis se ha complementado con otras observaciones en las que también se ha considerado al metabolito neuroactivo del triptofano triptamina y a las β -carbolinas como posibles “neurotransmisores falsos” (79).

También se ha sugerido que la disminución de la afinidad de los receptores dopaminérgicos observada en el estriado de las ratas con EH experimental inducida por galactosamina, pudiera contribuir a los efectos deletéreos de los “neurotransmisores falsos” (3,26). Sin embargo, se ha indicado que la administración intraventricular de octopamina no produce cambios en el estado de alerta de las ratas normales, a pesar de condicionar la depleción de la noradrenalina cerebral (100), además de que no se han encontrado alteraciones funcionales en los receptores postsinápticos dopaminérgicos de los conejos con coma hepático (22). En los ensayos clínicos controlados con L-dopa y bromocriptina en pacientes con EH, éstos no han mostrado ninguna mejoría clínica significativa después de suministrárselas (52,85,86).

Se ha sugerido que la combinación de neurotoxinas, específicamente mercaptanos, ácidos grasos de cadena corta y fenoles, pudiera intervenir en la presentación de la EH, por acumularse estas sustancias durante los episodios de insuficiencia hepática (90,97,101). En este sentido, se ha mostrado que la administración conjunta de dosis “subcomatosas” de amoniaco, metanetiol y ácido octanoico a las ratas normales, puede producir encefalopatía, observándose que las concentraciones cerebrales de estas neurotoxinas alcanzaron niveles similares a los de las ratas en coma secun-

dario a la desvascularización hepática experimental (97,101). También se ha descrito que los PEV de las ratas en coma, inducido por la infusión de cloruro de amonio, dimetildisulfuro y ácido octanoico, fueron similares a los PEV de las ratas con EH experimental, provocada por galactosamina (95). Se propone que la interferencia de estas sustancias con el funcionamiento de la ATPasa encargada del transporte de sodio y potasio, se debe al mecanismo de acción de las neurotoxinas en la EH, lo que condicionaría el aumento del sodio intracelular y las alteraciones de la neurotransmisión (77). Sin embargo, tampoco se han podido repetir estos hallazgos (41,58), además de que las concentraciones plasmáticas y cerebrales de los mercaptanos se correlacionan poco con las etapas más severas de la EH (1).

La teoría GABAérgica de la EH

Los datos experimentales sugieren que el incremento de la inhibición de la neurotransmisión, mediada por el ácido gama-amino-butírico (GABA), puede contribuir a la presentación de las manifestaciones de la encefalopatía hepática. El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC de los mamíferos. La utiliza entre 40 y 45 % de las terminaciones neuronales. Este es sintetizado por la descarboxilasa del glutamato. La mayor parte del GABA se almacena en las vesículas presinápticas, y cuando es liberado a la hendidura se une a su receptor en las neuronas postsinápticas. La sustancia es rápidamente apartada de la hendidura sináptica mediante un mecanismo de recaptura de alta afinidad por medio del cual es reincorporado a las vesículas de almacenamiento, y mediante su destrucción enzimática por la transaminasa del GABA (102). La activación del complejo receptor GABA-ionoforo de cloro condiciona el influjo de los iones de cloro, incrementando la polaridad de la membrana neuronal en reposo y el umbral de su potencial de acción. Hasta la fecha se han clonado cinco clases distintas de subunidades polipeptídicas: las subunidades α , β , γ , δ y ρ , así como numerosas isoformas de cada subunidad, que componen el principal receptor del GABA en el SNC, el receptor GABA_A (4,12). Se ha sugerido que el sitio específico del receptor GABA_A se encuentra en la subunidad β , aunque la coexpresión de la subunidad α , particularmente de la isoform α_1 parece ser necesaria para la expresión de un receptor con alta afinidad por el GABA (57).

Los datos experimentales que inicialmente apoyaron la hipótesis GABAérgica de la EH, provino de los experimentos en los que se observó que la instilación de menos de una μmol de GABA en la región del

hipocampo de los conejos en estado de alerta, produjo una disminución de la actividad locomotriz y el adormecimiento del animal. Estos cambios conductuales se acompañaron del predominio de la actividad delta en el EEG, similar al observado en el EEG de los pacientes con EH (78). Por otro lado, por medio de un ensayo de radioreceptor, y de la ulterior confirmación por medio del análisis cromatográfico, se detectó una concentración de GABA en el suero de los conejos con EH, 12 veces mayor que la detectada en el suero de los conejos control (76). Posteriormente, en otro estudio, las determinaciones seriadas de la concentración del GABA en el plasma, que siguieron a la inyección de galactosamina, mostraron que conforme la función hepática declinaba, los niveles plasmáticos del GABA se incrementaban progresivamente horas antes de que apareciera la encefalopatía (72). Este incremento en los niveles séricos del GABA se ha observado en los pacientes con encefalopatía secundaria a una enfermedad hepatocelular, tanto aguda como crónica, pero, particularmente, después de los episodios agudos de sangrado del tubo digestivo (23,72). Por otro lado, también se indicó que en los animales de laboratorio se había incrementado la amplitud de la onda P1 de los PEV. Este aumento se correlacionó con el grado de inhibición de la neurotransmisión mediada por la activación del receptor GABA_A (9). Otros datos adicionales que apoyan la hipótesis GABAérgica de la EH, provienen de un experimento en el que se empleó al inhibidor de la transaminasa del GABA: el gama-vinil-GABA. En este trabajo se mostró que el incremento de la actividad GABAérgica sérica y la consecuente acumulación del GABA no catabolizado en el cerebro, se asocia con la presentación de encefalopatía (36).

Para saber si la flora intestinal era la fuente de producción de los niveles excesivos del GABA en la EH, se determinaron, de manera simultánea, las concentraciones plasmáticas del GABA en la sangre proveniente de la aorta y de la vena porta. Se observó que la concentración plasmática del GABA fue dos veces mayor en el sistema portal, sugiriéndose que los niveles excesivos de este compuesto durante los episodios de EH eran de origen intestinal (73). También se ha indicado que la *escherichia coli* y el *bacteroides fragilis* cultivados anaeróticamente sintetizan al GABA de manera proporcional al tamaño de su población (73).

