

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA



**Caracterización de la función visual en pacientes cirróticos con
encefalopatía hepática mínima**

TRABAJO FIN DE MÁSTER EN BIOTECNOLOGÍA BIOMÉDICA

ALUMNA: Miriam Meseguer Sola

TUTORA INCLIVA: Carmina Montoliu Félix

COTUTORA INCLIVA: Dalia Angela Rega Caballero

TUTOR UPV: Máximo Ibo Galindo Orozco

Curso Académico: 2019-2021

VALENCIA, 03/06/2021

RESUMEN

La cirrosis se define como un estado avanzado de las enfermedades hepáticas crónicas que surge como consecuencia de la reparación tisular excesiva a causa de un daño hepático crónico. El 40% de pacientes con cirrosis presentan encefalopatía hepática mínima (EHM) con déficits cognitivos y motores que disminuyen su calidad de vida y supervivencia. Actualmente, la batería PHES (del inglés, *Psychometric Hepatic Encephalopathy Score*) es la más aceptada para la detección de la EHM, aunque se ha visto que puede no ser efectiva en todos los pacientes. Hay estudios que sugieren que la medida de los potenciales evocados visuales (PEV) constituye un método simple y objetivo para diferenciar los grados de encefalopatía hepática, y podrían ser útiles para diagnosticar la EHM.

El objetivo principal de este estudio es evaluar la capacidad de los potenciales evocados visuales para diagnosticar la EHM en pacientes con cirrosis hepática, y relacionar las alteraciones en los PEV con la inflamación periférica en estos pacientes. En este trabajo se caracterizaron los PEV en pacientes cirróticos sin (NEHM) y con EHM, así como su posible uso como herramienta para la detección temprana de la EHM. Además, se estudió si alteraciones en los PEV están relacionadas con un estado de inflamación periférica. Para ello se realizó la prueba de PEV a pacientes cirróticos que habían sido clasificados como sin (NEHM) y con EHM según la puntuación del PHES y, se correlacionó con el PHES y con otras pruebas que evalúan diferentes alteraciones neurológicas, como los test Stroop y d2 o la coordinación visomotora, entre otras. También se cuantificaron los niveles de la interleuquina pro-inflamatoria IL-6 en suero para estudiar la inflamación periférica, así como los niveles de amonio en sangre.

Como conclusión, los pacientes cirróticos sin y con EHM presentan un retraso significativo en la latencia de los potenciales evocados visuales y una tendencia a la disminución en la amplitud, con respecto a los controles sanos. Estas alteraciones en los PEV se correlacionan con los niveles de amonio y de inflamación (medida mediante los niveles de IL 6 en suero), que indicaría que el deterioro del nervio óptico en pacientes cirróticos se debe a un estado inflamatorio. Sin embargo, la medida de PEV no llega a discriminar entre pacientes sin y con EHM, por lo que no se podría utilizar como test de diagnóstico para la EHM.

Palabras clave: *Cirrosis, Encefalopatía hepática mínima, Inflamación periférica, Potenciales evocados visuales.*

ABSTRACT

Cirrhosis is defined as an advanced stage of chronic liver disease that arises as a consequence of excessive tissue repair due to chronic liver damage. 40% of patients with cirrhosis present minimal hepatic encephalopathy (MHE) with cognitive and motor deficits that decrease their quality of life and survival. Currently, the PHES (Psychometric Hepatic Encephalopathy Score) battery is the most widely accepted for the detection of MHE, although it has been shown that it cannot be effective in all patients. There are studies that suggest that the measurement of visual evoked potentials (VEP) is a simple and objective method to differentiate the degrees of hepatic encephalopathy, and could be useful for diagnosing MHE.

The main objective of this study was to evaluate the ability of visual evoked potentials to diagnose MHE in patients with liver cirrhosis, and to relate alterations in VEPs with peripheral inflammation in these patients. In this work, VEPs were characterized in cirrhotic patients without (NMHE) and with MHE, as well as its utility as a tool for the early detection of MHE. In addition, we studied whether alterations in VEPs are related to a state of peripheral inflammation. For this purpose, VEP test was performed in cirrhotic patients who have been classified as without (NMHE) and with MHE according to the PHES score and, it was correlated with the PHES and with other tests that evaluate different neurological alterations, such as the Stroop test and d2 or visual-motor coordination, among others. Serum levels of the pro-inflammatory interleukin IL-6 were also quantified to study peripheral inflammation, as well as blood ammonia levels.

