



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

**INCLIVA | VLC**  
Biomedical Research Institute

**Universitat Politècnica de València**

**Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio  
Natural**

**Grado en Biotecnología**

**CARACTERIZACIÓN DEL DETERIORO COGNITIVO Y  
LA INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON  
ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA**

**Curso académico 2017/2018**

**Autor: CARLOS FERNÁNDEZ GARCÍA**

**Tutora UPV: LUCÍA SEGUÍ GIL**

**Tutora externa: CARMINA MONTOLIU FÉLIX**

**Valencia, junio de 2018**

# **CHARACTERIZATION OF COGNITIVE IMPAIRMENT AND INFLAMMATION IN PATIENTS WITH MINIMAL HEPATIC ENCEPHALOPATHY**

## **ABSTRACT**

Hepatic encephalopathy (HE) is a neuropsychiatric syndrome characterized by a series of neurological disorders resulting from liver failure, such as cirrhosis. Minimal hepatic encephalopathy (MHE) represents the initial stage of this disease and is characterized by mild and subtle cognitive impairment that worsens the quality of life of patients.

The EHM is diagnosed by the test called PHES. This test consists of a battery of 5 subtests, each of which evaluates a different cognitive aspect, if the result of this test is -4 or less, the patient is considered to have MHE. However, some patients classified as having no MHE due to PHES show some cognitive impairment; this group of patients is called "border-line". There is another type of test that evaluates cognitive and motor skills focused on characterizing this cognitive impairment.

On the other hand, the concentration of ammonium and the levels of interleukins IL-6 and IL-18 in blood have been measured, because a correlation has been found between the levels of hyperammonemia and inflammation with cognitive deficit.

This study aims to demonstrate that the PHES is not sensitive enough for the early diagnosis of cognitive deterioration while others are, to prove the existence of a borderline group and to relate the levels of ammonium and cytokines with cognitive impairment.

The results obtained in the different tests show that the PHES does not detect the presence of borderline patients, while with other tests they are identified and differentiated from patients without MHE. These results are corroborated by the concentration of the interleukins, since both patients with MHE and borderline have a higher interleukin concentration compared to subjects without MHE. Regarding ammonium, no significant variations were observed between different patients.

## **KEYWORDS**

PHES, minimal hepatic encephalopathy, neurological alterations, psychometric tests, inflammation, ammonium, interleukins.

**Alumno:** D. Carlos Fernández García

**Valencia, junio de 2018**

**Tutora Académica:** Dña Carmina Montoliu Félix

**Tutora UPV:** Dña Lucía Seguí Gil

# CARACTERIZACIÓN DEL DETERIORO COGNITIVO Y LA INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA

## RESUMEN

La encefalopatía hepática (EH) es un síndrome neuropsiquiátrico que se caracteriza por una serie de trastornos neurológicos resultantes de una insuficiencia hepática, como es la cirrosis. La encefalopatía hepática mínima (EHM) representa el estadio inicial de esta enfermedad y se caracteriza por presentar un deterioro cognitivo leve y sutil que empeora la calidad de vida de los pacientes.

La EHM se diagnostica por medio del test denominado PHES. Este test consiste en una batería de 5 subtests, cada uno de los cuales evalúa un aspecto cognitivo diferente, si el resultado de este test es  $\leq -4$  o menor, se considera que el paciente padece EHM. Sin embargo, algunos pacientes clasificados como sin EHM por el PHES muestran un cierto deterioro cognitivo, este grupo de pacientes recibe el nombre de *"border-line"*. Se cuenta con otro tipo de test que evalúan habilidades cognitivas y motoras enfocados a caracterizar este deterioro cognitivo.

Por otra parte, se ha medido la concentración de amonio y los niveles de las interleuquinas IL-6 y la IL-18 en sangre, debido a que se ha descubierto una correlación entre los niveles de hiperamonemia e inflamación con el déficit cognitivo.

Con este estudio se pretende demostrar que el PHES no es suficientemente sensible para el diagnóstico temprano del deterioro cognitivo mientras que otros sí lo son, probar la existencia de un grupo *"border-line"* y relacionar los niveles de amonio y citoquinas con el deterioro cognitivo.

Los resultados obtenidos en los diferentes tests muestran que el PHES no detecta la presencia de los pacientes *"border-line"*, mientras que con otros tests son identificados y diferenciados de pacientes sin EHM. Estos resultados son corroborados por la concentración de las interleuquinas, ya que tanto los pacientes con EHM como los *"border-line"* presentan una concentración de interleuquinas más elevada en comparación con los sujetos sin EHM. En cuanto al amonio no se observan variaciones significativas entre diferentes pacientes.

## PALABRAS CLAVE

PHES, encefalopatía hepática mínima, alteraciones neurológicas, test psicométricos, inflamación, amonio, interleucinas.

**Alumno:** D. Carlos Fernández García

**Valencia, junio de 2018**

**Tutora Académica:** Dña Carmina Montoliu Félix

**Tutora UPV:** Dña Lucía Seguí Gil

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecer a mi familia todo el apoyo que me han mostrado siempre y la ayuda que he recibido de ellos para conseguir todo lo que me proponía. Sin ellos nunca habría llegado hasta donde estoy ahora, ellos han sido y seguirán siendo un pilar fundamental en el que siempre podré apoyarme y coger fuerza para mis proyectos.

También agradecer todo lo que han hecho por mí las chicas del INCLIVA: Carmina, Amparo, Paola, Miriam, Paula, Celia, Natalia y seguro que más gente que ha estado ahí ayudándome en todo lo que necesitaba, he tenido mucha suerte de poder coincidir con vosotras y espero que nos volvamos a ver.

Tampoco se me olvidan mis amigos de toda la vida, gracias a vosotros llevo una vida feliz y me lo paso genial cada instante que paso con vosotros.

Por último, también agradecer a mis nuevos amigos y amigas de la universidad, que en tan solo cuatro años han conseguido ser una parte importantísima de mi vida, ayudándome a superar la carrera y a disfrutar de ella.

Gracias a todos y todas por tanto.

# ÍNDICE

1. Introducción .....	1
1.1 Objetivos .....	3
2. Material y Métodos .....	4
2.1 Pacientes y Controles .....	4
2.2 Extracción de sangre, obtención de plasma y suero .....	5
2.3 Estudio de alteraciones neurológicas en pacientes cirróticos .....	5
2.3.1 Tests Psicométrico PHES .....	5
2.4 Estudio de alteraciones cognitivas en pacientes cirróticos .....	6
2.4.1 Test Stroop de colores y palabras .....	6
2.4.2 Test D2 .....	7
2.4.3 Test Oral de dígitos .....	8
2.4.4 Test Oral de letras y números .....	9
2.4.5 Test WMS IV-Memoria lógica .....	9
2.4.6 Test Wisconsin .....	9
2.5 Estudio de alteraciones en la coordinación motora en pacientes con EHM .....	10
2.5.1 Test de coordinación bimanual .....	10
2.5.2 Test de coordinación visuomotora .....	10
2.5.3 Test MLS-Vienna .....	11
2.6 Determinación bioquímica de interleuquina IL-6 y la IL-18 en suero .....	12
2.7 Determinación de amonio en sangre .....	13
2.8 Análisis estadísticos .....	13
3. Resultados .....	14
3.1 Evaluación Neuropsicológica .....	14
3.2 Evaluación de la atención selectiva en el test Stroop .....	16
3.3 Evaluación de la atención selectiva sostenida en el test D2 .....	17
3.4 Evaluación de la memoria de trabajo mediante el test de dígitos .....	19
3.5 Test oral de letras y números .....	20
3.6 Evaluación de la memoria lógica mediante el test WMS IV .....	21
3.7 Evaluación de la atención y la concentración mediante el test de clasificación de cartas Wisconsin .....	22
3.8 Evaluación de la coordinación bimanual y visuomotora .....	23
3.9 Evaluación bioquímica .....	25
3.9.1 Concentración de amonio .....	25
3.9.2 Concentración de Interleuquinas Proinflamatorias .....	26
3.10 Correlaciones .....	27
4. Discusión .....	29
5. Conclusión .....	33
6. Bibliografía .....	34

## 1. INTRODUCCIÓN

La encefalopatía hepática (EH) es un trastorno neuropsiquiátrico complejo que afecta a pacientes con enfermedades hepáticas. La EH puede producir alteraciones de distinto tipo: en la personalidad, el sueño, déficits cognitivos, la actividad motora normal y niveles de consciencia. Estos síntomas pueden llegar hasta el coma y la muerte (Felipo, 2013).

Los pacientes con EH que muestran estos síntomas pueden tener problemas más graves si aparecen factores de riesgo como son infecciones, ingesta excesiva de proteínas en la dieta o sangrado gastrointestinal. Estos factores producen un incremento de compuestos nocivos en la sangre y el cerebro, por ejemplo, el amonio. (Stepanova *et al.*, 2012). El resultado clínico de la EH es normalmente la hospitalización, lo que provoca una carga de los sistemas sanitarios.

Hay enfermedades hepáticas que pueden llevar a desarrollar EH, la más común es la cirrosis, un daño hepático crónico que produce un fallo en el hígado y una posterior acumulación de compuestos tóxicos para el organismo. Las causas más comunes que pueden llevar a producir una cirrosis crónica son: infecciones por hepatitis B o C, el uso desmedido de medicamentos como el Paracetamol o el consumo de alcohol (Felipo, 2013).

Entre el 33%-50% de los pacientes que no presentan síntomas clínicos de padecer EH sí que muestran una encefalopatía hepática mínima (EHM), que puede pasar inadvertida si se usan análisis neurofisiológicos rutinarios, y deben ser diagnosticados mediante distintos tests psicométricos (Ferenci *et al.*, 2002).

Está demostrado que la EHM afecta al día a día de las personas que la sufren, disminuyendo la calidad de vida y su esperanza de vida (Groeneweg *et al.*, 1998), afectando a su capacidad para realizar tareas rutinarias, aumentando su riesgo de padecer (y de provocar) accidentes domésticos, de tráfico y laborales (Wein *et al.*, 2004; Bajaj *et al.*, 2009; Román *et al.*, 2011).

Para diagnosticar la EHM se lleva usando durante varias décadas la batería de cinco tests psicométricos conocida como PHES (por sus siglas en inglés), es el “gold estándar”. El PHES sirvió para homogeneizar la evaluación de EHM en todo el mundo (Giménez-Garzo *et al.*, 2017). Aunque recientes estudios han demostrado que este test no es lo suficientemente sensible y que pacientes que según el PHES se clasifican como “Sin EHM”, sí que presentan déficits neurológicos de atención y de coordinación bimanual (Felipo *et al.*, 2012).

Distintos tests han sido utilizados a parte del PHES para ayudar al diagnóstico temprano de la encefalopatía hepática mínima, algunos de ellos son, por ejemplo: el test Stroop de palabras y colores, test de coordinación bimanual, o test de memoria, de asociación como el Wisconsin o como el Vienna, que también es de coordinación. Sería muy interesante poder explicar cuál de todos estos es el mejor para diagnosticar EHM y si están correlacionados entre ellos.

Se ha demostrado que síntomas como la ataxia, temblor y enlentecimiento motor de los dedos son marcadores tempranos para la disfunción cerebral en pacientes cirróticos que según el PHES no padecen la enfermedad (Butz *et al.*, 2010)

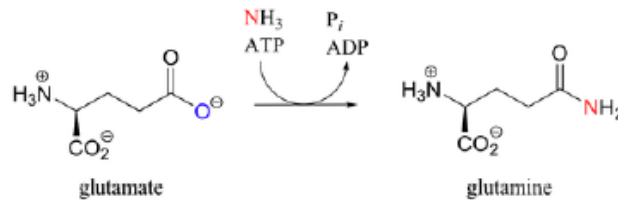
Estos estudios demuestran que, aunque el PHES sirvió para la evaluación de los enfermos con alteraciones neurológicas, no es sensible a la hora de diagnosticar encefalopatía hepática mínima ya que, en este trastorno, los síntomas son muy variables y dependen de los pacientes

cirróticos (Giménez-Garzo *et al.*, 2017). Por ello, los estudios antes comentados sugieren que esta enfermedad no es homogénea, los síntomas tienen una expresión variable en los pacientes y, por lo tanto, es complicado englobarlos a todos en un solo grupo de “sin EHM” o “con EHM”. Lo más lógico es crear subgrupos que puedan ayudar a entender esta población heterogénea.

La inflamación ha sido propuesta como un factor de riesgo muy importante en el deterioro cognitivo. Se ha descubierto que los mecanismos inflamatorios juegan un papel fundamental en pacientes con la enfermedad del Alzheimer, por lo tanto, el tratamiento con fármacos antiinflamatorios como el ibuprofeno disminuye el riesgo de padecer la enfermedad (Szekely *et al.*, 2004).

Se ha demostrado que el incremento de los niveles de IL-6 y IL-18 (interleuquinas marcadoras de la inflamación) contribuyen a la inducción de EHM (Montoliu *et al.*, 2009). Esto sugiere que la inflamación está muy asociada al desarrollo de EH.