El estudio de las alteraciones de la barrera hematoencefálica durante los episodios de insuficiencia hepática, con el empleo del isómero no metabolizable del GABA, el ácido-C-alfa-aminoisobutírico (C-AIB), mostró un importante aumento de la permeabilidad a este compuesto pocas horas antes de la aparición de la encefalopatía, especialmente en algunas áreas de la materia gris (39).

A nivel neuronal, el análisis de las membranas postsinápticas provenientes del cerebro de los pacientes fallecidos durante los episodios de encefalopatía hepática, por medio de la técnica de radioreceptor, muestra la presencia de dos receptores con diferentes afinidades. El coma hepático se relacionó con un incremento del doble del número de ambos receptores, sin reportarse cambios en su afinidad. En contraste, durante los episodios de encefalopatía urémica, las membranas postsinápticas no mostraron dichas alteraciones (72,74). La manipulación farmacológica de los receptores GABA_A con el antagonista del GABA, bicuculina, así como con el bloqueo directo de los canales de cloro con isopropilbiciclofosfato en los conejos con EH experimental grado 2 y 3, condicionó la mejoría transitoria pero constante de la inhibición conductual, así como la normalización de la onda P1 de los PEV (42). Se ha observado que la dosis media de bicuculina que se requiere para provocar convulsiones es significativamente mayor en los conejos con EH que en los animales control, lo que sugiere que hay un incremento de la resistencia neuronal asociado con la EH por el efecto proconvulsivo de la bicuculina (9). Este efecto "anticonvulsivo" de la EH ha sido descrito por otros autores. Así, se ha reportado el aumento de la resistencia a los efectos proconvulsivos del inhibidor de la descarboxilasa de glutamato, el ácido 3-mercapto-propiónico, en las ratas con EH experimental (25).

A pesar del cúmulo de evidencias que han sugerido la intervención del sistema de neurotransmisión GABAérgico en la patogénesis de la EH, los estudios posteriores con diversos modelos animales y en tejido cerebral de origen humano han arrojado pruebas contradictorias que han cuestionado seriamente esta hipótesis. De esta manera, los hallazgos iniciales que describían las alteraciones en los niveles plasmáticos y cerebrales de GABA, así como las alteraciones en los sistemas enzimáticos del sistema GABAérgico, observados durante la insuficiencia hepática, no pudieron ser repetidos por otros investigadores (15,42,47,51, 53,69,82). Tampoco se han podido observar las alteraciones en la afinidad y en la densidad de los receptores GABAérgicos postsinápticos en el modelo experimental de la EH (15,42,50,53, 66). Aún más, el estudio del tejido cerebral de los pacientes fallecidos durante los episodios de coma hepático, no encontró cambios en las concentraciones del GABA, alteraciones en las enzimas del sistema GABAérgico ni cambios en la densidad y la afinidad de los receptores GABAérgicos (13). Otros trabajos de investigación sugieren que los informes iniciales, que describían el incremento de la densidad de los receptores GABAérgicos en el cerebro de los pacientes fallecidos durante los episodios de EH, pudieron haber sido sesgados por la inclusión de

una gran proporción de pacientes alcohólicos, ya que se sabe que las membranas postsinápticas provenientes del cerebro de los pacientes alcohólicos tienen un incremento en la densidad de los receptores GABAérgicos (83).

La teoría benzodiazepínica de la EH

Diversos estudios han documentado la asociación funcional entre los receptores del GABA y los receptores de las benzodiazepinas. Por ellos se sabe que estas últimas aumentan los efectos electrofisiológicos del GABA. Más aun, se ha demostrado que hay una asociación física entre los receptores benzodiazepínicos y los receptores GABA_A(69). Se ha sugerido que el sitio de unión de los ligandos del receptor de las benzodiazepinas (LRBZD) en el complejo receptor GABA-ionoforo de cloro se encuentra en la subunidad α . Al parecer, los receptores que se componen de las subunidades α_3 , así como de las subunidades β_1 y α_2 , se caracterizan por mostrar una mayor respuesta a los LRBZD (49). Además, parece ser que la coexpresión de la subunidad γ y la de sus diferentes isoformas (γ_1 , γ_2 , γ_3), es una condición necesaria para que ocurra la potenciación alostérica de la respuesta al GABA, producida por los LRBZD (62).

La similitud entre los modelos de EH y los de la encefalopatía inducida por agonistas benzodiazepínicos, particularmente la similitud de las anomalías en la respuesta de los PEV (75), ha sugerido la posibilidad de que la potenciación alostérica de los efectos del GABA, a nivel del receptor de las benzodiazepinas, intervenga en la EH. En este sentido, se ha indicado que aumenta la densidad de los receptores a las benzodiazepinas en las membranas postsinápticas de las ratas en coma hepático inducido por la administración de galactosamina (28). También se ha descrito un incremento en la sensibilidad de los receptores a las benzodiazepinas durante la insuficiencia hepática aguda experimental, que es susceptible de revertirse con la administración de antagonistas del receptor de las benzodiazepinas, como el flumazenil (9).

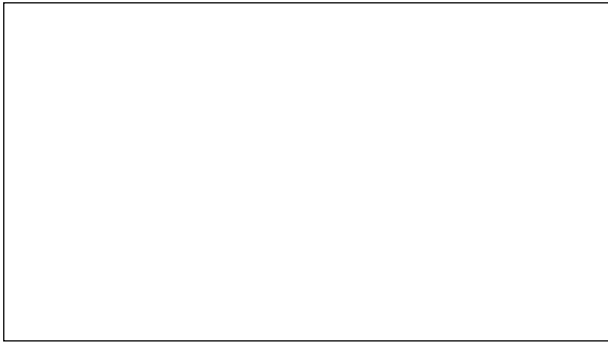
En una investigación que empleó la técnica del radioreceptor para determinar la actividad de tipo benzodiazepina en extractos del cerebro de las ratas con EH experimental, se encontraron concentraciones de sustancias con esta actividad de cuatro a seis veces mayores que las detectadas en las ratas control normales, identificándose estos compuestos como diazepam y N-desmetil-diazepam (8). En otro trabajo, por medio de radioinmunoensayo se detectó en el líquido cefalorraquídeo y en el suero de seis pacientes con EH, un nivel de actividad de tipo benzodiazepina cuatro