In conclusion, cirrhotic patients without and with MHE present a significant delay in the latency of visual evoked potentials and a tendency to decrease in amplitude, compared to healthy controls. These alterations in VEPs correlated with the levels of ammonia and inflammation (measured by the levels of IL-6 in serum), which would indicate that the deterioration of the optic nerve in cirrhotic patients could be due to an inflammatory state. However, the VEP measurement does not discriminate between patients without and with MHE, so it could not be used as a diagnostic test for MHE.

Key words: *Cirrhosis, Minimal hepatic encephalopathy, Peripheral inflammation, Visual evoked potentials.*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. Enfermedades hepáticas	1
Hepatitis virales	1
Enfermedad de hígado graso no alcohólica.....	3
Enfermedad hepática alcohólica	5
2. Inflamación periférica y encefalopatía hepática.....	7
Clasificación encefalopatía hepática.....	9
Manifestaciones clínicas.....	9
Diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima	11
3. Potenciales evocados	11
HIPÓTESIS.....	12
OBJETIVOS.....	12
1. Controles y pacientes	14
2. Evaluación neuropsicológica	15
Batería de test psicométricos PHES	15
Otras pruebas psicométricas	16
3. Pruebas bioquímicas.....	17
Obtención de muestras	17
Determinación de amonio en sangre.....	17
Determinación de interleuquina 6 en suero.....	17
4. Potenciales evocados visuales	18
5. Análisis estadísticos	19
RESULTADOS	21
1. Evaluación neuropsicológica.....	21
2. Evaluación de los Potenciales evocados visuales.....	22
3. Análisis parámetros bioquímicos	27
4. Estudio de la relación entre los parámetros bioquímicos y los PEV	27

5. Estudio de la relación entre los parámetros bioquímicos.....	28
CONCLUSIÓN	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33
ANEXOS.....	1
Anexo 1: Pruebas psicométricas y motoras para estudiar el deterioro neuropsicológico	1
Stroop.....	1
Frecuencia crítica de parpadeo (FCP).....	2
Prueba d2	2
Pruebas de coordinación bimanual y visomotora	3
Prueba oral de claves.....	4
Prueba oral de dígitos.....	4
Prueba oral de números y letras	5

ÍNDICE FIGURAS:

Figura 1: Progresión hacia fibrosis. TNF- α : Factor de necrosis tumoral α ; IL-1 β : Interleuquina 1 β . Modificado de (Jung & Yim, 2017).	4
Figura 2: Progresión NAFLD hasta cirrosis. Modificado de (Huang et al., 2020).	5
Figura 3: Relación entre las alteraciones motoras y cognitivas y las enfermedades hepáticas. Modificada de (Montoliu et al., 2015).	8
Figura 4: Batería pruebas PHES. (A-E). (A): Test de dígitos y símbolos (DST). (B): Test de conexión numérica A (NCT-A). (C): Test de conexión numérica B (NCT-B). (D): Test de puntos seriados (SD). (E): Test de la línea quebrada (LTT).....	16
Figura 5: Tablero de ajedrez en blanco y negro	18
Figura 6: Resultado de VEP (Creel, 2019).....	19
Figura 7: Latencias y amplitudes de la onda P100 entre pacientes con o sin EHM y controles..	24
Figura 8: Representación gráfica de la distribución de las diferentes morfologías de la onda P100 de los PEV en los tres grupos de estudio.....	25

ÍNDICE TABLAS:

Tabla 1: Clasificación encefalopatía hepática en pacientes cirróticos con los criterios West Haven. Modificada de Weissenborn, 2019	10
Tabla 2: Composición de los diferentes grupos y etiología de la enfermedad hepática.	14
Tabla 3: Resultados pruebas neuropsicológicas.	21
Tabla 4: Comparación latencia y amplitud de la onda P100 entre los diferentes grupos.	22
Tabla 5: Comparación morfología de la onda P100 entre los diferentes grupos.	24
Tabla 6: Correlaciones parámetros PEV con las pruebas neuropsicométricas	26
Tabla 7: Estudio parámetros bioquímicos.....	27
Tabla 8: Correlación parámetros PEV y bioquímicos	27

INTRODUCCIÓN

1. Enfermedades hepáticas

El hígado es un órgano que se encarga de mantener la homeostasis metabólica mediante el procesamiento de los aminoácidos, carbohidratos, lípidos y vitaminas procedentes de la dieta. Además, se encarga también de la metabolización del colesterol y las toxinas y del almacenamiento del glucógeno (Heidelbaugh & Bruderly, 2006). Las enfermedades hepáticas afectan a millones de personas en todo el mundo. Tanto es así, que se estima que en el año 2010 más de 2 millones de muertes fueron a causa de enfermedades hepáticas (Xiao et al., 2019). Estas enfermedades se pueden clasificar dependiendo de su origen, el cual puede ser vírico, causadas por los virus de la hepatitis A, B, C, D o E. Por otro lado, también pueden ser de origen alcohólico (enfermedades de hígado alcohólicas, ALD) o por acumulación de grasa en el hígado (enfermedades de hígado graso no alcohólicas, NAFLD). Aunque estas sean las principales, existen otras causas de las enfermedades hepáticas tales como autoinmunidad o genéticas, como la enfermedad de Wilson (Asrani et al., 2019).

La cirrosis se define como un estado avanzado de las enfermedades hepáticas crónicas. Surge como consecuencia de la reparación tisular excesiva a causa de un daño hepático crónico. Este tipo de enfermedades se caracterizan por una lesión parenquimatosa crónica, una activación de la respuesta inflamatoria persistente y, por una sostenida activación de la fibrogénesis en el hígado. La fibrogénesis está determinada por una acumulación de componentes de la matriz extracelular y por una activación de miofibroblastos hepáticos que modulan la respuesta inflamatoria e inmunológica, así como la angiogénesis (Odena & Bataller, 2012; Parola & Pinzani, 2019). Se estima que esta enfermedad hepática es la causante de 1.16 millones de muertes y, tal y como se ha mencionado anteriormente, puede tener varios orígenes que se comentarán a continuación en más detalle (Asrani et al., 2019).

Hepatitis virales

Se estima que las hepatitis virales, en su conjunto, causaron el 0,3% de muertes en 2010 (Asrani et al., 2019). De los cinco tipos, la hepatitis viral C (HVC) y la B (HVB) son las principales que pueden derivar en cirrosis (Lai et al., 2003).

Hepatitis viral B (HVB)

Estos virus pueden organizarse en dos géneros de la familia *Hepadnaviridae*. El género que se caracteriza por infectar a humanos es el género *Orthohepadnavirus*. Presenta un ADN circular parcialmente bicatenario (Warner & Locarnini, 2012). Presenta varias proteínas estructurales, como la proteína S y las core. Su genoma contiene también la información para

otras proteínas no estructurales como la X, cuyas funciones aún no están muy definidas, pero que se piensa que juega un papel importante en la replicación viral debido a sus propiedades transcripcionales (Raimondo et al., 2005).

El virus de la hepatitis B puede transmitirse por vía parenteral, tanto percutánea como permucosa. También puede ser de manera vertical, teniendo en estos casos el neonato hasta un 90% de probabilidades de padecer hepatitis B crónica. La transmisión también puede ser por contacto sexual, el consumo de drogas intravenosas o por transfusiones de sangre (Lai et al., 2003; Liaw & Chu, 2009).