Alteraciones en el metabolismo del nitrógeno han sido demostradas como claves en la patogénesis de la encefalopatía hepática (Tranah *et al.*, 2013). En condiciones normales, el amonio se detoxifica en el hígado mediante su conversión a urea y expulsión en la orina a través del ciclo de la urea. El amonio también es necesario en el metabolismo de los aminoácidos, los astrocitos retiran el amonio del cerebro y lo convierten en glutamina a partir del glutamato gracias a la acción de la enzima glutamina sintetasa (Figura 1).



**Figura 1. Conversión de glutamato a glutamina por la glutamina sintetasa.**

La cirrosis hepática es la consecuencia final de muchas enfermedades hepáticas crónicas que lleva a la pérdida de la arquitectura normal del hígado y una disminución progresiva de sus funciones. Provoca la muerte progresiva del tejido hepático normal y su sustitución por tejido fibroso debido a depósitos de fibras de colágeno (cicatrización), esto aísla áreas del tejido hepático dificultando la conexión entre los hepatocitos y los capilares hepáticos. La consecuencia final es que no puede detoxificar el amonio de la sangre y éste se acumula, produciendo hiperamonemia.

## 1.1 OBJETIVO

El principal objetivo del presente estudio es introducir nuevos test específicos que ayuden a diagnosticar la EHM en sus primeros niveles ya que hay pacientes cirróticos que han sido clasificados como sin EHM por la batería de tests del PHES, pero sí que sufren un déficit cognitivo leve.

También se pretende demostrar que existe un subgrupo de pacientes cirróticos, que se les nombra como "*border-line*", que manifiestan déficits neurológicos a pesar de ser clasificados como sin EHM por el PHES.

Otro objetivo del trabajo es establecer una relación entre la hiperamonemia y los niveles de interleuquinas IL-6 e IL-18, con la alteración cognitiva. De este modo se podrá caracterizar la inflamación en los pacientes cirróticos con EHM.



## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 PACIENTES Y CONTROLES

En este estudio se incluyeron 41 pacientes con cirrosis hepática diagnosticada por combinación de criterios analíticos, clínicos y radiológicos, provenientes del Servicio de Digestivo del Hospital Clínico de Valencia. También se seleccionaron 19 sujetos sanos, como grupo control. El número total de individuos en el estudio fue de 60.

Todos los individuos participaron en el estudio tras haber firmado su consentimiento informado. El protocolo de experimentación fue previamente aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínico Universitario de Valencia, y se desarrolló en concordancia con las directrices expuestas en la Declaración de Helsinki (2013).

Tanto los pacientes como el grupo control fueron citados en el hospital y se les indicó que acudieran en ayunas para poder llevar a cabo la extracción de sangre. A continuación, se les realizó una batería de tests psicométricos.

Tras la evaluación de los tests PHES, los pacientes fueron clasificados como sin EHM o con EHM de acuerdo a la puntuación obtenida en el PHES.

**Tabla 1. Etiología de la enfermedad hepática y composición de los diferentes grupos.**

	Controles	Pacientes	
		SIN EHM	EHM
<b>Total individuos</b>	19	24	17
<b>Género (V/M)</b>	14/5	18/6	14/3
<b>Edad</b>	56 ± 8	60 ± 9	64 ± 10
<b>Alcohol</b>	-	24	17
<b>Child-Pugh A/B/C</b>	-	18/5/1	10/4/3
<b>MELD</b>	-	8 ± 3	10 ± 4

Todos los pacientes incluidos en este estudio presentaban enfermedad hepática producida por la ingesta continuada de alcohol, no en consecuencia de una infección vírica. Las escalas Child-Pugh y MELD pueden utilizarse para el pronóstico de la cirrosis.

Child-Pugh es un método emplea 5 criterios clínicos para el diagnóstico de la enfermedad hepática (bilirrubina, albúmina sérica, INR, ascitis y encefalopatía hepática), cada uno de estos criterios varía del 1 al 3, siendo el número 3 el que indica una mayor severidad de la enfermedad hepática. MELD (*Model for End stage Liver Disease*) es un índice que permite evaluar la severidad del estado y establecer prioridad de trasplante.

## 2.2 EXTRACCIÓN DE SANGRE, OBTENCIÓN DE PLASMA Y SUERO

El mismo día que los pacientes fueron citados en el hospital para la extracción de sangre se tomaron muestras para poner a punto ensayos posteriores en los que medir diferentes parámetros clínicos, por ejemplo: estudiar la influencia de la inflamación en los enfermos de EHM.

Las muestras de plasma se extrajeron en tubos BD Vacutainer que contenían EDTA como agente anticoagulante, mientras que las muestras de suero se extrajeron en tubos BD Vacutainer preparados con agar.

Dichas muestras se centrifugaron a 3000 rpm, durante 10 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se recogió el sobrenadante de plasma y suero.

Se realizaron una serie de alícuotas de diferente volumen, teniendo en cuenta el volumen requerido para llevar a cabo estudios futuros. A continuación, las alícuotas fueron almacenadas en congeladores a -80 °C.

## 2.3 ESTUDIO DE ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN PACIENTES CIRRÓTICOS

Una vez terminada la extracción de sangre, se lleva a los pacientes a una habitación tranquila y con la luz adecuada para que no se desconcentren al pasar la batería de test psicométricos.

### 2.3.1 Test psicométrico PHEs

Para la detección de la Encefalopatía Hepática Mínima se utilizó la batería de tests psicométricos PHEs (*Psychometric Encephalopathy Score*), considerada como el 'gold estándar' para el diagnóstico de la EHM (Ferenci *et al.*, 2002; Ginénez-Garzo *et al.*, 2017). Esta batería consta de cinco subtest:

- **Test de dígitos y símbolos (DST):** evalúa la velocidad de procesamiento y la memoria de trabajo (Figura 2A).
- **Test de conexión numérica A (NCT-A):** evalúa la velocidad de procesamiento y la atención (Figura 2B).
- **Test de conexión numérica B (NCT-B):** evalúa la velocidad de procesamiento y la atención (Figura 2C).
- **Test de puntos seriados (SD):** evalúa la coordinación visuo-espacial (Figura 2D).
- **Test de la línea quebrada (LTT):** evalúa la coordinación visuo-espacial (Figura 2E).

A partir de los resultados obtenidos en los 5 subtest se determinó la puntuación PHES corregida en función de la edad y nivel de estudios de los sujetos mediante una aplicación informática disponible en la web <http://www.redeh.org>, tomando como referencia los valores para la población española de la Red Española de Encefalopatía Hepática (Gómez Romero M, Córdoba J, 2006). Se considera como afectados de EHM aquellos pacientes que su resultado es una puntuación global igual o inferior a -4.

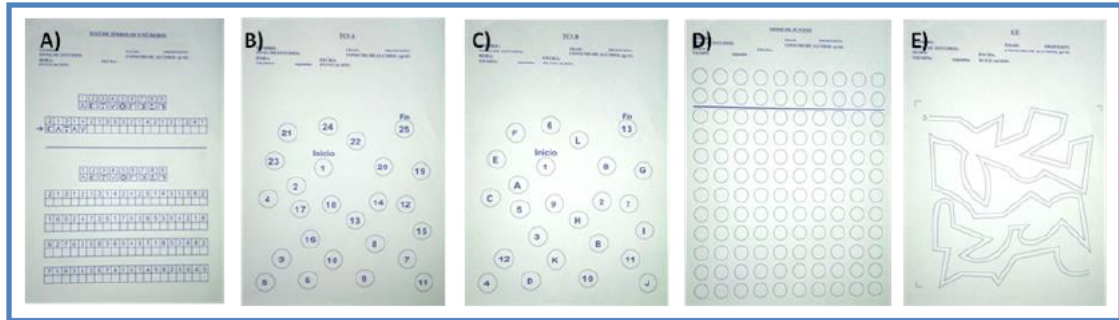


Figura 2. Batería de Tests psicométricos PHES: (A) DST, (B) NCT-A, (C) NCT-B, (D) SD y (E) LTT.

## 2.4 ESTUDIO DE ALTERACIONES COGNITIVAS EN PACIENTES CIRRÓTICOS

Los siguientes test se realizaron en la misma habitación y justo a continuación del PHES para hacer que las variables no cambien.

### 2.4.1 Test Stroop de colores y palabras

Se empleó el test Stroop de Palabras y Colores para evaluar la capacidad de atención de los pacientes y su resistencia a la interferencia. El test está formado por tres pruebas:

- **Tarea congruente:** se le presenta al sujeto una lámina con nombres de colores (azul, rojo, amarillo y verde) impresos de color negro y éste debe leer el mayor número de palabras posible en 45 segundos (Figura 3A).
- **Tarea neutra:** en este caso, los estímulos son círculos de diferentes colores (azul, rojo, amarillo y verde) y el sujeto debe indicar el color de tantos círculos como sea posible en 45 segundos (Figura 3B).
- **Tarea incongruente:** se presenta una lámina de palabras de los cuatro colores mencionados impresos en color distinto del que indica la palabra. La tarea consiste en indicar el color en el que están escritas las palabras, en un tiempo de 45 segundos (Figura 3C).

En los 3 casos, si el sujeto finaliza la matriz antes de agotar el tiempo, vuelve a comenzar por el principio hasta llegar a los 45 segundos. Se obtuvieron tres puntuaciones directas (número máximo de ítems en cada tarea) que se corrigieron en función de la edad y a partir de las cuales se calculó el parámetro de interferencia.

Los valores obtenidos se interpolan mediante tablas normalizadas para la población española a fin de determinar las puntuaciones típicas de todas las variables.

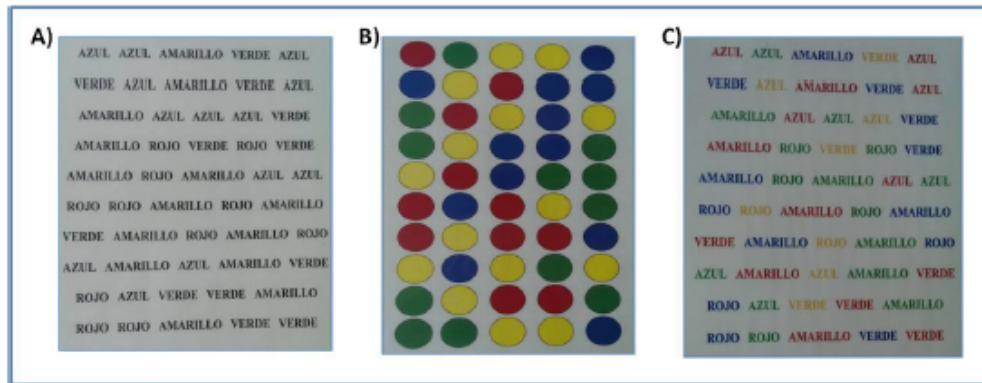


Figura 3. Test Stroop: A) Tarea Congruente, B) Tarea Neutra y C) Tarea Incongruente.

### 2.4.2 Test D2

Este test evalúa la capacidad de atención selectivamente a ciertos aspectos relevantes de una tarea al tiempo que se ignoran los irrelevantes, ofreciendo una medida de la atención selectiva/sostenida y de la concentración mental.

La prueba consiste en 14 líneas con 47 elementos cada una, que corresponden a los estímulos visuales. Cada elemento está compuesto por una letra ('d' o 'p') acompañada de una o dos rallas en la parte superior, en la parte inferior o en ambas. Los sujetos disponen de 20 segundos por línea para identificar y marcar los elementos compuestos por una letra 'd' y dos rallas situadas en cualquier disposición (dos arriba, dos debajo, o bien una arriba y una debajo) (Figura 4).

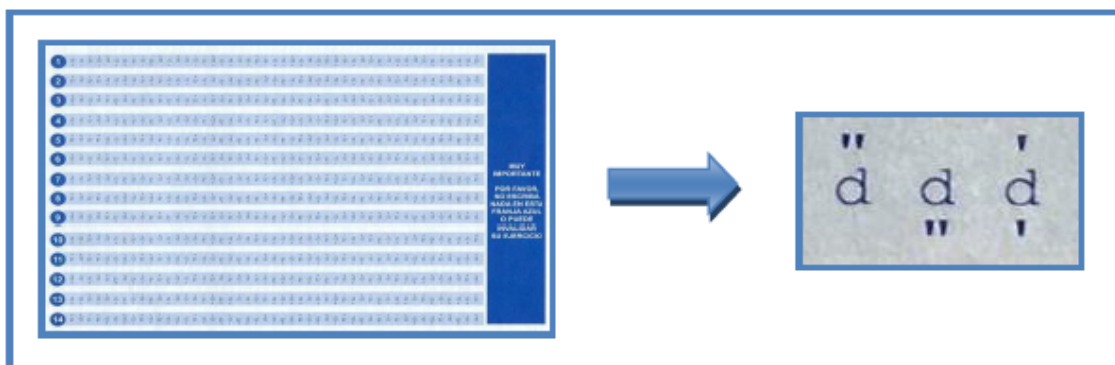


Figura 4. Test D2. Representación de los ítems correctos.

A partir de las respuestas obtenidas por los pacientes se determinaron los siguientes parámetros: total de respuestas (TR), total de aciertos (TA), omisiones (O), comisiones (C), efectividad total en la prueba (TOT), índice de concentración (CON) y el índice de variación (VAR). Se consultaron tablas normalizadas para obtener la puntuación centil correspondiente a cada variable.