veces mayor que el encontrado en los controles sanos, en los pacientes con insuficiencia hepática sin encefalopatía, y en los pacientes con encefalopatía no hepática (55). Posteriormente, tres grupos independientes indicaron que los niveles plasmáticos de LRBZD, particularmente de diazepam y N-demetildiazepam, así como la concentración total de estos compuestos en los pacientes con diferentes estadios de EH, se correlacionaron significativamente con la severidad de la EH (6,37,56). En uno de estos trabajos (37) (Figura 1) indicamos que a pesar de que los pacientes con EH presentaron concentraciones séricas de LRBZD mayores que las detectadas en los pacientes con encefalopatía urémica y en los individuos sanos, no observamos diferencias entre los pacientes con EH y los pacientes con cirrosis hepática sin encefalopatía. En este último grupo también pudimos detectar niveles séricos de LRBZD farmacológicamente significativos ($>2\text{nMOL}$), aunque en el grupo de pacientes con EH la proporción de sujetos que presentaron concentraciones farmacológicas de LRBZD (70%) fue sustancialmente mayor que en el grupo con CH (20%). Estos hallazgos sugieren que los LRBZD plasmáticos comienzan a acumularse tempranamente, cuando los pacientes con CH aún no desarrollan indicios clínicos de encefalopatía o cuando ésta es subclínica. Posteriormente, los LRBZD continuarían acumulándose a lo largo de las etapas tempranas de la EH, hasta alcanzar su máxima concentración en las etapas tardías. Se ha propuesto que la elevación en la concentración de los LRBZD durante los episodios de EH se debe, en parte, a la síntesis de LRBZD por las bacterias intestinales (93). En este sentido se indicó que la administración del antibiótico rifaximina redujo en un 40% los niveles de los compuestos benzodiazepínicos en la sangre de los pacientes con cirrosis hepática (96). Por otro lado, por medio de la Tomografía por Emisión de Positrones (TEP), se ha observado un incremento en la recaptura cerebral del ligando del receptor benzodiazepínico C^{11} -Flumazenil en los pacientes con EH (70), lo que sugeriría el aumento de la permeabilidad de la barrera hemato-encefálica para estos compuestos durante los episodios de EH.

Los experimentos en modelos animales sobre la insuficiencia hepática aguda, así como las observaciones clínicas en las que se indica que disminuyen las alteraciones conductuales y las anormalidades electrofisiológicas secundarias a la administración del antagonista benzodiazepínico flumazenil, han proporcionado datos adicionales en favor de la teoría benzodiazepínica de la EH. Se ha descrito que este compuesto induce el incremento de la frecuencia de disparo espontáneo de las neuronas de Purkinje en los conejos con insuficiencia hepática fulminante (5). Los informes anecdóticos

sobre el uso de flumazenil en los pacientes con cirrosis hepática y EH, han descrito que, en general, disminuyen las alteraciones clínicas y electroencefalográficas. De esta manera, se indicó que el uso del flumazenil en los pacientes con EH secundaria a diversas hepatopatías (2,24,34,43) condicionó una significativa mejoría clínica del estado mental aunque ésta fue parcial y de breve duración. Los resultados de los estudios clínicos controlados, en los que se evaluó el efecto de la infusión de flumazenil en el estado cognoscitivo y en el electroencefalograma de los pacientes con EH subclínica o latente, en comparación con los sujetos sanos, mostró que después de la infusión de flumazenil los pacientes con EH experimentaron un acortamiento significativo en el tiempo de reacción simple, y una mejoría de los índices electroencefalográficos (16,32). Los hallazgos anteriores sugieren que el flumazenil tiene un efecto específico sobre el componente cognoscitivo de la prueba de reacción simple, particularmente sobre la velocidad del proceso de información, en los pacientes con EH latente (32). Dicho efecto estaría mediado por el efecto antagónico del flumazenil en los receptores benzodiazepínicos.

No obstante el cúmulo de datos en favor de la hipótesis benzodiazepínica de la EH, otros estudios han arrojado resultados contradictorios. Así, se ha indicado que aunque los cerebros de los pacientes con EH secundaria a la insuficiencia hepática fulminante presentaron niveles elevados de LRBZD (7), los cerebros de los pacientes con EH debida a la anastomosis portal-sistémica no mostraron cambios en las concentraciones de dichos ligandos (56). Tampoco ha sido posible detectar alteraciones en la densidad y afinidad de los receptores benzodiazepínicos en el tejido cerebral de los pacientes cirróticos fallecidos durante los episodios de EH (13). Por otro lado, se describió que la EH experimental, inducida por medio de la anastomosis porto-cava, no se revirtió con la administración de flumazenil, a pesar de que en este trabajo se administraron dosis suficientes para revertir el coma inducido con diazepam (98). Otro grupo de investigadores obtuvo resultados negativos después de intentar disminuir las manifestaciones conductuales de la EH, administrando flumazenil a los conejos con insuficiencia hepática isquémica (87). Otros informes han descrito también la falta de efectividad del flumazenil, o sólo una ligera mejoría, después de administrar dosis elevadas de flumazenil a las ratas con insuficiencia hepática inducida con tioacetamida (30,80). Los resultados de un ensayo clínico en seres humanos indican que no hubo efectos terapéuticos ni cambios en el electroencefalograma de los pacientes con EH después de administrarles flumazenil (88). Un segundo ensayo clínico controlado mostró que, a pesar de que la administración de flumazenil se relacionó con una reducción



CS = controles sanos, CH = cirrosis hepática, EH = encefalopatía hepática, EU = encefalopatía urémica.

¹ Correlación de Spearman: $r = .46$, $p = .007$.

Hernández-Ávila y cols., *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 23:217-222, 1998.

Figura 1. Concentración sérica de los ligandos del receptor de las benzodiazepinas por grupo diagnóstico (equivalentes de flunitrazepam)

de 50% de los síntomas de la EH, únicamente se observó en 40% de los pacientes. Los autores de este trabajo indicaron que a pesar de la disminución de la severidad de la EH, no pudieron detectar concentraciones plasmáticas de LRBZD en los pacientes que respondieron al flumazenil (61). Por otro lado, se han descrito anomalías importantes en la farmacocinética del flumazenil en los pacientes que padecen de cirrosis hepática (59), lo que ha sugerido que el aumento de la permeabilidad de la barrera hemato-encefálica para este compuesto, observado inicialmente en la TEP durante episodios de EH (70), probablemente fue consecuencia del aumento de la disponibilidad de flumazenil no ligado a proteínas. También se ha propuesto que la reducción de la tasa de eliminación del flumazenil durante los episodios de insuficiencia hepática podría contribuir a aumentar su recaptura cerebral (59).