Este virus es un virus no citolítico, una vez dentro del hepatocito puede permanecer ahí durante toda la vida de este integrándose o no en el genoma del hospedador. Uno de los mecanismos por los que puede dar lugar a un daño hepático más grave es cuando se integra en el genoma, ya que hace que haya una mayor predisposición a que la célula se vuelva maligna y al desarrollo de una infección crónica (Liaw & Chu, 2009; Raimondo et al., 2005). También puede ejercer daño hepático a través de proteínas S truncadas o las proteínas X. Entre algunas de las funciones que se han visto de las proteínas X es su capacidad de interactuar con factores de transcripción como el ATF o a proteínas supresoras de tumores como la p53 (Chisari et al., 2010). Hay que destacar también que puede dar lugar a daño hepático a través del sistema inmunológico. Su infección en el hígado comienza activando débilmente el sistema inmune innato y acaba activando finalmente el sistema inmune adaptativo. La infección por este tipo de virus derivará una infección crónica dependiendo, en gran medida, de una baja respuesta por parte de las células T (Trépo et al., 2014). Como consecuencia del mal funcionamiento del sistema inmunológico se producen una destrucción y regeneración recurrentes de las células hepáticas que deriva en cirrosis (Chisari et al., 2010).

Hepatitis viral C (HVC)

Este tipo de virus pertenece al género *Hepacivirus* de la familia *Flaviviruses* (Niller & Minarovits, 2018). Su genoma es una hebra de RNA de polaridad positiva, lo que quiere decir que actúa como ARN mensajero. Este RNA codifica tanto para proteínas estructurales, como las glucoproteínas E1 y E2, aunque también para proteínas no estructurales, como por ejemplo la NS2, NS4 o NS4. Estas últimas proteínas tienen como función el procesamiento de la poliproteína producida por el ARN mensajero del virus y con la replicación viral (Gal-Tanamy et al., 2009; Koutsoudakis et al., 2013).

La transmisión del HVC es principalmente de manera directa por exposición percutánea a sangre infectada, sobre todo por el uso de drogas inyectables o transfusiones de

sangre procedentes de donadores infectados. También puede darse la transmisión de este virus de manera perinatal y sexual, aunque de manera menos eficiente (Babineaux & Alter, 2011). A menudo, el VHC es asintomático, sin embargo, puede acabar frecuentemente en una hepatitis crónica (Foster et al., 2018).

En la primera respuesta de los hepatocitos ante una infección por este virus se ven involucrados principalmente varios receptores de reconocimiento de patrones (PRR), unas proteínas del sistema inmune innato que reconocen virus. Uno de los principales PRR activados es el TLR3, que reconoce dobles hebras de RNA virales. Como consecuencia, se activan unas vías de señalización que conducen a la producción de interferón (IFN) que, a su vez, activa otras vías de señalización como la JAK-STAT. Esta vía está relacionada con la expresión de varios genes encargados de bloquear la replicación viral. Sin embargo, el HVC tiene la capacidad de contrarrestar la inmunidad innata a través de la inhibición de la expresión de citocinas a través de la proteasa NS2. También tiene otras como la NS3, NS4A y NS4B que se encargan de bloquear la producción de IFN en la célula huésped (Foster et al., 2018). También se ha visto que varias de estas proteínas no estructurales tienen la capacidad de interactuar con varios factores de la célula hospedadora, alterando la transcripción, señales celulares, apoptosis y proliferación celular del hospedador, entre muchas otras funciones. Principalmente destaca el potencial de transformación y de alteración de varias vías oncogénicas (Levrero, 2006). Estos mecanismos mencionados son los que permiten que el HVC pueda llegar a producir hepatitis crónicas y derivar en cirrosis (Foster et al., 2018; Levrero, 2006).

Enfermedad de hígado graso no alcohólica

Las enfermedades de hígado graso no alcohólicas (NAFLD, por sus siglas en inglés), se considera como un espectro de enfermedades hepáticas que van desde la esteatosis aislada, la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), la fibrosis y que, finalmente puede acabar en cirrosis (Huang et al., 2020). El principal factor de riesgo asociado con las NAFLD es la obesidad y, más específicamente, la diabetes de mellitus (tipo II), aunque se ha podido ver también una estrecha relación de la NAFLD con el síndrome metabólico, destacado por afecciones como obesidad central, hipertrigliceridemia, hipertensión, intolerancia a la glucosa y colesterol bajo de lipoproteínas de alta densidad (HDL). Se ha visto la existencia de una coexistencia en más del 90% de los pacientes que presentan NAFLD con al menos una de estas patologías del síndrome metabólico (Argo & Caldwell, 2009). Debido al aumento de estas afectaciones en los países desarrollados, las NAFLD se ha convertido en la principal enfermedad hepática crónica,

estimándose que la prevalencia en Europa de esta enfermedad podría estar entorno al 23,71% (Huang et al., 2020; Pimpin et al., 2018).