### 2.4.3 Test Oral de Dígitos

Este test corresponde a un subtest de la Escala Wechsler de Inteligencia para Adultos (WAIS) y consta de dos tareas, cuyas puntuaciones se suman para obtener una global (Figura 5):

- **Dígitos directo:** proporciona una medida de la atención selectiva. Consiste en bloques de dos series de dígitos, aumentando el número de dígitos progresivamente en cada bloque. Para su realización, se leen al sujeto los dígitos de cada serie y éste debe repetirlos en orden. Los aciertos se puntúan con un 1 y los errores con un 0. La tarea finaliza cuando el sujeto obtiene una puntuación de 0 en un bloque.
- **Dígitos inversos:** evalúa la memoria de trabajo. Es similar al test directo en estructura y sistema de puntuación, pero en este caso el sujeto debe ordenar y repetir los dígitos de cada serie en orden inverso.

**8 Dígitos**

**TERMINACIÓN:** Puntuación 0 en los dos intentos de cualquier elemento. Aplicar los dos intentos de cada elemento aunque se haga bien el primero. Aplicar el orden inverso aunque se falle en el orden directo.

**PUNTUACIÓN**  
En cada intento: 0 o 1 punto en cada respuesta.  
Puntuación del elemento: Intento 1 + Intento 2

ORDEN DIRECTO		Punt.	Puntuación
Elemento/Intento	Intento	Intento	elemento
1 1-2	0 1	0 1	0 1 2
2 5-3	0 1	0 1	0 1 2
3 5-8-2	0 1	0 1	0 1 2
4 8-9-4	0 1	0 1	0 1 2
5 6-4-3-9	0 1	0 1	0 1 2
6 7-3-8-6	0 1	0 1	0 1 2
7 4-2-3-1	0 1	0 1	0 1 2
8 7-5-8-3-6	0 1	0 1	0 1 2
9 6-1-8-4-7-3	0 1	0 1	0 1 2
10 3-9-4-6-7	0 1	0 1	0 1 2
11 5-9-7-4-3-8	0 1	0 1	0 1 2
12 4-3-9-3-8-6	0 1	0 1	0 1 2
13 5-8-1-2-3-6-7	0 1	0 1	0 1 2
14 3-6-2-8-5-7-4	0 1	0 1	0 1 2
15 2-7-5-8-4-3-9-6-4	0 1	0 1	0 1 2
16 7-1-3-9-4-3-5-6-8	0 1	0 1	0 1 2
Puntuación orden directo (máxima=18)			

ORDEN INVERSO		Punt.	Puntuación
Elemento/Intento	Intento	Intento	elemento
1 2-4	0 1	0 1	0 1 2
2 3-7	0 1	0 1	0 1 2
3 9-2-9	0 1	0 1	0 1 2
4 6-1-6	0 1	0 1	0 1 2
5 3-2-7-9	0 1	0 1	0 1 2
6 4-8-6-8	0 1	0 1	0 1 2
7 1-5-2-8-8	0 1	0 1	0 1 2
8 5-1-8-4-3	0 1	0 1	0 1 2
9 5-9-4-1-8	0 1	0 1	0 1 2
10 7-2-4-8-3-6	0 1	0 1	0 1 2
11 9-1-8-9-3-6-6	0 1	0 1	0 1 2
12 4-7-3-9-1-2-8	0 1	0 1	0 1 2
13 8-4-3-7-6-2-5-8	0 1	0 1	0 1 2
14 7-2-8-1-9-6-5-3	0 1	0 1	0 1 2
Puntuación orden inverso (máxima=18)			

Puntuación orden directo	+	Puntuación orden inverso	=	Total (máxima=36)
--------------------------	---	--------------------------	---	-------------------

Figura 5. Test Oral de dígitos directos e inversos.

### 2.4.4 Test Oral de Letras y Números

Del mismo modo que el test de dígitos, es uno de los subtest de la WAIS. Está compuesto por bloques de tres series de dígitos y letras mezclados, incrementando el número de elementos en cada bloque (Figura 6).

Para su realización, se lee al sujeto cada serie y éste debe reorganizar mentalmente los elementos para repetir primero los números, ordenados de forma ascendente, y luego las letras, ordenadas alfabéticamente. Se puntúan los aciertos con un 1 y los errores con un 0, dándose por finalizada la tarea cuando se dan resultados incorrectos en las tres series de un mismo bloque.

**13 Letras y números**

**TERMINACIÓN**  
0 puntos en los tres intentos de un elemento

**PUNTUACIÓN**  
0 o 1 en cada respuesta  
Puntuación en cada elemento = Intento 1 + Intento 2 + Intento 3

Intento	Elemento	Respuesta correcta	Punt. intento	Puntuación elemento
1		L-3 24	0 1	
2		6P 6P	0 1	0 1 2 3
3		B4 56	0 1	
1		K74 76-L	0 1	
2		R40 40R	0 1	0 1 2 3
3		H48 18H	0 1	
1		T843 3843	0 1	
2		V145 16-V	0 1	0 1 2 3
3		7844 47LN	0 1	
1		88401 10400	0 1	
2		K3C75 27CK5	0 1	0 1 2 3
3		58374 35874	0 1	
1		M48702 247EM0	0 1	
2		W886F3 358FHW	0 1	0 1 2 3
3		609428 269405	0 1	
1		R384210 1348CRZ	0 1	
2		579387 2579JTX	0 1	0 1 2 3
3		E1H8R40 148DEHR	0 1	
1		58952N4A 2569AHNS	0 1	
2		D18904K3 1349BOKR	0 1	0 1 2 3
3		782T4F5Z 1267FMTZ	0 1	

Puntuación directa (máxima=21)

Figura 6. Test Oral de Letras y Números.

### 2.4.5 Test WMS IV de Memoria Lógica

Este test estima tres variables: la memoria a corto y largo plazo y el reconocimiento. Permite obtener tres índices: índice de memoria auditiva, el índice de memoria inmediata y el índice de memoria demorada. La realización de esta prueba de memoria consiste en que el evaluador lee dos historias y el paciente tiene que contar todo lo que se acuerde (memoria corto plazo), a continuación, se realiza otro test distinto para que pase algo de tiempo (20 minutos), una vez pasado este tiempo el paciente debe volver a contar lo que recuerde de las historias (memoria largo plazo). Una vez realizado esto, el evaluador le hará preguntas al paciente sobre las historias para que responda SÍ o NO (reconocimiento memoria lógica).

### 2.4.6 Test de clasificación de cartas de Wisconsin - WCST

El test de clasificación de cartas evalúa funciones ejecutivas (prefrontal, predominantemente la vía dorsolateral). Se recomienda su uso ya que hay evidencias que consideran que los pacientes EHM podrían tener daño frontal y esta prueba se usa para valorar procesos asociados a la región prefrontal del cerebro. Las variables estudiadas son: flexibilidad cognitiva, capacidad de planeación, atención, concentración y regulación de la conducta.

El test consiste en asignar la carta que se presenta ante el paciente a una de las cuatro cartas modelo que hay en la parte superior de la pantalla (Figura 7). La asignación debe ser según un patrón (color, número o forma) que no va a cambiar hasta que esté asimilado. Una vez que el paciente acierta 10 cartas seguidas con el mismo patrón, se considera que está asimilado y éste cambia para dificultar el test y comprobar cuanto le cuesta al paciente entender el nuevo patrón. Los resultados se presentan como ensayos administrados totales, ensayos para completar la primera categoría, número de categorías conseguidas, número total de errores, errores perseverativos y no perseverativos y respuestas a nivel conceptual.

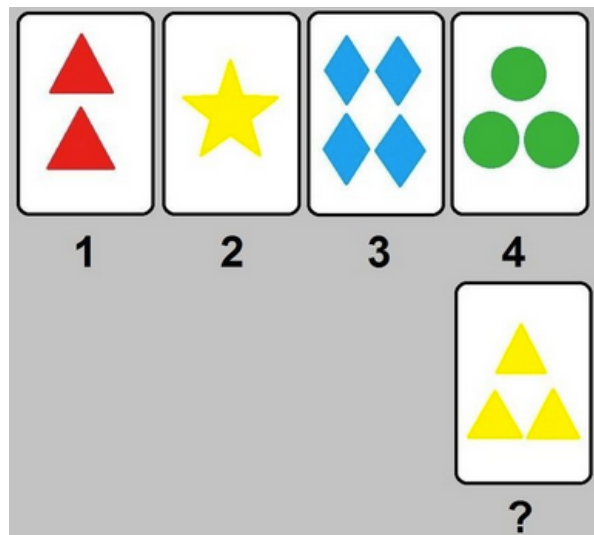


Figura 7. Pantalla de trabajo del Test Wisconsin.

## 2.5 ESTUDIO DE ALTERACIONES EN LA COORDINACIÓN MOTORA EN PACIENTES CIRRÓTICOS

### 2.5.1 Test de Coordinación Bimanual

Esta prueba consiste en pasar una serie de clavijas metálicas dispuestas en la mitad de un tablero a la otra mitad, empleando ambas manos simultáneamente y de fuera hacia dentro. Se realiza dos veces en cada dirección y se contabiliza el tiempo que tarda en completar la tarea (Figura 8A).

### 2.5.2 Test de Coordinación Visuomotora

Este test consiste en un tablero de 6 filas X 6 columnas compuesto por una serie de perforaciones de idéntico tamaño pero orientadas de forma diferente. El sujeto debe encajar las piezas metálicas, una por una, sirviéndose de la mano dominante. Se realiza dos veces y se anota el tiempo empleado al igual que en la coordinación bimanual (Figura 8B).

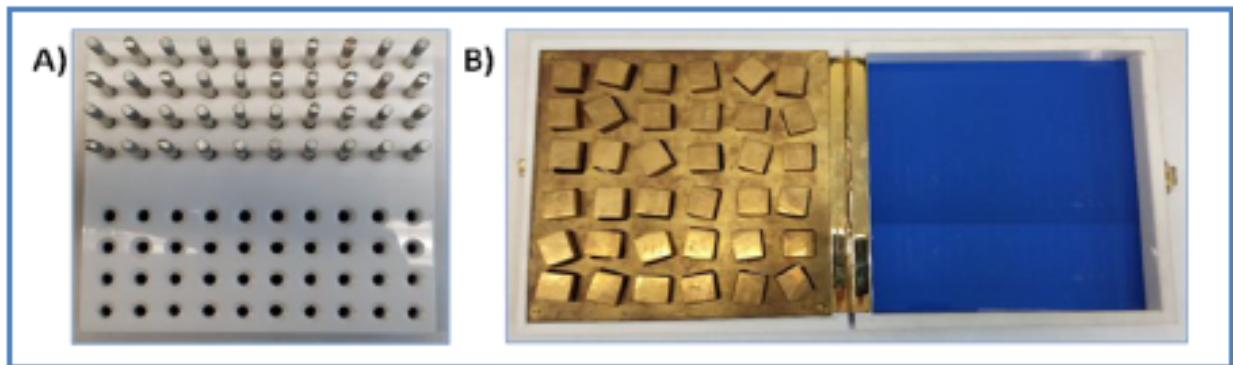


Figura 8. A) Test de Coordinación bimanual, B) Test de Coordinación visuomotora

### 2.5.3 Test MLS-VIENNA

Esta prueba mide las habilidades motoras basándose en tareas estáticas y dinámicas manuales. Se usa para evaluar las competencias para los conductores, aunque también para comprobar déficits psicomotores en pacientes de EH (Schomerus *et al.*, 1980). Estima el nivel de activación del SNC, la coordinación psicomotriz, los tiempos de reacción, control de impulsos, planeación y memoria visual. Este test utiliza el panel de trabajo MLS (Figura 9), una placa de aluminio y latón que mide 300x300x15 mm y contiene agujeros, surcos y superficies de contacto. Tiene una pluma/puntero óptico instalada con la que se realizan las pruebas.

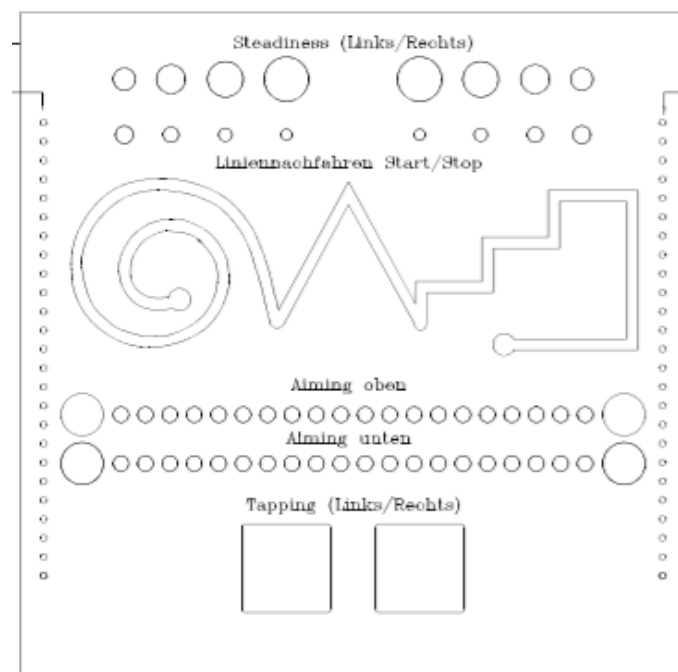


Figura 9. Panel de Trabajo de MLS (Motor Performance Series)



El test consiste en los siguientes subtests (Schoppe, 1974):

- **Steadiness:** trata de mantener la posición estática en un agujero evitando tocar el fondo del tablero o las paredes.
- **Line Tracking:** consiste en seguir con la pluma una línea acanalada sin tocar el fondo o las paredes del canal.
- **Aiming:** evalúa la capacidad de golpear en el centro de círculos de pequeño diámetro.
- **Inserting pins:** la tarea trata de insertar clavos (grandes y pequeños) en una serie de agujeros de forma secuencial.
- **Tapping:** Consiste en golpear el máximo de veces posible con la pluma en un cuadrado.