Se ha sugerido que las discrepancias entre los trabajos que han tratado de determinar la presencia de LRBZD endógenos en los pacientes y en los modelos experimentales de EH, pudieran deberse a las diferencias en la metodología empleada para la extracción y purificación de estos ligandos. Se ha argumentado que los trabajos que han tenido hallazgos negativos han utilizado extracciones "crudas", y no han usado los procedimientos de purificación y de concentración (67). La importancia de estos procedimientos se debe a que en el plasma y en el tejido cerebral hay muchas sustancias que pueden interferir con el ensayo de radioreceptor (67).

Por otro lado, la falta de diferencias en las concentraciones séricas de LRBZD entre los pacientes con EH y los pacientes con CH sin encefalopatía, que se han descrito en algunos estudios, probablemente se deba a que los criterios estándar para el diagnóstico de la EH (cuadro 1) no permiten detectar los cuadros subclí-

nicos de EH caracterizados por déficits cognoscitivos sutiles. Pomier-Layrargues y cols.(60) indicaron que cuando se administró una batería de pruebas neuropsicológicas a pacientes con CH, aproximadamente 76% de ellos mostraron algún déficit neuropsicológico, particularmente lentificación en la ejecución de la prueba de Reitan, lo que sugiere que se trata de un cuadro subclínico de EH.

Sería interesante saber por qué una gran proporción de pacientes con CH presenta niveles farmacológicos de LRBZD y no desarrolla EH. Un elemento que ayudaría a explicar esto sería la influencia que ejercen los factores genéticos. Se ha comprobado que la sensibilidad del complejo receptor GABA-benzodiazepínico se encuentra bajo control genético (62). Esto sugiere que debe haber diferencias individuales en la sensibilidad cerebral a los LRBZD endógenos y, consecuentemente, en el desarrollo de la EH. Sin embargo, esta línea de investigación no ha sido explorada hasta el momento.

El hecho de que a lo largo de los diversos estudios que han indicado la presencia de LRBZD en el suero o plasma de los pacientes con EH (7,37,56), sólo entre 50 y 70% de los pacientes hayan mostrado concentraciones farmacológicamente significativas de LRBZD, sugiere que los síntomas neuropsiquiátricos de la EH no pueden explicarse únicamente por la presencia de estos compuestos. Se ha propuesto que otros factores diferentes del complejo receptor GABA-benzodiazepinas y de los compuestos benzodiazepínicos endógenos pudieran desempeñar un papel importante en la patogénesis de la EH. Estos factores probablemente sensibilizarían al cerebro y potenciarían los efectos de los LRBZD endógenos (54). En un mecanismo patofisiológico plausible, pero más complejo, que explicaría el origen de la EH, intervendría un desequilibrio entre el sistema de neurotransmisión inhibitorio GABA-benzodiazepínico y el sistema de neurotransmisión excitatorio glutaminérgico, que estaría condicionado por el incremento de la concentración plasmática y cerebral de amonio (64). Es bien sabido que la glutaminasa activada por fosfato es el paso limitante en la síntesis de glutamato, y que ésta es seriamente inhibida por las concentraciones elevadas de amonio (64). La acumulación del amonio en el cerebro durante los episodios de insuficiencia hepática podría resultar en la reducción significativa de la síntesis de glutamato, y en consecuencia, en una importante reducción de su liberación en la hendidura sináptica. Esto, a su vez, condicionaría la disminución del tono excitatorio en el sistema nervioso central. Por otro lado, la síntesis de GABA es afectada en menor grado por las alteraciones en la actividad de la glutaminasa (64), de tal forma que la acumulación de amonio en con-

junción con el incremento de los niveles plasmáticos y cerebrales de los LRBZD endógenos, condicionados por la insuficiencia hepática, conduciría a un exceso neto de la neurotransmisión inhibitoria, con el consecuente deterioro del estado mental característico de la EH. De manera congruente con esta hipótesis se ha indicado que se reducen las concentraciones de glutamato cerebral en los pacientes fallecidos durante los episodios de EH, así como en el modelo experimental de la EH (14). También se ha descrito que la recaptura de glutamato por los astrocitos se encuentra comprometida durante la insuficiencia hepática, además de disminuir la densidad de los receptores glutamérgicos postsinápticos (receptores NMDA y no-NMDA) (14).

Además de los LRBZD, se han descrito niveles elevados de neuropéptidos que poseen una gran afinidad con el complejo receptor GABA-benzodiazepinas en los seres humanos y en los modelos animales de EH. En un estudio se encontraron concentraciones elevadas del neuropéptido inhibidor del acoplamiento del diazepam (IAD) en el LCR de algunos pacientes con EH (68). El grado de severidad de la EH se correlacionó significativamente con la concentración del IAD en el LCR. Sin embargo, se sabe que el IAD es un ligando del receptor benzodiazepínico con efectos moduladores alostéricos negativos sobre la neurotransmisión GABAérgica, por lo que se esperaría que los niveles elevados de IAD resultaran en un decremento de la facilitación de la neurotransmisión GABAérgica y, por ende, en un mayor estado de alerta. El IAD, así como el producto de su fragmentación, el octadecanoneuropéptido, también se acopla al receptor periférico de las benzodiazepinas, localizado principalmente sobre las membranas mitocondriales de los astrocitos. Las concentraciones elevadas del IAD en el LCR de los pacientes con EH podrían ser consecuencia de los cambios astrocíticos en el cerebro de estos pacientes (68). En este sentido, se ha observado un incremento en la densidad de los receptores periféricos de las benzodiazepinas en el tejido cerebral de los pacientes alcohólicos con cirrosis hepática, que fallecieron durante episodios de EH (44) y en el de las ratas con EH secundaria a la anastomosis portal-cava (45).