El avance de la NAFLD es complejo e involucra múltiples mecanismos. Aunque aún no están claros todos los mecanismos que favorecen la aparición de esta enfermedad, se ha visto que la resistencia a la insulina parece ser uno de los mecanismos clave (Cobbina & Akhlaghi, 2017). Entre las funciones del hígado destaca la gluconeogénesis en ayunas y la producción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que contienen la mayor cantidad de triacilglicéridos séricos. En individuos sanos, la insulina suprime la producción de ácidos grasos libres (FFA) del tejido adiposo periférico y la producción de *novo* de VLDL hepáticas. En el caso de los pacientes de NAFLD se ha visto un aumento de tejido adiposo visceral, lo que ha conducido a su vez a una resistencia a insulina y la consecuente hiperinsulinemia, aumentando los FFAs, la producción de VLDL y la gluconeogénesis. Además, de este modo también se incrementan los FFAs que drenan al hígado, y el conjunto de todos estos mecanismos da lugar a un aumento de la esteatosis (se considera NAFLD cuando la esteatosis se encuentra en más del 5% de hepatocitos) (Huang et al., 2020; Taylor et al., 2020). El aumento de grasa en los hepatocitos conduce a una mayor peroxidación de lípidos (Lefkowitz, 2005).



Figura 1: Progresión NAFLD hasta cirrosis. Modificado de (Huang et al., 2020)

Si la esteatosis progresa, existe la posibilidad de que conlleve a una lipotoxicidad y a un estrés oxidativo que derive a su vez a inflamación y muerte celular. En este punto la enfermedad pasaría a encontrarse en el estadio de esteatohepatitis no alcohólica (NASH), en la que la producción de factores inflamatorios y especies reactivas de oxígeno dará lugar al reclutamiento de macrófagos periféricos hacia el hígado, así como la activación de las células de Kupper y de las células estrelladas hepáticas (HSC) (Jung & Yim, 2017). Las células de Kuppfer son macrófagos hepáticos especializados que, además de reclutar más macrófagos periféricos, linfocitos T y neutrófilos, aumentan la hepatotoxicidad vista en NASH. Secretan sustancias con capacidad de activar a las HSC (Figura 1). Las HSC son miofibroblastos hepáticos

que en respuesta a citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) o la interleuquina 1 β (IL-1 β) secretan proteínas de la matriz extracelular (ECM) y más sustancias inflamatorias como la interleuquina 6 (IL-6). La acumulación de esta ECM va a conducir a una destrucción de las estructuras e invasión hepáticas, llevando a una fibrosis progresiva y a un mal funcionamiento hepático que, en su último estadio, acaba en cirrosis (Huang et al., 2020; Jung & Yim, 2017).