## 2.6 DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA DE INTERLEUQUINAS IL-6 Y LA IL-18 EN SUERO

Los niveles de interleuquina 18 (IL-18) en suero se midieron utilizando un kit ELISA (Bender MedSystems, Austria) cuyo límite de detección es 9 pg/ml. El punto de partida son 50 µl de suero sin diluir.

El ensayo se realizó de acuerdo al protocolo proporcionado por el fabricante. El kit consta de una placa de 96 pocillos cubierta con el anticuerpo frente a la IL-18 humana a la que se añade 50 µl de muestra (suero) y 50 µl de disolvente de muestra. La curva patrón varía entre un rango de concentraciones de 0-5000 pg/ml.

A continuación, se adiciona el anticuerpo secundario conjugado con biotina a todos los pocillos y se incuba en agitación durante 2 horas, a temperatura ambiente.

Posteriormente a esta incubación, se lava la placa para eliminar el exceso de anticuerpo secundario, se añade streptavidina marcada con peroxidasa de rábano (HPR) y se incuba de nuevo en agitación, durante 1 hora a temperatura ambiente.

Finalmente, se adiciona el agente revelador, TBM. La reacción se detiene al añadir el reactivo denominado "*Stop solution*" y se procede a la lectura de la absorbancia, a 450 nm, en el espectrofotómetro.

La medida de la IL-6 en suero también se llevó a cabo utilizando un kit ELISA (Thermo Scientific, USA), cuyo límite de detección es 1 pg/ ml. El punto de partida es el mismo que en el caso de la IL-18, 50 µl de suero no diluido.

El ensayo se inicia añadiendo anticuerpo biotinilado a todos los pocillos, seguido de la adición de 50 µl de la curva estándar (0-400 pg/ml) y de muestra y, a continuación, se incuba 2 horas a temperatura ambiente. Tras la incubación, se añade solución de streptavidina marcada con peroxidasa de rábano (HPR) y se incuba de nuevo durante 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se adiciona la solución de revelado, TMB. La reacción se detiene al añadir el reactivo "*Stop solution*", que es un ácido, y se mide la absorbancia a 450 nm.

## 2.7 DETERMINACIÓN DE AMONIO EN SANGRE

La concentración de amonio en sangre se determinó mediante el equipo de lectura de amonio y su kit (PocketChem BA device) (Figura 10). Previamente a su utilización, se localiza el programa “che” y se equilibra mediante una tira reactiva. El rango de valores obtenidos oscila entre 65-79  $\mu\text{mol/L}$ .

Para la lectura de amonio se aplica 20  $\mu\text{l}$  de sangre recién extraída, en una pequeña banda de la tira. Transcurridos 180 segundos, se retira la banda y se introduce en el equipo. Los niveles esperados en adultos sanos son menores de 30-45.



**Figura 10. Equipo de lectura del amonio en sangre.**

## 2.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS PARA LOS TESTS INDIVIDUALES

Los valores se representan como media  $\pm$  SEM a menos que se especifique lo contrario. Los resultados se analizaron mediante one-way ANOVA seguido de la prueba de comparación múltiple pos hoc de Bonferroni. Las variables que no estaban previamente ajustadas por edad (pruebas de coordinación bimanual y visuo-motora) se analizaron mediante el análisis univariado de covarianza (ANCOVA) con la edad incluida como covariable, seguida de Bonferroni post hoc. Para las pruebas de coordinación (pruebas de coordinación bimanual y visuo-motora) se realizaron análisis estadísticos al incluir la edad como covariable. Para las otras pruebas, los parámetros medidos para cada participante se ajustaron por edad de acuerdo con el manual de prueba y las tablas de normalidad españolas. Los análisis se realizaron con GraphPad Prism versión 6.0 y SPSS versión 19.0 (SPSS Inc, Chicago, EE. UU.) Y los valores de  $P < 0.05$  se consideraron significativos.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 EVALUACIÓN NEUROPSICOLÓGICA

Se obtienen 20 puntuaciones a partir del PHES (Psychometric Hepatic Encephalopathy Score) y una serie de subtests realizados. Estas puntuaciones sirven para medir distintos parámetros de la función cognitiva y motora, y de esta forma, clasificar y caracterizar los pacientes.

Los resultados del PHES se muestran en la Tabla 2. Como se observa en esta tabla, el grupo control realiza de forma correcta todos los subtests, el grupo de pacientes sin EHM y aquellos pacientes clasificados como “border-line” presentan resultados similares pero inferiores en comparación a los controles y el grupo de pacientes con EHM es el que obtiene resultados más negativos.

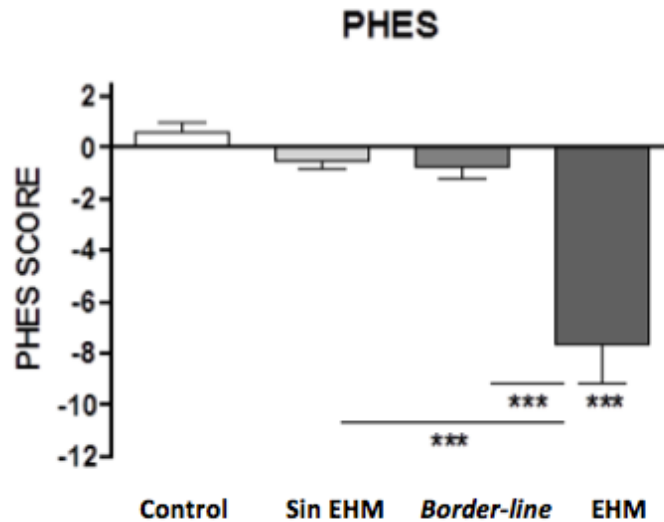
En investigaciones anteriores en las que se utilizó el PHES, los sujetos se clasificaron en tres grupos (control, sin EHM y con EHM). No obstante, se sospechaba que ciertos pacientes clasificados como sin EHM por el PHES presentaban algún tipo de deterioro cognitivo, aunque el PHES lo negase.

Gracias a la introducción de un conjunto de tests diferentes al PHES (Stroop, D2, orales) es posible incluir un nuevo grupo más específico denominado “border-line”. Como “border-line” se conocen a aquellos pacientes sin EHM según el PHES, pero que fallan al menos 2 de los tests restantes, que son más sensibles.

En este contexto se considera que los pacientes fallan un determinado test cuando obtienen puntuaciones estadísticamente anormales, es decir, una puntuación igual o inferior a la media menos 2 veces la desviación estándar del grupo control, o en el caso de los tests de coordinación, una puntuación igual o superior a la media más 2 veces la desviación estándar del grupo control.

**Tabla 2. Resultados del PHES y de los subtests del PHES en los grupos de estudio. Los valores se representan como la media ± el error estándar (SEM). Sin EHM (pacientes sin encefalopatía hepática mínima); Border-line (pacientes sin encefalopatía hepática mínima que fallan al menos 2 de los tests); EHM (pacientes con encefalopatía hepática mínima). Las diferencias entre los grupos se analizaron con una Anova unifactorial, seguida de un Bonferroni.**

Grupo/Test	Control	Sin EHM	Border-line	EHM P vs Control	Sin EHM P vs EHM	Border-line P vs EHM	Sin EHM P vs border-line
PHES Global score	0,6 ± 0,4	-0,5 ± 0,34	-0,75 ± 0,47	-7,6 ± 1,5 P < 0'001	P < 0'001	P < 0'001	
DST	0,4 ± 0,24	-0,16 ± 0,16	0 ± 0	-0,4 ± 0,24			
NCT_A	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	-1,4 ± 0,67			
NCT_B	0,2 ± 0,2	-0,16 ± 0,16	-0,5 ± 0,5	-2,2 ± 0,58 P < 0'01	P < 0'01		
SD	0 ± 0	0 ± 0	-0,25 ± 0,25	-1,4 ± 0,50 P < 0'05	P < 0'01		
LTT	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	-2,2 ± 0,2 P < 0'001	P < 0'001	P < 0'001	



**Figura 11. Resultados de la puntuación del PHES en los grupos de estudio. Las diferencias estadísticamente significativas se representan con asteriscos (\*\*\*) indica  $P < 0.001$ ). Las barras de error indican diferencias estadísticas con respecto al grupo control.**

La Figura 11 muestra la media y el error estándar (SEM) de las puntuaciones obtenidas en el PHES global de 19 controles, 13 pacientes cirróticos sin EHM, 11 pacientes cirróticos sin EHM, pero con fallos en al menos 2 tests (“border-line”) y 17 pacientes cirróticos con EHM.

Como se puede observar en la Figura 9, los pacientes con EHM obtuvieron un valor medio que oscila en torno a -7,6 en la puntuación global del PHES. Esto revela unas puntuaciones inferiores a -4, valor mínimo establecido para considerar que un paciente padece EHM. Estos resultados evidencian un deterioro cognitivo en el grupo de sujetos con EHM.

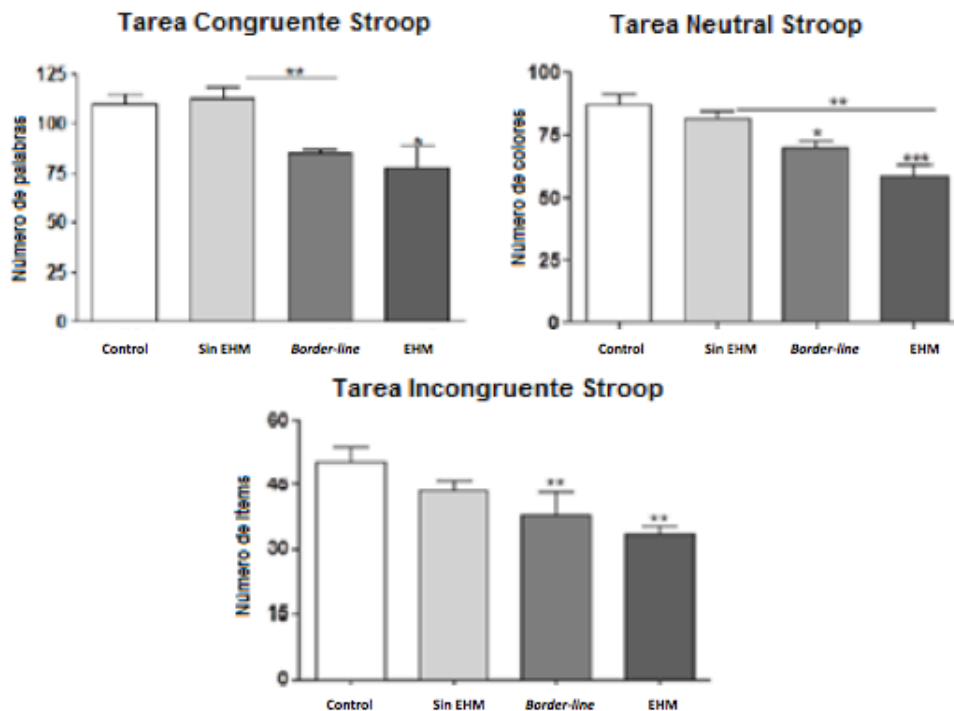
En cuanto a la puntuación global del PHES, existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los sujetos con EHM ( $p < 0,001$ ). En el caso particular de los subtests, se observan diferencias estadísticamente significativas entre el NCT-B, SD y LTT ( $P < 0,01$ ;  $P < 0,01$  y  $P < 0,01$ , respectivamente).

También se producen diferencias estadísticamente significativas en la puntuación global del PHES, al comparar los pacientes con y sin EHM ( $p < 0,001$ ) y en los subtests NCT-B, SD y LTT ( $P < 0,01$ ;  $P < 0,01$  y  $P < 0,01$ , respectivamente).

El grupo “border-line” presenta diferencias significativas respecto al grupo de pacientes con EHM tanto en la puntuación global del PHES ( $p < 0,001$ ), como en el subtest LTT ( $p < 0,001$ ).

No hay diferencias significativas entre los grupos sin EHM y “border-line” en ninguna de las pruebas.