CONCLUSIONES

La EH es un trastorno neuropsiquiátrico complejo, caracterizado por el aumento del tono inhibitorio del SNC, mediado de manera importante por el complejo receptor GABA-BZD-ionoforo de cloro. Sin embargo, los datos disponibles no permiten explicar las manifestaciones de este trastorno exclusivamente por este mecanismo. Las alteraciones en los sistemas de

neurotransmisión excitatorios, particularmente en el sistema de neurotransmisión glutamérgico, parece desempeñar un papel importante en la génesis de esta condición. Los estudios clínicos y preclínicos en los que se emplearon marcadores diagnósticos y de la severidad de la EH, más sensibles y específicos que la impresión clínica, tales como los PEV o las pruebas neuropsicológicas, podrían proporcionar evidencias más sólidas para apoyar o refutar la relación etiológica entre la EH y los mecanismos neuroquímicos propuestos.

REFERENCIAS

1. AL MARDINI H, BARTLETT K, RECORD CO: Blood and brain concentrations of mercaptans in hepatic and methanethiol induced coma. *Gut*, 25:284-290, 1984.
2. BANSKY G, MEIER PJ, ZIEGLER WH: Reversal of hepatic coma by benzodiazepine antagonist (Ro 15-7788). *Lancet*, 1:1324, 1985.
3. BARALDI M, ZENEROLI ML, RICCI P, CASELGRANDI E, VENTURA E: Down regulation of striatal dopamine receptors in experimental hepatic encephalopathy. *Life Sciences*, 32(13): 1417-25, 1983.
4. BARNARD EA, DARLISON MG, SEEBURG P: Molecular biology of the GABAA receptor: the receptor channel superfamily. *Trends Neuroscience*, 10:502-509, 1987.
5. BASILE AS, GAMMAL SH, MULLEN KD, JONES EA, SKOLNICK P: Differential responsiveness of cerebellar Purkinje neurons to GABA and benzodiazepine receptor ligands in an animal model of hepatic encephalopathy. *Neuroscience*, 8:2414-2421, 1988.
6. BASILE AS, HARRISON PM, HUGHES RD, GU ZQ, PANNELL L, MCKINNEY A, JONES EA, WILLIAMS R: Relationship between plasma benzodiazepine receptor ligand concentrations and severity of hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 19:112-121, 1994.
7. BASILE AS, HUGHES RD, HARRISON PM, MURATA Y, PANNELL L, JONES EA, WILLIAMS R, SKOLNICK P: Elevated brain concentrations of 1,4-benzodiazepines in fulminant hepatic failure. *New England Medicine*, 325:473-478, 1991.
8. BASILE AS, PANNELL L, JAOUNI T, GAMMAL SH, FALES HM, JONES EA, SKOLNICK P: Brain concentrations of benzodiazepines are elevated in an animal model of hepatic encephalopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87:5263-5267, 1990.
9. BASSETT ML, MULLEN KD, SKOLNICK P, JONES EA: Amelioration of hepatic encephalopathy by pharmacologic antagonism of the GABAA-benzodiazepine receptor complex in a rabbit model of fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 93:1069-1077, 1987.
10. BATES TE, WILLIAMS SR, KAUPPINEN RA, GADIAN DG: Observation of cerebral metabolites in an animal model of acute liver failure in vivo: a ¹H and ³¹P nuclear magnetic resonance study. *J Neurochemistry*, 53:102-110, 1989.
11. BESSMAN SP, BESSMAN AN: The cerebral and peripheral uptake of ammonia in liver disease with a hypothesis for the mechanism of hepatic coma. *J Clinical Investigation*, 34:622-628, 1975.
12. BURT DR, KAMATCHI GL: GABAA receptor subtypes: from pharmacology to molecular biology. *FASEB J*, 5:2916-2923, 1991.