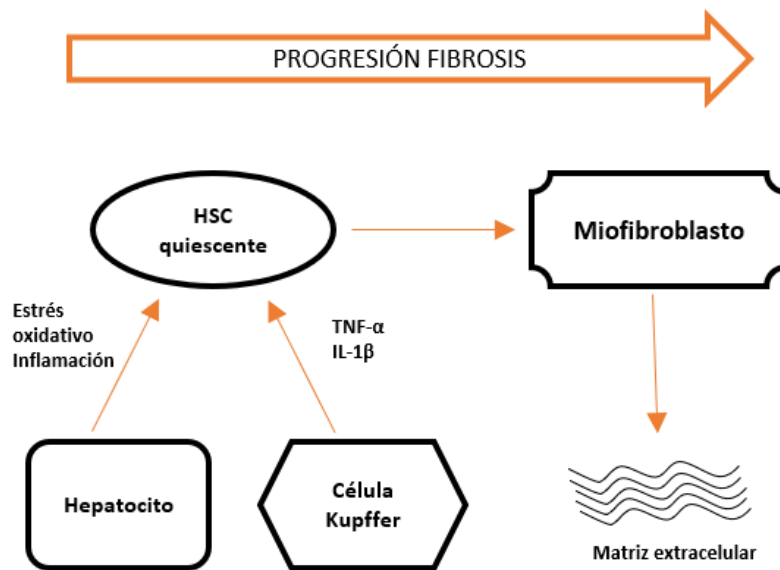


Figura 2: Progresión hacia fibrosis. TNF- α : Factor de necrosis tumoral α ; IL-1 β : Interleuquina 1 β . Modificado de (Jung & Yim, 2017).

Se ha visto que alrededor de un 20-30% de pacientes que presentan NAFLD acaban por desarrollar NASH, caracterizada por lesiones del parénquima hepático, inflamación y fibrosis. Normalmente en este estadio, el hígado intenta generar nuevas células y, como consecuencia, la NASH progresa hasta cirrosis, donde los hepatocitos han sido reemplazados por tejido cicatricial. La cirrosis es el estado final, requiriendo trasplante hepático o derivando en hepatocarcinoma celular (HCC) (Cobbina & Akhlaghi, 2017; Parola & Pinzani, 2019)

Enfermedad hepática alcohólica

Las enfermedades hepáticas alcohólicas (ALD, por sus siglas en inglés), al igual que las NAFLD, pueden presentarse como una esteatosis aislada, avanzar a una esteatohepatitis crónica y, finalmente, acabar en una fibrosis que dará lugar a cirrosis. El principal factor de riesgo para esta enfermedad es la cantidad de alcohol consumido, independientemente del

tipo de alcohol que sea este, aunque se ha visto que esta característica también puede afectar. Así, también puede afectar las horas en las que se consume el alcohol, viéndose que hay más posibilidades de desarrollar la enfermedad si se consume alcohol fuera de las horas de comida. Otro factor que se ha visto que también puede aumentar el riesgo de padecer ALD es el sexo, demostrándose que las mujeres pueden ser hasta dos veces más sensibles al alcohol y desarrollar una enfermedad más severa con una menor dosis de alcohol (X. L. Lu et al., 2004; O'Shea et al., 2010). Se estima que el 50% de las muertes atribuidas a cirrosis, son causadas principalmente por el consumo de alcohol (Asrani et al., 2019).

El daño tisular producido en este tipo de enfermedad presenta muchas características similares con la NAFLD, como el papel que juega el TNF- α o las HCS. El principal cambio que ocurre es el desarrollo de esteatosis, que como en la NAFLD, es la conversión del hígado a un hígado graso donde las vacuolas de grasa ocupan la mayoría del hepatocito. Este aumento de lípidos en los hepatocitos conlleva a una mayor peroxidación de los lípidos, factor que ayuda a la patogénesis de la esteatohepatitis, al igual que en la NAFLD (Lefkowitz, 2005).

El hígado es el principal órgano metabolizador del alcohol, especialmente a través de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH). Esta enzima se encarga de metabolizar el etanol usando NAD⁺ y produciendo NADH y acetaldehído. El acetaldehído es un producto altamente tóxico que el propio hepatocito transforma en acetato para disminuir su toxicidad a través de la enzima aldehído deshidrogenasa 2 (ALDH2), la cual produce de nuevo más NADH. Con un consumo excesivo de alcohol se ve que disminuye la relación normal de NAD⁺ / NADH, lo que favorece la formación de lípidos y, por lo tanto, de la esteatosis. Otra de las enzimas importantes en la metabolización del alcohol es la CYP2E1, la cual también produce acetaldehído como producto secundario. Para poder ejercer su función necesita la presencia de etanol, sino es degradada. Se ha visto que en consumidores de alcohol la cantidad de etanol necesaria para que no se degrade esta enzima es mucho más elevada. Además, con el consumo de alcohol se producirá más cantidad de CYP2E1 que metabolizará más cantidad de etanol y que, como consecuencia, producirá más acetaldehído y especies reactivas de oxígeno. Las especies reactivas de oxígeno producirán un entorno de estrés oxidativo que favorecerá la fibrosis y un estado inflamatorio (Osna et al., 2017).