### 3.2 EVALUACIÓN DE LA ATENCIÓN SELECTIVA EN EL TEST STROOP



**Figura 12. Rendimiento en el Test Stroop. A) Tarea Congruente, B) Tarea Neutra y C) Tarea Incongruente. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).**

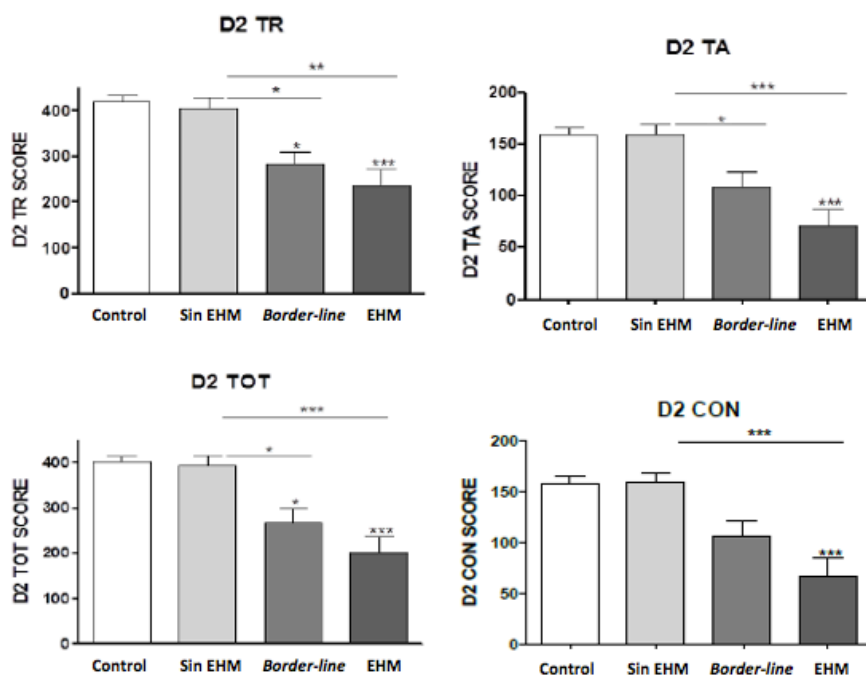
Como se observa en la Figura 12, el grupo con EHM obtuvo las puntuaciones más bajas en las tres tareas realizadas. Este grupo presenta diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control en las tareas congruente, neutra e incongruente con un p-valor de ( $P < 0,05$ ), ( $P < 0,001$ ) y ( $P < 0,01$ ), respectivamente.

También aparecen diferencias estadísticas en la tarea neutral ( $P < 0,01$ ) al comparar dicho grupo con el grupo sin EHM. Respecto al grupo “border-line”, no se muestran diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las 3 tareas ejecutadas.

En la tarea congruente, los pacientes identificados como “border-line” consiguieron un menor número de palabras que el grupo sin EHM ( $P < 0,01$ ) (Figura 12A). Asimismo, nombraron un menor número de colores en la tarea neutra y un menor número de ítems en la tarea incongruente, en comparación con el grupo control ( $P < 0,05$  y  $P < 0,01$ ) (Figura 12 B-C).

Las puntuaciones obtenidas por el grupo sin EHM son similares a las obtenidas por el grupo control y no se observan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Figura 12).

### 3.3 EVALUACIÓN DE LA ATENCIÓN SELECTIVA-SOSTENIDA EN EL TEST D2



**Figura 13. Resultados en el Test D2. A) TR: número total de caracteres procesados, B) TA: número total de elementos correctos, C) TOT: efectividad total y D) CON: índice de concentración. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).**

En Figura 13 se muestran la media, el error estándar (SEM) y el p-valor de cuatro parámetros medidos en el Test D2.

En las gráficas cada barra representa la media obtenida por un determinado grupo de pacientes. Al analizarlas, es posible visualizar una tendencia en la que se produce una disminución de la media conforme avanza el estado de la enfermedad. Aquellos valores que se alejan de la media se han excluido para evitar imprecisión.

Los cuatro parámetros seleccionados son los que presentan una mayor utilidad a la hora de clasificar a los pacientes debido a que los cuatro muestran la tendencia comentada claramente:

El valor **TR** se corresponde con el número total de caracteres procesados y como se puede observar es el grupo con EHM el que presenta un valor menor. Aparecen diferencias estadísticamente significativas entre este grupo y el grupo control ( $P < 0,001$ ), así como con respecto al grupo sin EHM ( $P < 0,01$ ).

El grupo “border-line” muestra diferencias estadísticamente significativas al compararse con el grupo control y con el grupo sin EHM ( $P < 0,05$ ) en ambos casos. Por el contrario, a pesar de que el grupo “border-line” posee un valor TR medio superior al grupo con EHM, no resulta suficiente para que se den diferencias estadísticamente significativas (Figura 13A).

Los resultados del grupo control y del grupo sin EHM son muy similares y, por lo tanto, no aparecen diferencias estadísticamente significativas (Figura 13A).

El valor **TA** hace referencia al número de respuestas correctas y es equivalente al valor descrito de TR, ambos parámetros tienen la misma tendencia. El grupo con EHM revela una media inferior al resto de los grupos de pacientes y presenta diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control y el grupo sin EHM, con un p-valor ( $P < 0,001$ ) en ambos casos (Figura 13B).

La media del grupo "*border-line*" es superior a la media del grupo con EHM, pero como ocurría con TR, no es suficientemente elevada para que se den diferencias estadísticamente significativas. La diferencia de medias entre el grupo control y el grupo "*border-line*" tampoco es significativa, pero en este caso, sí que se visualizan diferencias considerables en el valor medio de TA. Además, destacar la existencia de diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo sin EHM ( $P < 0,05$ ) (Figura 13B).

Las medias del grupo control y del grupo sin EHM son prácticamente las mismas, se encuentran en torno a 150, por lo que no se observan diferencias estadísticas.

El valor **TOT** representa la efectividad total y se calcula a partir de la diferencia entre TR y el número total de errores efectuados.

El grupo de pacientes con EHM es el que manifiesta la peor efectividad total en el test D2. Este grupo presenta diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control y al grupo sin EHM, con un p-valor ( $P < 0,001$ ) en ambos casos. No se producen diferencias estadísticas en relación al grupo "*border-line*" (Figura 13C).

El grupo "*border-line*" muestra diferencias estadísticamente significativas al compararlo con el grupo control y el grupo sin EHM ( $P < 0,05$ ), pero no se aprecian diferencias estadísticas entre dicho grupo y el grupo con EHM, tan solo se aprecia una tendencia a disminuir los valores en ambos grupos (Figura 13C).

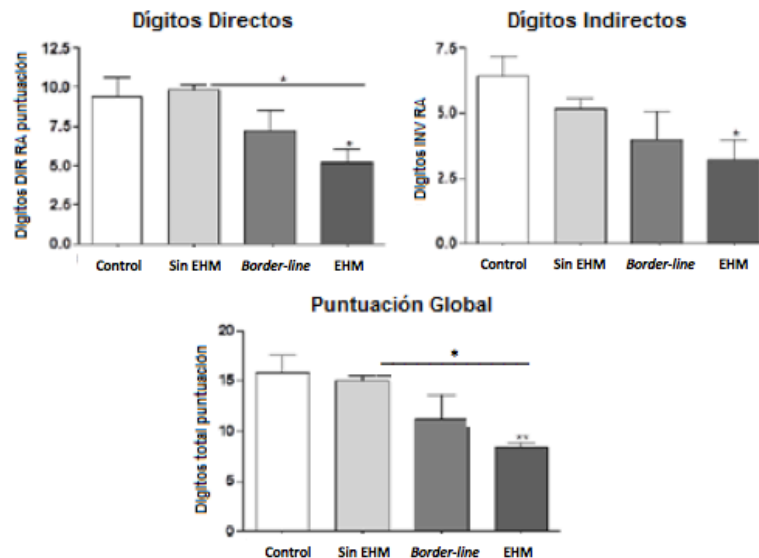
La media del grupo sin EHM y el grupo control es muy similar, al igual que en el parámetro anterior, lo que indica que no existen diferencias estadísticamente significativas y que los pacientes pertenecientes a ambos grupos no presentan un déficit cognitivo producido por la cirrosis (Figura 13C).

El valor **CON** representa el índice de concentración y proporciona una medida aproximada de la capacidad de concentración que disponen los pacientes.

De nuevo se observa que el grupo con EHM presenta diferencias estadísticamente positivas respecto al grupo control y el grupo sin EHM, con un p-valor ( $P < 0,001$ ) en ambos casos. El grupo "*border-line*" posee una media inferior a estos dos grupos, pero la diferencia no es significativa estadísticamente hablando (Figura 13D).

Tanto el grupo sin EHM como el grupo control tienen resultados parecidos y, por lo tanto, no se reflejan diferencias estadísticas (Figura 13D).

### 3.4 EVALUACIÓN DE LA MEMORIA DE TRABAJO MEDIANTE EL TEST DE DÍGITOS



**Figura 14. Resultados en el Test de dígitos. A) Respuestas correctas en dígitos directos, B) Respuestas correctas en dígitos indirectos y C) Puntuación global. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).**

Esta prueba no muestra grandes diferencias entre los grupos de pacientes, aun así, el test de dígitos directos sí que presenta alguna diferencia relevante, aunque el inverso no.

El grupo con EHM es el único grupo que muestra diferencias significativas en el test de dígitos directos respecto al grupo control y el grupo sin EHM, con un p-valor de ( $P < 0,05$ ) en ambos casos. Sin embargo, no se observan diferencias estadísticas entre el grupo “border-line” y los grupos sin EHM y control (Figura 14A).

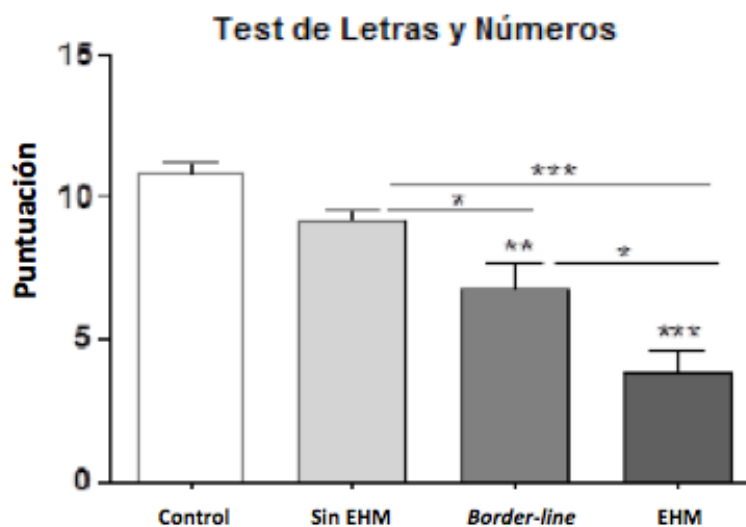
En el test de dígitos indirectos los 4 grupos reflejan unas medias bastante similares. Asimismo, se puede observar que el error estándar es relativamente elevado debido a que los pacientes de un mismo grupo obtuvieron puntuaciones poco constantes, razón por la cual solo aparecen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo con EHM y el grupo control ( $P < 0,05$ ) (Figura 14B). Estos resultados no son suficientemente óptimos para considerar este subtest una herramienta útil en la detección de déficit cognitivo.

Por último, en la puntuación global se observan diferencias estadísticamente significativas entre el grupo con EHM y el grupo control ( $P < 0,01$ ) y entre el grupo con EHM y sin EHM ( $P < 0,05$ ) (Figura 14C).

Dadas las diferencias apenas perceptibles entre grupos, esta batería de test no se puede considerar viable en la clasificación de pacientes cirróticos.



### 3.5 TEST ORAL DE LETRAS Y NÚMEROS



**Figura 15. Respuestas correctas en el test de letras y números. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ).**

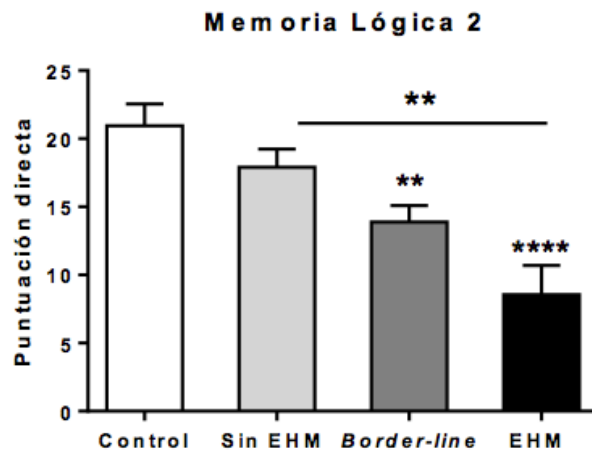
El test oral de secuencias de letras y números es el test que presentan una mayor proporción de diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos de los distintos grupos. En la figura 15 se puede observar una clara tendencia a decrecer la puntuación conforme la enfermedad es más severa.

Los pacientes del grupo con EHM son los que consiguen un menor número de respuestas correctas. Dicho grupo presenta diferencias estadísticamente significativas con el resto de grupos: con un p-valor ( $P < 0,05$ ) respecto al grupo "border-line", ( $P < 0,001$ ) respecto al grupo sin EHM y ( $P < 0,001$ ), respecto al grupo control (Figura 15).

Como ya se ha mencionado, el grupo "border-line" muestra diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo con EHM y también respecto al grupo sin EHM ( $P < 0,05$ ) y al control ( $P < 0,01$ ). Este test puede ser utilizado para separar estos dos grupos.