13. BUTTERWORTH RF, LAVOI J, GIGUERE JF, POMIER-LAYRARGUES G: Affinities and densities of GABA-A receptors and of central benzodiazepine receptors are unchanged in autopsied brains tissue from cirrhotic patients with hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 8:1084-1088, 1988.
14. BUTTERWORTH RF: Neuroactive amino acids in hepatic encephalopathy. *Metabolic Brain Disease*, 11:165-173, 1996.
15. BUTTERWORTH RF, GIGUERE JF: Cerebral amino acids in portal-systemic encephalopathy: lack of evidence for altered gamma-aminobutyric acid (GABA) function. *Metabolic Brain Disease*, 1:221-228, 1986.
16. CADRANEL JF, EL YOUNSI M, PIDOUX B, ZYLBERBERG P, BENHAMOU Y, VALLA D, OPOLOP P: Flumazenil therapy for hepatic encephalopathy in cirrhotic patients: a double-blind pragmatic randomized, placebo study. *European J Gastroenterology Hepatology*, 7:325-329, 1995.
17. CONN HO, LEEVY CM, VLAHCEVIC ZR, RODGERS JB, MADDREY WC, SEEFF L, LEVY LL: Comparison of lactulose and neomycin in the treatment of chronic portal-systemic encephalopathy. A double blind controlled trial. *Gastroenterology*, 72:573-83, 1977.
18. CONN HO, LIEBERTHAL MM: *The Hepatic Coma Syndromes and Lactulosa*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1978.
19. CROSSLEY IR, WARDLE EN, WILLIAMS R: Biochemical mechanisms of hepatic encephalopathy. *Clinical Science*, 64:247-252, 1983.
20. DEUTZ NE, CHAMULEAU RA, DE GRAAF AA, BOVEE WM, DE BEER R: In vivo 31P NMR spectroscopy of the rat cerebral cortex during acute hepatic encephalopathy. *NMR Biomedicine*, 1:101-106, 1988.
21. DUFFY TE, VERGARA F, PLUM F: Alpha-ketoglutarate in hepatic encephalopathy. *Research Publications - Association for Research in Nervous Mental Disease*. 53: 39-52, 1974.
22. FERENCI P, JONES EA, HANBAUER I: Lack of evidence for impaired dopamine receptor function in experimental hepatic coma in the rabbit. *Neuroscience Letters*, 65:60-64, 1986.
23. FERENCI P, SCHAFER DF, KLEINBERGER G, HOOFNAGLE JH, JONES EA: Serum levels of gamma-aminobutyric-acid-like activity in acute and chronic hepatocellular disease. *Lancet*, 2:811-814, 1983.
24. FERENCI P, GRIMM G, GANGL A: Successful long-time treatment of chronic hepatic encephalopathy with a benzodiazepine antagonist. *Hepatology*, 7:1064, 1987.
25. FERREIRA MR, GAMMAL SH, JONES EA: Resistance to 3-mercaptopropionic acid-induced seizures in hepatic encephalopathy. *Hepato-Gastroenterology*, 44:766-769, 1997.
26. FISCHER JE, BALDESSARINI RJ: False neurotransmitters and hepatic failure. *Lancet*, 2:75-80, 1971.
27. FLANNERY DB, HSIA YE, WOLF B: Current status of hyperammonemic syndromes. *Hepatology*, 2:495-506, 1982.
28. FOWLER JM, SCHAFER DF: A mechanism for the increased sensitivity to benzodiazepines in hepatocellular failure: evidence from an animal model. *Gastroenterology*, 80:1359, 1981.
29. GABUZDA D, PHILIPS GB, DAVIDSON CS: Reversible toxic manifestations in patients with cirrhosis of the liver given cationic-exchange resins. *New England J Medicine*, 246:124-130, 1952.
30. GAMMAL SH, BASILE AS, GELLER D, SKOLNIK P, JONES EA: Reversal of the behavioural and electrophysiological abnormalities of an animal model of hepatic encephalopathy by benzodiazepine receptor ligands. *Hepatology*, 11:371-378, 1990.
31. GELGER A, MAGNES J, TAYLOR RM: Effect of blood constituents on uptake of glucose and on metabolic rate of the brain in perfusion experiments. *American J Physiology*, 177:138-149, 1954.
32. GOODAY R, HAYES PC, BZEIZI K, O'CARROLL RE: Benzodiazepine receptor antagonism improves reaction time in latent hepatic encephalopathy. *Psychopharmacology*, 119:295-298, 1995.
33. GREGORIOS JB, MOZES LW, NOREMBERG MD: Morphologic effects of ammonia on primary astrocyte cultures. II. Electron microscopic studies. *J Neuropathology Experimental Neurology*, 44:404-414, 1985.
34. GRIMM G, LENZ K, KLEINBERGER G: Ro 15-1788 improves coma in 4 out of 5 patients with fulminant hepatic failure: verification by long latency auditory and somatosensory evoked potentials. *J Hepatology*, 4:521, 1987.
35. HAHN M, MASSEN O, NENCKI M, PAVLOV J: Die eckse fistel zwischen der unteren hohlvene und der pfortader und ihre folgen für den organismus. *Arch Exp Path Pharmacol*, 32:161-170, 1983.
36. HAMMOND EJ, WILDER BJ: Gamma-vinyl GABA: a new antiepileptic drug. *Clinical Neuropharmacology*, 8:1-12, 1985.
37. HERNANDEZ-AVILA CA, SHOEMAKER WJ, ORTEGA-SOTO HA: Plasma concentrations of endogenous benzodiazepine-receptor ligands in patients with hepatic encephalopathy: a comparative study. *J Psychiatry Neuroscience*, 23:217-222, 1998.
38. HINDFELT B, PLUM F, DUFFY TE: Effect of acute ammonia intoxication on cerebral metabolism in rats with portacaval shunts. *J Clinical Investigation*, 59:386-396, 1977.
39. HOROWITZ ME, SCHAFER DF, MOLNAR P, JONES EA, BLASBERG RG, PATLAK CS, WAGGONER J, FENSTERMACHER JD: Increased blood-brain transfer in a rabbit model of acute liver failure. *Gastroenterology*, 84:1003-1011, 1983.
40. ILES JF, JACK JJ: Ammonia: assessment of its action on postsynaptic inhibition as a cause of convulsions. *Brain*, 103:555-578, 1980.
41. JONES DB, MULLEN KD, ROESSLE M, MAYNARD T, JONES EA: Hepatic encephalopathy. Application of visual evoked responses to test hypotheses of its pathogenesis in rats. *J Hepatology*, 4:118-126, 1987.
42. JONES EA, SKOLNICK P, GAMMAL SH, BASILE AS, MULLEN KD: NIH conference. The gamma-aminobutyric acid A (GABAA) receptor complex and hepatic encephalopathy. Some recent advances. *Annals Internal Medicine*, 110:532-46, 1989.
43. LAVIZZARI GS, STEINMAN E: Reversal of hepatic coma by benzodiazepine antagonist (Ro 15-1788). *Lancet*, 1:1324-1325, 1985.
44. LAVOIE J, BUTTERWORTH RF: Peripheral-type (mitochondrial) benzodiazepine receptors in hepatic encephalopathy. *Alcohol Alcoholism (Supl)*, 2:181-185, 1993.
45. LEONG DK, THERRIEN G, SWAIN MS, BUTTERWORTH RF: Densities of binding sites for the "peripheral-type" benzodiazepine receptor ligand 3H-PK11195 are increased in brain 24-hours following portacaval anastomosis. *Metabolic Brain Disease*, 9: 267-273, 1994.
46. LEVY LJ, BOLTON RP, LOSOWSKY MS: The use of the visual evoked potential (VEP) in delineating a state of subclinical encephalopathy. A comparison with the number connection test (NCT). *J Hepatology*, 5:211-217, 1987.
47. LEVY LJ, LOSOWSKY MS: Plasma gamma amino-butyric acid concentrations provide evidence of different mechanisms in the pathogenesis of hepatic encephalopathy in acute and chronic liver disease. *Hepato-Gastroenterology*, 36:494-498, 1989.