El grupo sin EHM es el único que no presenta diferencias estadísticamente significativas con el grupo control, a pesar de que se puede observar como su media es inferior a la de este grupo, aunque no lo suficientemente como para que haya significancia en el resultado.

### 3.6 EVALUACIÓN DE LA MEMORIA LÓGICA MEDIANTE EL TEST WMS IV



**Figura 16. Resultados de la prueba de memoria lógica 2, correspondiente al test WMS IV. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; \*\*\*\* $P < 0.0001$ ).**

En la Figura 16 se muestra la media y el error estándar (SEM) del parámetro más significativo del test de memoria WMS IV, correspondiente a la puntuación directa de la prueba de memoria lógica 2, en este test también aparecen los parámetros de memoria lógica 1 y reconocimiento de memoria, pero no se han señalado ya que las diferencias entre los grupos de pacientes no son tan grandes como en la prueba de memoria lógica 2.

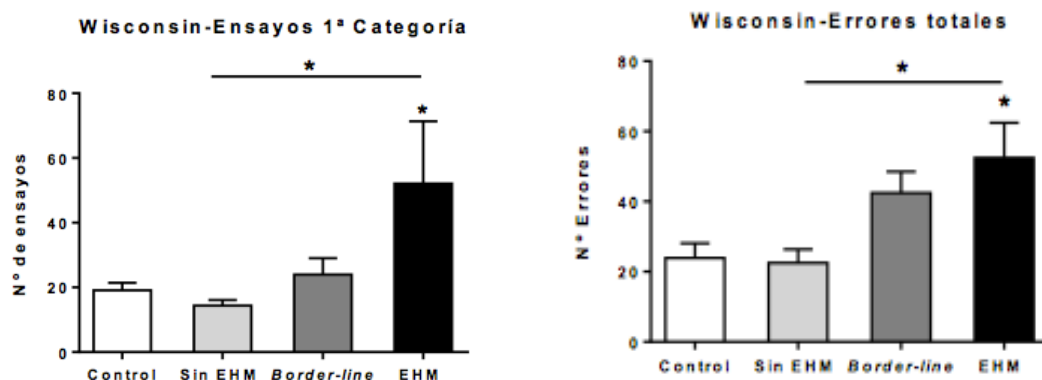
Se puede observar la tendencia a disminuir la puntuación conforme la enfermedad es más grave, los pacientes con EHM tienen resultados más bajos comparados con el resto de grupos.

El grupo con EHM muestra diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control ( $P < 0,0001$ ) y frente al grupo sin EHM ( $P < 0,01$ ). Sin embargo, no se observan diferencias respecto al grupo “border-line”, aunque la media sí que es claramente inferior (Figura 16).

El grupo “border-line” solo se diferencia significativamente del grupo control ( $P < 0,01$ ), no hay diferencias entre el grupo border-line y el sin EHM, por lo que este test no es sensible a la hora de diferenciar ambos grupos.

Aunque si se puede ver una diferencia entre el valor de las medias entre los grupos control y sin EHM, no es suficientemente distinta como para ser estadísticamente reseñable.

### 3.7 EVALUACIÓN DE LA ATENCIÓN Y LA CONCENTRACIÓN MEDIANTE EL TEST DE CLASIFICACIÓN DE CARTAS DE WISCONSIN



**Figura 17. Resultados del test Wisconsin. A) número de ensayos necesarios para superar la primera categoría y B) número total de errores durante el test. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).**

En la Figura 17 se muestran los resultados de dos parámetros del test Wisconsin, el primero de ellos son los ensayos necesarios para completar la 1ª categoría. Se puede observar que los grupos control, sin EHM y “border-line” no muestran diferencias significativas entre ellos ya que el número de ensayos es parecido, aunque el “border-line” tenga la media más alta (Figura 17A).

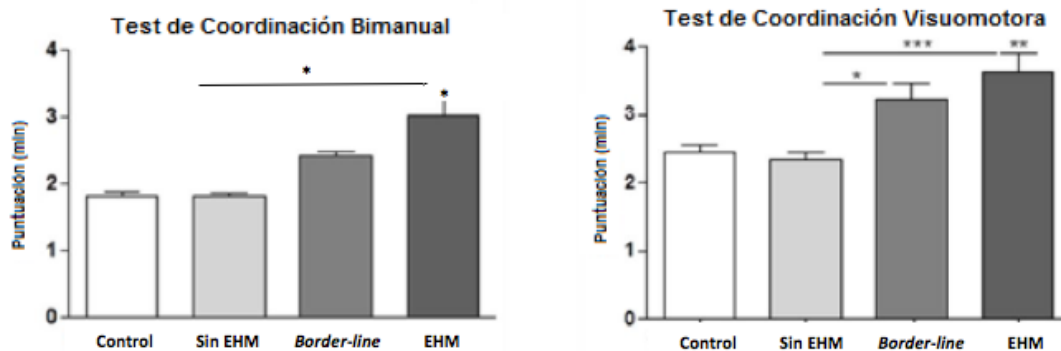
El grupo con EHM sí que muestra diferencias significativas con el grupo control y el grupo sin EHM ( $P < 0,05$ ), aunque no con el “border-line”. También se observa un gran error estándar (SEM).

En cuanto al segundo parámetro analizado, el número total de errores, sí que se aprecia una tendencia al aumento de los errores conforme avanzamos por los grupos de estudio (Figura 17B).

El grupo con EHM muestra diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) con el grupo control y el grupo sin EHM.

Los errores de los grupos control y sin EHM son muy parecidos y por ello no aparecen diferencias entre ellos. En el grupo “border-line” se observan más errores que el grupo control y sin EHM, pero menos que el grupo con EHM, aunque las diferencias no son lo suficientemente amplias como para que haya significancia (Figura 17B).

### 3.8 EVALUACIÓN DE LA COORDINACIÓN BIMANUAL Y VISUOMOTORA



**Figura 18. Puntuación en minutos obtenida en el Test de coordinación. A) Test de coordinación bimanual y B) Test de coordinación visuomotora. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).**

La coordinación motora se evaluó empleando los tests de coordinación bimanual, visuomotora y Vienna (Figura 18-19).

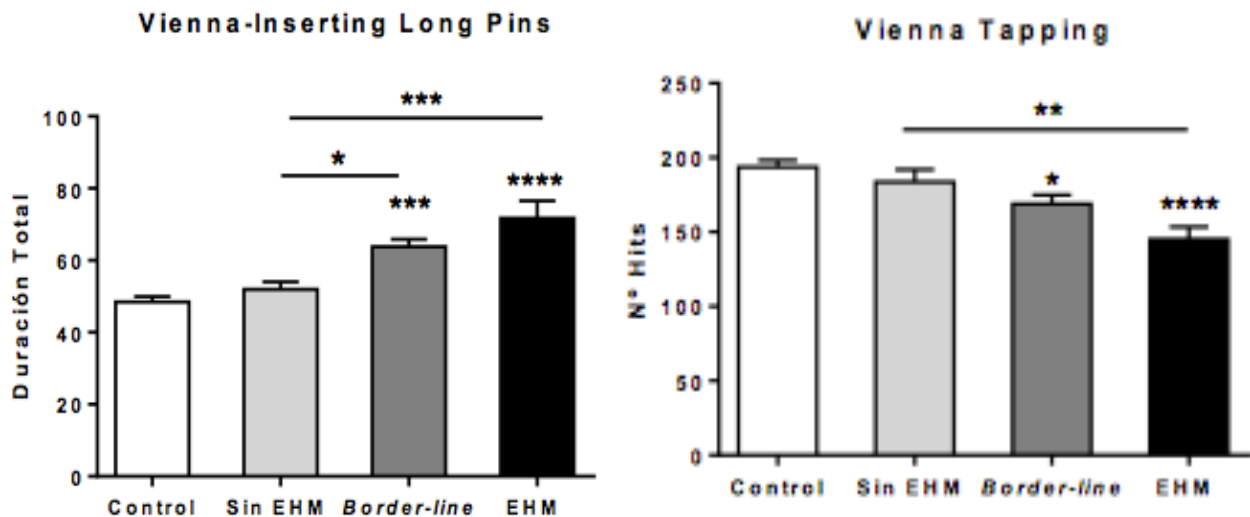
En el test de coordinación bimanual, los pacientes con EHM requieren un mayor lapso de tiempo (en minutos) para completar la tarea que los pacientes cirróticos sin EHM y los controles. El grupo con EHM muestra diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $P < 0,05$ ) (Figura 18A).

El grupo "border-line" precisa menos tiempo que el grupo con EHM, pero más que el grupo sin EHM, aunque ambas diferencias no resulten suficientes como para que sean estadísticamente significativas (Figura 18A).

Los pacientes sin EHM requieren prácticamente el mismo tiempo que los controles para completar la tarea, por lo tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Figura 18A).

En el test de coordinación visuomotora, los pacientes con EHM precisan más tiempo para completar la tarea respecto a los pacientes cirróticos sin EHM y los controles. Además, presenta diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos con un p-valor de ( $P < 0,001$ ) y ( $P < 0,01$ ), respectivamente (Figura 18B).

Los pacientes "border-line" necesitan menor tiempo que el grupo con EHM, no obstante, no resulta suficiente para considerar que se produzcan diferencias significativas (Figura 18B). Por el contrario, presenta diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo sin EHM con un p-valor de ( $P < 0,05$ ). Dado que los pacientes sin EHM no requieren más tiempo que los pacientes controles para realizar la tarea, no se dan diferencias estadísticas entre dichos grupos (Figura 18B).



**Figura 19. Resultados del Test Vienna. A) duración total del subtest *inserting long pins* (en minutos). B) número total de hits del subtest *tapping*. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indican con asteriscos (\* P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001; \*\*\*\*p < 0.0001).**

En cuanto al test de coordinación manual de Vienna, se eligieron dos sub-pruebas que presentaban más diferencias entre los grupos de estudio.

En la figura 19A se muestra la duración de la prueba de insertar los clavos largos, se observa una tendencia creciente entre los grupos. El grupo con EHM presenta diferencias significativas frente al grupo control y al sin EHM (P < 0,001 y P < 0,0001) respectivamente. Sin embargo, la diferencia con el grupo “border-line” no es lo suficiente como para que haya significancia entre ellos.

El grupo “border-line”, como acabamos de comentar, no se diferencia significativamente del grupo con EHM, pero sí muestra valores que aportan significancia estadística frente a los otros dos grupos: P < 0,001 frente al control y P < 0,05 frente al sin EHM (Figura 19A).

Los valores medios de duración del test entre el grupo control y el sin EHM son muy parecidos y por ello no hay diferencias significativas (Figura 19A).

En cuanto a la otra prueba del Vienna, el tapping, el grupo con EHM muestra diferencias frente al grupo control (P < 0,0001) y al grupo sin EHM (P < 0,01).

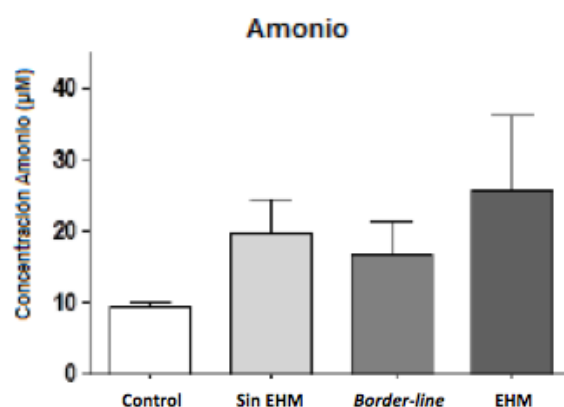
El grupo “border-line” se diferencia significativamente del grupo control (P < 0,05), pero no es significativa, aunque si se puede observar diferencias entre el número de hits entre este grupo y el sin EHM y con EHM (Figura 19B).

El grupo sin EHM muestra peores resultados que el control, aunque las diferencias son muy pequeñas y por ello no hay diferencias significativas entre estos dos grupos de estudio (Figura 19B).

### 3.9 EVALUACIÓN BIOQUÍMICA

Para la evaluación bioquímica de los pacientes cirróticos de este estudio, se utilizaron los parámetros de la concentración de amonio en sangre (medida al instante de la extracción de sangre), y el estudio de las interleuquinas IL-6 y la IL-18, realizadas mediante kits comerciales ELISA.

#### 3.9.1 CONCENTRACIÓN DE AMONIO



**Figura 20. Concentración de amonio ( $\mu\text{M}$ ). Los valores significativamente diferentes entre grupos se indica con asteriscos (\* $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).**

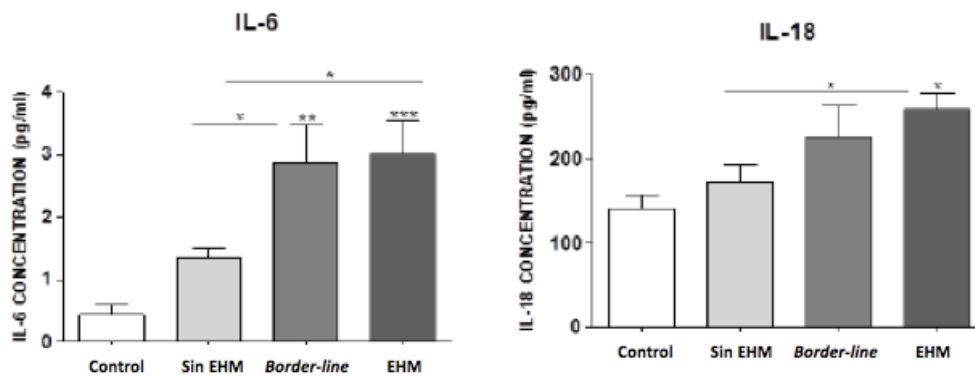
Como se puede observar en esta gráfica, los valores de las medias de los grupos son muy variados y no parecen seguir una tendencia clara, además, el grupo con EHM posee un error estándar alto. Los sujetos de un mismo grupo presentan un alto grado de variación en cuanto a los niveles de concentración de amonio en sangre.