48. LOCKWOOD AH, MCDONALD JM, REIMAN RE, GELBARD AS, LAUGHLIN JS, DUFFY TE, PLUM F: The dynamics of ammonia metabolism in man. Effects of liver disease and hyperammonemia. *J Clinical Investigation*, 63:449-460, 1979.
49. LUDDENS H, WISDEN W: Function and pharmacology of multiple GABAA receptor subunits. *Trends Pharmacological Sciences*, 12:49-51, 1991.
50. MADDISON JE, WATSON WE, JOHNSTON GA: L-glutamate and gamma-aminobutyric acid uptake in synaptosomes from the cerebral cortex of dogs with congenital chronic hepatic encephalopathy. *Metabolic Brain Disease*, 10:135-141, 1995.
51. MICHALAK A, BUTTERWORTH J, BUTTERWORTH RF: Neuroactive amino acids and glutamate (NMDA) receptors in frontal cortex of rats with experimental acute liver failure. *Hepatology*, 24:908-913, 1996.
52. MICHEL H, SOLERE M, GRANIER P, CAUVET G, BALI JP, PONS F, BELLET-HERMANN H: Treatment of cirrhotic hepatic encephalopathy with L-dopa. A controlled trial. *Gastroenterology*, 79:207-211, 1980.
53. MORONI F, LOMBARDI G, CARLA V, LAL S, ETIENNE P, NAIR NP: Increase in the content of quinolinic acid in cerebrospinal fluid and frontal cortex of patients with hepatic failure. *J Neurochemistry*, 47:1667-1671, 1986.
54. MULLEN KD, BASILE AS: Benzodiazepine-receptor antagonists and hepatic encephalopathy: Where do we stand? *Gastroenterology*, 105:937-940, 1993.
55. OLASMAA M, ROTHSTEIN JD, GOLDMAN M: Endogenous benzodiazepines in hepatic encephalopathy. *Lancet*, 1:491-492, 1989.
56. OLASMAA M, ROTHSTEIN JD, GUIDOTTI A, WEBER RJ, PAUL SM, SPECTOR S, ZENEROLI ML, BARALDI M, COSTA E: Endogenous benzodiazepine receptor ligands in human and animal hepatic encephalopathy. *J Neurochemistry*, 55:2015-2023, 1990.
57. OLSEN RW, TOBIN AJ: Molecular biology of GABAA receptors. *EASEB J*, 4:1469-1480, 1990.
58. PAPPAS SC, FERENCI P, SCHAFER DF, JONES EA: Visual evoked potentials in a rabbit model of hepatic encephalopathy. II. Comparison of hyperammonemic encephalopathy, postictal coma, and coma induced by synergistic neurotoxins. *Gastroenterology*, 86:546-551, 1984.
59. POMIER-LAYRARGUES G, GIGUERE JF, LAVOIE J, WILLIAMS B, BUTTERWORTH RF: Pharmacokinetics of benzodiazepine antagonist Ro15-1788 in cirrhotic patients with moderate or severe liver dysfunction. *Hepatology*, 10:969-972, 1989.
60. POMIER-LAYRARGUES G, NGUYEN NH, FAUCHER C, GIGUERE JF, BUTTERWORTH RF: Subclinical hepatic encephalopathy in cirrhotic patients: Prevalence and relationship to liver function. *Canadian J Gastroenterology*, 5:121-125, 1991.
61. POMIER-LAYRARGUES G, GIGUERE JF, LAVOIE J, PERNEY P, GAGNON S, D'AMOUR M, WELLS J, BUTTERWORTH RF: Flumazenil in cirrhotic patients in hepatic coma: a randomized double-blind placebo-controlled crossover trial. *Hepatology*, 19:32-37, 1994.
62. PRITCHETT DB, SONTHEIMER H, SHIVERS BD, YMER S, KETTENMANN H, SCHOFIELD PR, SEEBURG PH: Importance of a novel GABAA receptor subunit for benzodiazepine pharmacology. *Nature*, 338:582-585, 1989.
63. RAABE W: The H-reflex in the encephalopathy due to ammonia intoxication. *Experimental Neurology*, 96:601-611, 1987.
64. RAO VL, MURTHY CR, BUTTERWORTH RF: Glutamatergic synaptic dysfunction in hyperammonemic syndromes. *Metabolic Brain Disease*, 7:1-20, 1992.
65. ROCHE-SICOT J, SICOT C, PEIGNOUX M, BOURDIAU D, DEGOS F, DEGOS JD, PRANDI D, RUEFF B, BENHAMOU JP: Acute hepatic encephalopathy in the rat: the effect of cross-circulation. *Clinical Science Molecular Medicine*, 47:609-615, 1974.
66. ROSSLE M, DECKERT J, JONES EA: Autoradiographic analysis of GABA- benzodiazepine receptors in an animal model of acute hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 10:143-147, 1989.
67. ROTHSTEIN JD: Benzodiazepine-receptor ligands and hepatic encephalopathy: a causal relationship? *Hepatology*, 19:248-250, 1994.
68. ROTHSTEIN JD, MCKHANN G, GUARNERI P, BARBACCIA ML, GUIDOTTI A, COSTA E: Cerebrospinal fluid content of diazepam binding inhibitor in chronic hepatic encephalopathy. *Annals Neurology*, 26:57-62, 1989.
69. ROY S, POMIER-LAYRARGUES G, BUTTERWORTH RF, HUET PM: Hepatic encephalopathy in cirrhotic and portocaval shunted dogs: Lack of changes in brain GABA uptake, brain GABA levels and brain glutamic acid decarboxylase activity and brain postsynaptic GABA receptors. *Hepatology*, 8:845-849, 1988.
70. SAMSON Y, BERNUAU J, PAPPATA S, CHAVOIX C, BARON JC, MAZIERE MA: Cerebral uptake of benzodiazepine measured by positron emission tomography in hepatic encephalopathy. *New England J Medicine*, 316:414-415, 1987.
71. SANDFORD NL, SAUL RE: Assessment of hepatic encephalopathy with visual evoked potentials compared with conventional methods. *Hepatology*, 8:1094-1098, 1988.
72. SCHAFER DF, THAKUR AK, JONES EA: Acute hepatic coma and inhibitory neurotransmission: increase in gamma-amino-butyric acid levels in plasma and receptors in brain. *Gastroenterology*, 79:1123, 1980.
73. SCHAFER DF, FOWLER JM, JONES EA: Colonic bacteria: a source of gamma-aminobutyric acid in blood. *Proceedings Society Experimental Biology Medicine*, 167:301-303, 1981.
74. SCHAFER DF, FOWLER JM, MUNSON PJ, THAKUR AK, WAGGONER JG, JONES EA: Gamma-aminobutyric acid and benzodiazepine receptors in an animal model of fulminant hepatic failure. *J Laboratory Clinical Medicine*, 102:870-880, 1983.
75. SCHAFER DF, PAPPAS SC, BRODY LE, JACOBS R, JONES EA: Visual evoked potentials in a rabbit model of hepatic encephalopathy. I. Sequential changes and comparisons with drug-induced comas. *Gastroenterology*, 86:540-545, 1984.
76. SCHAFER DF, WAGGONER JG, JONES EA: Sera from rabbits in acute hepatic coma inhibit the binding of gamma-amino-butyric acid. *Gastroenterology*, 78:1320, 1980.
77. SEDA HW, HUGHES RD, GOVE CD, WILLIAMS R: Inhibition of rat brain Na⁺K⁺-ATPase activity by serum from patients with fulminant hepatic failure. *Hepatology*, 4:74-79, 1984.
78. SMIALOWSKI A: The effect of intrahippocampal administration of gamma-amino-butyric acid (GABA). En: Fonum F (ed). *Amino Acids as Chemical Transmitters*. Plenum Press, Nueva York, 1978:1977-1980.
79. SOURKES TL: Tryptophan in hepatic coma. *J Neural Transmission (Supl)*, 14:79-86, 1978.
80. STEINDL P, PUSPOK A, DRUML W, FERENCI P: Beneficial effects of pharmacological modulation of the GABA - benzodiazepine receptor on hepatic encephalopathy in the rat: Comparison with uremic encephalopathy. *Hepatology*, 14:963-968, 1991.