En general, los grupos de pacientes muestran niveles de amonio en sangre similares y superiores al grupo control debido a la cirrosis. A pesar de lo descrito por el PHES y otros tests, no aparece ninguna tendencia a incrementar estos valores entre grupos.

El grupo con EHM muestra una media superior al resto de los grupos, sin embargo, no se dan diferencias estadísticamente significativas, ni tan siquiera con respecto al grupo control. Además, el valor del error estándar es demasiado alto como para poder considerarlo una media válida (Figura 20).

Resulta de gran interés que el grupo “border-line” presente una media inferior al grupo sin EHM, ya que no se correlaciona con los resultados obtenidos en el PHES y demás tests realizados en los que este grupo realizaba peor los test. Aunque como ya hemos comentado, esto puede deberse a que la medida del amonio en sangre depende de muchos factores, lo que la hace variable e irregular.

### 3.9.2 CONCENTRACIÓN DE INTERLEUQUINAS PROINFLAMATORIAS (IL-6 E IL-18)



**Figura 21. Concentración de interleuquinas en sangre (pg/ml). A) Interleuquina IL-6 y B) Interleuquina IL-18. Los valores significativamente diferentes entre grupos se indica con asteriscos (\*P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\*P < 0.001).**

Como se observa en las gráficas, la concentración de interleuquinas aumenta progresivamente entre los grupos de pacientes. La clara diferencia de medias entre el grupo control y el grupo sin EHM en la Figura 21 no se manifiesta al realizar el PHES u otro tipo de batería de tests, en los que se obtienen medias similares en ambos grupos. Esta diferencia se debe fundamentalmente a que la concentración de interleuquinas en sangre en el grupo sin EHM se encuentra aumentada debido a la inflamación del hígado.

A pesar de que estas dos interleuquinas pueden ser empleadas como marcadores de inflamación, resulta interesante que no se comporten del mismo modo, siendo la IL-6 la que muestra mayor variación. Ambas interleuquinas incrementan su concentración en todos los grupos de pacientes en comparación con el grupo control, lo que se correlaciona con el fenómeno de inflamación producido por la cirrosis.

Respecto a la IL-6, el análisis estadístico muestra una gran variabilidad entre grupos. El grupo con EHM presenta el valor más elevado, con diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control ( $P < 0,001$ ) y respecto al grupo sin EHM ( $P < 0,05$ ).

Los niveles de concentración de IL-6 en sangre son muy similares entre los pacientes con EHM y los pacientes "border-line" y, por lo tanto, no se observan diferencias estadísticas entre ambos. Sí se producen diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo "border-line" con el grupo sin EHM ( $P < 0,05$ ).

Paralelamente, los pacientes sin EHM poseen una concentración de IL-6 superior a la de los controles, pero ésta no es suficiente como para que se den evidencias estadísticas (Figura 21A).

En cuanto a la IL-18, también presenta una tendencia a aumentar su concentración entre grupos, pero solo se producen diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo con EHM con el grupo control y sin EHM con un p-valor ( $P < 0,01$ ) en ambos casos. No existen diferencias estadísticas entre el grupo "border-line" y el grupo sin EHM, ni al compararlos con el grupo control (Figura 21B).

### 3.10 CORRELACIONES

Tabla 3. Análisis de correlaciones entre distintos test realizados. Se muestra la correlación de Pearson y la significancia bilateral entre los test, en caso de que no estén correlacionados, se muestra un ns (no significativo). Los valores significativamente diferentes se indican con asteriscos tras el valor p (\* < 0.05; \*\* < 0.01; \*\*\* < 0.001).

PARÁMETROS	VIENNA- AIMING	VIENNA- STEADINESS	VIENNA- TRACKING	VIENNA- LINE	VIENNA- LONG PINS	VIENNA- SHORT PINS	VIENNA- TAPPING	WISCONSIN- ERRORES TOTALES	WISCONSIN- RESPUESTAS PERSEVERATIVAS	WISCONSIN- ENSAYOS 1ª CATEGORÍA	MEMORIA LÓGICA 1	MEMORIA LÓGICA 2
PHES	Correlación de Pearson	,344*	ns	ns	ns	,436**	,335*	-,430**	-,589**	-,439**	,300*	,361**
	Sig. (bilateral)	0,024	ns	ns	ns	0,004	0,028	0,002	0,000	0,001	0,028	0,007
Stroop	Correlación de Pearson	,319*	,307*	ns	,302*	,375*	,424**	-,402**	-,445**	-,321*	,490**	,404**
	Sig. (bilateral)	0,037	0,045	ns	0,049	0,013	0,005	0,004	0,001	0,022	0,000	0,002
Bimanual	Correlación de Pearson	,361*	ns	,447**	,372*	,323*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Sig. (bilateral)	0,014	ns	0,003	0,017	0,040	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Visuomotora	Correlación de Pearson	,366*	ns	,441**	,349*	,324*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Sig. (bilateral)	0,013	ns	0,004	0,025	0,039	ns	ns	ns	ns	ns	ns
D2-TR	Correlación de Pearson	,412*	,409*	ns	,419**	,344*	,474**	ns	-,341*	ns	ns	,455**
	Sig. (bilateral)	0,010	0,011	ns	0,009	0,035	0,003	ns	0,021	ns	ns	0,001
D2-TOT	Correlación de Pearson	0,278	,302*	ns	,394*	,324*	,487**	ns	ns	ns	ns	,329*
	Sig. (bilateral)	0,091	0,015	ns	0,014	0,047	0,002	ns	ns	ns	ns	0,019
Letras y Números	Correlación de Pearson	,474**	ns	ns	ns	ns	ns	-,645**	-,561**	-,396**	,522**	,560**
	Sig. (bilateral)	0,002	ns	ns	ns	ns	ns	0,000	0,000	0,006	0,000	0,000



En la tabla 3 aparecen los resultados de las correlaciones entre distintos test. Se puede observar como muchos de ellos están relacionados entre sí, es decir, fallar en uno conlleva en muchos casos fallar también en el otro.

Los pacientes que en el PHES tienen resultados bajos, fallan en algunas pruebas del test motor Vienna, también suspenden el Wisconsin y los de memoria lógica. Este comportamiento también se repite con el test de colores y letras del Stroop, ya que el Wisconsin, el WMS IV y algunas pruebas del Vienna también tienen resultados alterados.

En cuando a los test de coordinación bimanual y visuomotora, solo se correlacionan con el test Vienna, los resultados con el resto de tests se muestran como no significativos, esto es lógico ya que el Vienna también mide la respuesta motora.

Los dos parámetros que se han elegido para representar correlaciones en el test de D2 no muestran unos resultados claros, ya que aparece significancia con algunos sub-tests del Vienna, Wisconsin y WMS IV-memoria, pero no en todas las pruebas, por lo que no se puede asegurar con certeza que la correlación sea total entre los tests.

El test oral de letras y números se correlaciona muy bien con los test de atención Wisconsin y WMS IV, pero no se relaciona con el test motor de Vienna.

## 4. DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos en las distintas pruebas y ensayos, se puede decir que, aunque la batería PHES ha sido muy útil y usada mundialmente para el diagnóstico de EHM, como ya se ha indicado en la Introducción, hay varios estudios que demuestran que no es el test más sensible a la hora de diagnosticar EHM. Hay pacientes clasificados como sin EHM por el PHES que presentan déficits neurológicos que pueden detectarse por otros test más sensibles. (Felipo *et al.*, 2012; Butz *et al.*, 2010)

La proporción de pacientes cirróticos clasificados como sin EHM por el PHES pero que fallan en al menos 2 test psicométricos (grupo “*border-line*”) es elevada y esto puede atrasar su tratamiento y afectar a la calidad de vida.

La EHM tiene un impacto significativo en la calidad de vida del paciente y se suele relacionar con la reducción en la habilidad de conducción, un aumento de hospitalizaciones e incluso provocar la muerte. Por ello, sería de gran importancia un diagnóstico precoz, así como la asistencia de cuidadores y de los sistemas de salud (Prystupa *et al.*, 2015).

El tratamiento rápido y efectivo de los pacientes de EHM mejora la calidad de vida, previene la progresión de la enfermedad y reduce costes sociales porque reduce el número de accidentes de tráfico o de trabajo (Balaj *et al.*, 2009). Por todo esto, un diagnóstico rápido de la EHM es necesario, pero con la batería PHES no se produce porque no es lo suficientemente sensible como para detectar los síntomas tempranos.

Como ya se ha comentado, las alteraciones neurológicas son distintas en distintos pacientes. Esto significa que usar un test individual sensible no va a ser suficiente para todos los pacientes y será necesario usar una combinación de varios test para que realmente sea efectivo.

Las funciones neurológicas afectadas en diferentes grupos de pacientes se modulan por distintos mecanismos que involucran distintos neurotransmisores en diferentes áreas del cerebro. Por ejemplo; el cerebelo es clave en la modulación de la coordinación bimanual y visuo-motora (Debaere *et al.*, 2004; Pollok *et al.*, 2007; Miall *et al.*, 2001) y el GABA es el principal neurotransmisor relacionado con la coordinación motora (Hanchar *et al.*, 2005; Boix *et al.*, 2010).

En cambio, la atención y la función ejecutiva se regulan en el córtex prefrontal y se modula por receptores dopaminérgicos, noradrenérgicos, serotoninérgicos y colinérgicos (Logue *et al.*, 2014). En por ello que en algunos pacientes la neurotransmisión GABAérgica en el cerebelo se ve afectada antes, llevando a alteraciones motoras tempranas, mientras que en otros pacientes lo primero que falla son los receptores colinérgicos del córtex, provocando déficits de concentración y atención.

Por eso las alteraciones neurológicas son tan variables en los distintos grupos de pacientes, porque la regulación ocurre en distintos sitios y dependiendo de cuál esté afectada primero se tendrán unos síntomas u otros.

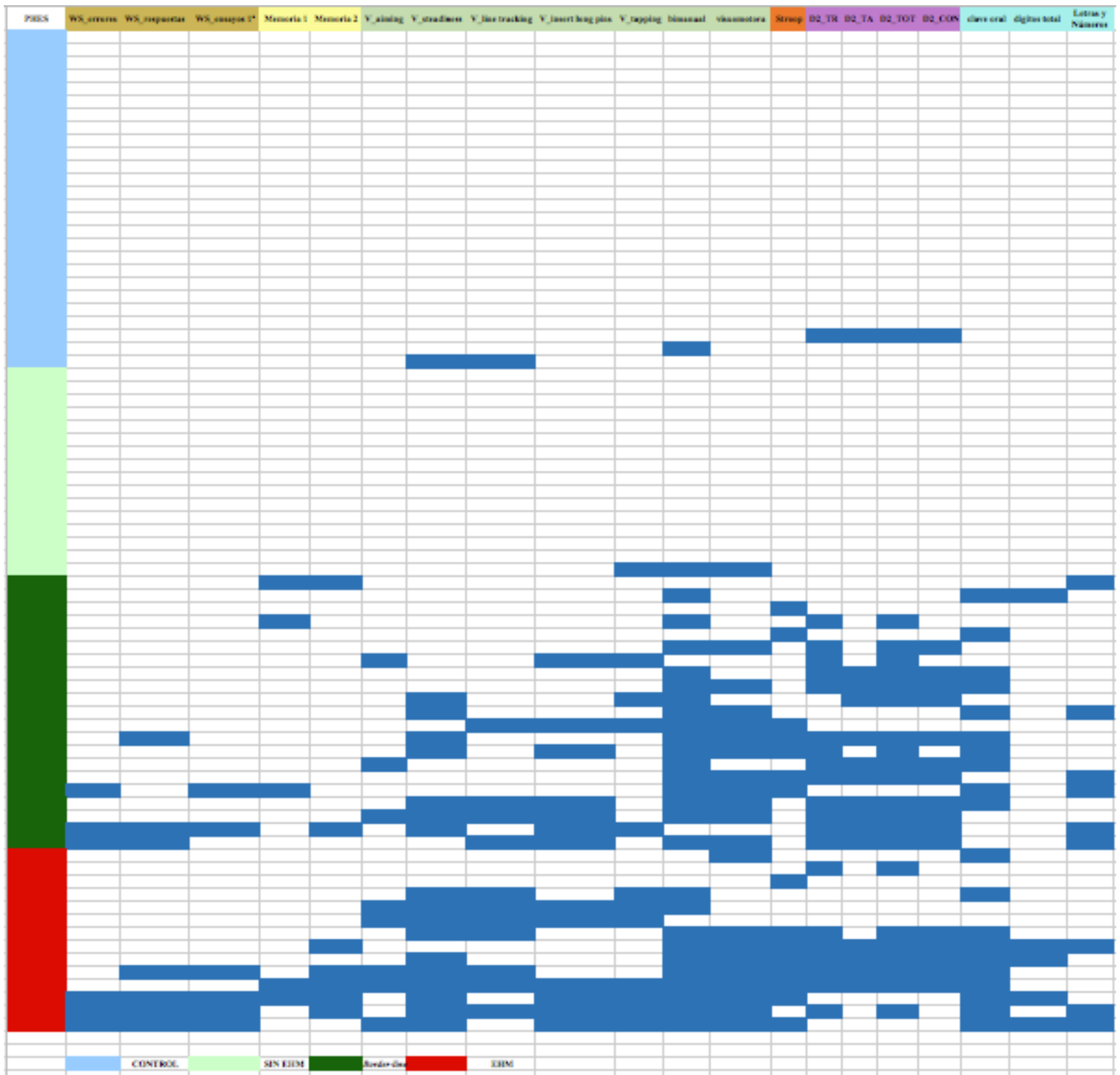


Figura 22. Representación gráfica de los pacientes y controles y distintos test realizados. Los cuadros azules representan los test en los que los individuos han fallado, es decir, su puntuación es menor que 2SD respecto a la media de los controles. Se puede observar como los "border-lines" tienen un comportamiento más parecido a los con EHM que a los sin EHM.

Como se observa en la figura 22, los pacientes cirróticos correspondientes al grupo “border-line” tienen errores en varios test, lo que demuestra que tienen déficits neurológicos tempranos no detectados por el PHES. Los test que más suelen fallar son los de coordinación y el D2. Aunque como ya hemos comentado anteriormente, los síntomas varían de un paciente a otro y por eso algunos suspenden en pruebas del Wisconsin, el Stroop o los dígitos.

El grupo sin EHM obtiene puntuaciones en los tests muy similares a las del grupo control, lo que indica que estos pacientes cirróticos no tienen afectada la cognición ni la función motora.

A parte del PHES y el resto de tests psicométricos, se analizó el nivel de amonio en sangre y la concentración de las interleuquinas proinflamatorias IL-6 e IL-18, para evaluar si la hiperamonemia producida por un mal funcionamiento del hígado y la inflamación contribuyen a inducir un deterioro cognitivo.

Se ha demostrado que la hiperamonemia o la inflamación por sí solas no originan deterioro cognitivo pero la combinación de ambas puede llegar a desencadenar encefalopatía hepática (Felipo *et al.*, 2012).

En la Figura 20, en los resultados de la prueba del amonio, se puede observar como los niveles de amonio de los controles son muy inferiores a los de los pacientes, pero las diferencias entre grupos no son lo suficientemente amplias como para que haya significancia entre ellas. Esto demuestra que la hiperamonemia requiere de la actuación sinérgica de otros parámetros para causar alteraciones neurológicas.

Se ha propuesto la inflamación como un parámetro que desempeña un papel fundamental junto a la hiperamonemia en el deterioro cognitivo (Montoliu *et al.*, 2009), por ello, se analizan la IL-6 y la IL-18.

La concentración de interleuquinas aumenta de forma progresiva a través de los grupos de pacientes, cuando peor es el diagnóstico de la enfermedad, más inflamación presenta. Se puede apreciar que el aumento de la concentración de las interleuquinas IL-6 y la IL-18 (aumento de la inflamación) se relaciona con una mayor alteración neurológica.

En la Figura 21 se observa como la media del grupo con EHM es parecida a la del grupo “border-line”, aunque un poco mayor. Sin embargo, sí que hay diferencias significativas de estos grupos con los pacientes sin EHM y los controles.

Los pacientes “border-line”, que no tienen EHM según el PHES, tienen prácticamente el mismo nivel de interleuquinas proinflamatorias (IL-6 e IL-18) que el grupo con EHM. Por otro lado, el otro grupo sin EHM posee unos niveles de inflamación muy inferiores a los del grupo con EHM. Esto demuestra que los pacientes que fallan al menos dos test psicométricos tienen niveles de inflamación altos y deben ser tratados ya que tienen déficits cognitivos.

Además, el hecho de que los niveles de interleuquinas estén aumentados en los grupos de pacientes con EHM y “border-line”, mientras que el grupo de pacientes sin EHM presenta niveles similares al grupo control, prueba que la inflamación juega un papel clave en el deterioro neurológico.

Dados estos resultados, las interleuquinas IL-6 e IL-18 podrían utilizarse como marcadores bioquímicos para identificar a los pacientes cuyos niveles de inflamación producen un deterioro cognitivo.

En cuanto a los resultados de la tabla de correlaciones (Tabla 3), se puede observar como varios de los test están muy relacionados entre sí, como los de coordinación bimanual y visuomotora y el test Vienna. Esto es lógico ya que estas tres pruebas miden la coordinación motora. Otros test correlacionados son el Wisconsin con el Stroop y el de claves Orales de Letras y Números, los pacientes que fallan en estos test tienen déficits de concentración y atención.

Con esta tabla se puede demostrar que la combinación de varios test puede llevar a un correcto diagnóstico de EHM, evitando realizar todas las pruebas para ahorrar tiempo y molestia a los pacientes, ya que si se realizan todos los test que se explican en este estudio, el tiempo empleado rondaría las dos horas.

Según las correlaciones, con una combinación de PHES, Stroop, D2 y algún test de coordinación se podría detectar los enfermos de EHM rápidamente y comenzar su tratamiento para mejorar la calidad de vida.

## 5. CONCLUSIÓN

En conclusión, los resultados muestran que la batería PHES no es lo suficientemente sensible como para detectar déficits neurológicos tempranos en pacientes cirróticos. El uso de otros test complementaría el diagnóstico, mejorando la detección de EHM y de esta forma se podría tratar a los pacientes y mejorar su calidad de vida. Estos test son, por ejemplo: el D2, los de coordinación motora o el Wisconsin.

También se ha demostrado que los pacientes cirróticos son una población heterogénea ya que las alteraciones neurológicas varían en los pacientes debido a los mecanismos cerebrales que participan del proceso. Está claro que aparece un grupo de pacientes que según el PHES no tienen EHM, pero sí muestran una coordinación visuo-motora afectada en comparación con el grupo sin EHM, déficit de atención en comparación con el grupo sin EHM y velocidad de procesamiento mental y memoria de trabajo afectada o dañada respecto al grupo sin EHM, pero en menor grado que los pacientes con EHM. A este grupo se le ha denominado "*border-line*" ya que según el PHES no tienen EHM, pero muestran claramente síntomas de deterioro neurológico.

Por otro lado, se ha demostrado que la hiperamonemia es un factor importante, pero por sí sola no desencadena deterioro cognitivo, requiere de la combinación de ciertos niveles de inflamación. Además, no puede ser utilizada como medida para clasificar los pacientes en diferentes grupos ya que no hay diferencias significativas entre los distintos grupos de pacientes porque las medidas son muy variables.

Los resultados mostrados en los tests de las interleuquinas señalan que podrían usarse como marcadores bioquímicos para identificar aquellos pacientes cuya inflamación les genera deterioro cognitivo, teniendo en cuenta que no constituyen una alternativa a los tests. Los niveles de IL-6 y la IL-18 en sangre del grupo con EHM no son suficientemente diferentes en el grupo "*border-line*" como para poder clasificarlos correctamente, aunque estos dos grupos sí se diferencian claramente de los controles y los pacientes sin EHM.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Bajaj JS, Saeian K, Schubert CM, Hafeezullah M, Franco J, Varma RR et al. Minimal hepatic encephalopathy is associated with motor vehicle crashes: the reality beyond the driving test. *Hepatology*. 2009; 50:1175–1183. doi: 10.1002/hep.23128 PMID: 19670416
- Boix J, Cauli O, Felipo V. Developmental exposure to polychlorinated biphenyls 52, 138 or 180 affects differentially learning or motor coordination in adult rats. Mechanisms involved. *Neuroscience*. 2010; 167:994–1003. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.02.068 PMID: 20223283
- Butz M, Timmermann L, Braun M, Groiss SJ, Wojtecki L, Ostrowski S, et al. Motor impairment in liver cirrhosis without and with minimal hepatic encephalopathy. *Acta Neurol Scand*. 2010; 122:27–35. doi: 10.1111/j.1600-0404.2009.01246.x PMID: 20003084
- Debaere F, Wenderoth N, Sunaert S, Van Hecke P, Swinnen SP. Cerebellar and premotor function in bimanual coordination: parametric neural responses to spatiotemporal complexity and cycling frequency. *Neuroimage*. 2004; 21:1416–1427. doi: 10.1016/j.neuroimage.2003.12.011 PMID: 15050567
- Felipo V. Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013; 14(12):851–858. doi: 10.1038/nrn3587 PMID: 24149188
- Felipo V, Ordoño JF, Urios A, El Mlili N, Giménez-Garzo C, Aguado C, et al. Patients with minimal hepatic encephalopathy show impaired mismatch negativity correlating with reduced performance in attention tests. *Hepatology*. 2012; 55: 530–539. doi: 10.1002/hep.24704 PMID: 21953369
- Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy. Definition, nomenclature, diagnosis and quantification: final report of the working party at the 11th World Congress of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology*. 2002; 35:716–721. doi: 10.1053/jhep.2002.31250 PMID: 11870389
- Giménez-Garzo C, Garcés JJ, Urios A, Mangas-Losada A, García-García R, González-López O, et al. (2017) The PHES battery does not detect all cirrhotic patients with early neurological deficits, which are different in different patients. *PLoS ONE* 12(2): e0171211. doi:10.1371/journal.pone.0171211
- Gómez Romero M, Córdoba J (2006). Tablas de normalidad de la población española para los test psicométricos utilizados en el diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima. *Medicina clínica* 137 (7):246-49.
- Groeneweg M, Quero JC, De Bruijn I, Hartmann IJ, Essink-bot ML, Hop WC et al. Subclinical hepatic encephalopathy impairs daily functioning. *Hepatology* 1998; 28:45–49. doi: 10.1002/hep.510280108 PMID: 9657095

- Hanchar HJ, Dodson PD, Olsen RW, Otis TS, Wallner M. Alcohol-induced motor impairment caused by increased extrasynaptic GABA(A) receptor activity. *Nat Neurosci.* 2005; 8:339–345. doi: 10.1038/nn1398 PMID: 15696164
- Logue SF, Gould TJ. The neural and genetic basis of executive function: attention, cognitive flexibility, and response inhibition. *Pharmacol Biochem Behav.* 2014; 123:45–54. doi: 10.1016/j.pbb.2013.08.007 PMID: 23978501
- Miall RC, Reckess GZ, Imamizu H. The cerebellum coordinates eye and hand tracking movements. *Nat Neurosci.* 2001; 4: 638–644. doi: 10.1038/88465 PMID: 11369946
- Montoliu, C., Piedrafita, B., Serra, M., del Olmo, J., Urios, A., Rodrigo, J. and Felipo, V. IL-6 and IL-18 in Blood May Discriminate Cirrhotic Patients with and Without Minimal Hepatic Encephalopathy. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43:272–279
- Pollok B, Butz M, Gross J, Schnitzler A. Intercerebellar coupling contributes to bimanual coordination. *J Cogn Neurosci.* 2007; 19: 704–719. doi: 10.1162/jocn.2007.19.4.704 PMID: 17381260
- Prystupa A, Kicinski P, Sak J, Boquszewska-Czubara A, Torun-Jurkowska A, Zaluska W (2015). Growth factor in patients with alcoholic liver cirrhosis 2015.
- Román E, Córdoba J, Torrens M, Torras X, Villanueva C, Vargas V, et al. Minimal hepatic encephalopathy is associated with falls. *Am J Gastroenterol.* 2011; 106:476482. doi: 10.1038/ajg.2010.413 PMID: 20978484
- Schomerus, H., Hamster, W., Blunck, A., Reinhadt, U., Mayer, K. & Dölle, W. (1980). Latent portostystemic encephalopathy. Nature of cerebral functional defects and their effect on fitness to drive. *Journal of Digestive Diseases.*
- Schoppe, K.J. (1974). Das MLS-Gerät: ein neuer Testapparat zur Messung feinmotorischer Leistungen. *Diagnostica, 20*, pp. 43-47.
- Stepanova, M., Mishra, A., Venkatesan, C. & Younossi, Z. M. In hospital mortality and economic burden associated with hepatic encephalopathy in the United States from 2005 to 2009. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 10, 1034–1041 (2012).
- Szekely CA, Thorne JE, Zandi PP, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer’s disease: a systematic review. *Neuroepidemiology.* 2004; 23: 159–169.
- Tranah, T., Vijay, G., Ryan, J. and Shawcross, D. Systemic inflammation and ammonia in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* (2013) 28:1–5 DOI 10.1007/s11011-012-9370-2
- Wein C, Koch H, Popp B, Oehler G, Schauder P. Minimal hepatic encephalopathy impairs fitness to drive. *Hepatology.* 2004; 39:739–745. doi: 10.1002/hep.20095 PMID: 14999692