81. TALLMAN J, THOMAS J, GALLAGER D: GABA-ergic modulation of benzodiazepine binding site sensitivity. *Nature*, 274:384-385, 1978.
82. THOMPSON JS, SCHAFFER DF, SCHAFFER GJ, HODGSON PE: Gamma-aminobutyric acid plasma levels and brain binding in Eck fistula dogs. *J Surgical Research*, 38:143-148, 1985.
83. TRAN VT, SNYDER SH, MAJOR LF, HAWLEY RJ: GABA receptors are increased in brains of alcoholics. *Annals Neurology*, 9:289-292, 1981.
84. TREWBY PN, CASEMORE C, WILLIAMS R: Continuous bipolar recording of the EEG in patients with fulminant hepatic failure. *Electroencephalography Clinical Neurophysiology*, 45:107-110, 1978.
85. URIBE M, FARCA A, MARQUEZ MA, GARCIA-RAMOS G, GUEVARA L: Treatment of chronic portal systemic encephalopathy with bromocriptine: a double-blind controlled trial. *Gastroenterology*, 76:1347-1351, 1979.
86. URIBE M, GARCIA-RAMOS G, RAMOS M, VALVERDE C, MARQUEZ MA, FARCA A, GUEVARA L: Standard and higher doses of bromocriptine for severe chronic portal-systemic encephalopathy. *American J Gastroenterology*, 78:517-22, 1983.
87. VAN DER RIJT CC, SCHALM SW, MEULSTEE J, STIJNEN T: Flumazenil therapy for hepatic encephalopathy: A double-blind cross-over study (Abstract). *Hepatology*, 10:590, 1989.
88. VAN DER RIJT CC, SCHALM SW, MEULSTEE J, STIJNEN T: Flumazenil therapy for hepatic encephalopathy. A double-blind cross over study. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 19:572-580, 1995.
89. VERGARA F, PLUM F, DUFFY TE: Alpha-ketoglutarate: increased concentrations in the cerebrospinal fluid of patients in hepatic coma. *Science*, 183:81-83, 1974.
90. WINDUS-PODEHL G, LYFTOGT C, ZIEVE L, BRUNNER G: Encephalopathic effect of phenol in rats. *J Laboratory Clinical Medicine*, 101:586-592, 1983.
91. WOODGATE C, SCOTT DF: Triphasic waves with particular emphasis on phase shift. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 55:39 P, 1983.
92. YANG SS, CHU NS, LIAW YF: Somatosensory evoked potentials in hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*, 89:625-630, 1985.
93. YURDAYDIN C, WALSH TJ, ENGLER HD, HA JH, LI Y, JONES EA, BASILE AS: Gut bacteria provide precursors of benzodiazepine receptor ligands in a rat model of hepatic encephalopathy. *Brain Research*, 679:42-8, 1995.
94. ZENEROLI ML, PINELLI G, GOLLINI G, PENNE A, MESSORI E, ZANI G, VENTURA E: Visual evoked potential: a diagnostic tool for the assessment of hepatic encephalopathy. *Gut*, 25:291-299, 1984.
95. ZENEROLI ML, VENTURA E, BARALDI M, PENNE A, MESSORI E, ZIEVE L: Visual evoked potentials in encephalopathy induced by galactosamine, ammonia, dimethyldisulfide, and octanoic acid. *Hepatology*, 2:532-538, 1982.
96. ZENEROLI ML, VENTURINI I, STEFANELLI S, FARINA F, MIGLIOLI RC, MINELLI E, AMEDEI ER, FERRIERI A, AVALLONE R, BARALDI M: Antibacterial activity of rifaximin reduces the levels of benzodiazepine-like compounds in patients with liver cirrhosis. *Pharmacological Research*, 35:557-560, 1997.
97. ZIEVE L, DOIZAKI WM, LYFTOGT C: Brain methanethiol and ammonia concentrations in experimental hepatic coma and coma induced by injections of various combinations of these substances. *J Laboratory Clinical Medicine*, 104:655-664, 1984.
98. ZIEVE L, FERENCI P, RZEPZYNSKI D, EBNER J, ZIMMERMANN C: A benzodiazepine antagonist does not alter the course of hepatic encephalopathy or neural gamma-aminobutyric acid (GABA) binding. *Metabolic Brain Disease*, 2:201-205, 1987.
99. ZIEVE L: Hepatic encephalopathy. En: Schiff L, Schiff ER (eds). *Diseases of the Liver*. JB Lippincott, Philadelphia, 1987, 925-948.
100. ZIEVE L, OLSEN RL: Can hepatic coma be caused by a reduction of brain noradrenaline or dopamine? *Gut*, 18:688-691, 1977.
101. ZIEVE L: The mechanism of hepatic coma. *Hepatology*, 1:360-365, 1981.
102. ZORUMSKY FC, ISENBERG EK: Insights into the structure and function of GABA-Benzodiazepine receptors: Ion channels and psychiatry. *American J Psychiatry*, 148:162-173, 1991.