El entorno de estrés oxidativo y daño tisular da lugar a la esteatohepatitis, que se ve caracterizada también por la muerte de hepatocitos debido al consumo de alcohol. La apoptosis precipitada ocurre a causa de la expresión de Fas en la superficie de los hepatocitos que activa una vía que induce a la necrosis y al reclutamiento de macrófagos para su

fagocitación (Day, 2001). Este daño tisular conlleva a un reclutamiento de células del sistema inmune, sobre todo neutrófilos y linfocitos. Además, al igual que en la NAFLD, las células de Kupffer también se activan, jugando un papel importante en la inflamación en este estadio de la enfermedad. También se activarán las HCS, que serán clave en el desarrollo de la fibrosis, y que, junto con los procesos de inflamación conducirán a cirrosis (Lefkowitz, 2005; Osna et al., 2017).

2. Inflamación periférica y encefalopatía hepática.

La inflamación periférica es una de las características de la cirrosis. El desarrollo de esta inflamación se ha visto que se produce no solo por un mal funcionamiento hepático, sino que se correlaciona con un perfil alterado de la microbiota intestinal humana, donde los productos bacterianos se translocan desde la luz intestinal hasta la circulación sistémica (Arroyo et al., 2021; Bernardi et al., 2015).

Finalmente, la cirrosis puede conducir tanto a una inflamación periférica como a una inflamación hepática. Se ha visto como esto está ligado con cambios a nivel de sistema nervioso central. Las vías por las que se enlaza la inflamación hepática y/o sistémica con alteraciones cerebrales pueden ser resumidas en dos puntos (Azhari & Swain, 2018):

- Vía sistema nervioso periférico: El nervio vago aferente inerva el hígado. Este nervio presenta receptores de citoquinas proinflamatorias presentes en el hígado debido al daño. Como consecuencia de esta activación se llevan señales al cerebro que producen cambios en este. Los pacientes cirróticos pueden presentar alteraciones en el sistema nervioso periférico, por ejemplo en la percepción somatosensorial (Chaudhry et al., 1999; Rega et al., 2021).
- Vía humoral e inmunológica: La inflamación periférica presente en cirrosis hace que los niveles de citoquinas pro-inflamatorias circulantes, como la IL-6, aumenten (Montoliu et al., 2009). Además, también hace que el número de células inmunológicas circulantes activadas se eleve. Estas células y citoquinas pueden acceder al cerebro y producir una neuroinflamación que altere la función cerebral.

Junto a estos factores, la mala detoxificación a causa del mal funcionamiento hepático, sustancias tóxicas como el amoníaco, entran a la circulación sistémica pudiendo llegar al cerebro (Rega et al., 2021; Xu et al., 2019). Como consecuencia, puede tener lugar el desarrollo de la encefalopatía hepática (EH). Se ha visto que la incidencia de EH en pacientes cirróticos es del 30-45%, la cual puede aumentar durante la progresión de la enfermedad (Lu et al., 2020).

El aumento de los niveles de amonio puede conducir a un aumento de los factores inflamatorios en el cerebro que, junto con la inflamación que se produce en la cirrosis, puede conllevar a una neuroinflamación que dé lugar a alteraciones neurológicas características de la EH (Rodrigo et al., 2010). Sin embargo, el papel que juega el amonio en la neuroinflamación se ha visto que depende de la presencia de una inflamación periférica. El efecto sinérgico entre la hiperamonemia y la inflamación es particularmente importante en el desarrollo de EHM en pacientes cirróticos. Shawcross et al (2004) demostraron que la hiperamonemia produce un deterioro neurológico en presencia de un estado inflamatorio, pero no después de la resolución de este. Otra investigación que apoya esta idea es la de Montoliu et al, donde se vieron que los niveles periféricos de citoquinas inflamatorias como la IL-6 y la IL-18 pueden discriminar entre pacientes sin y con EHM (Montoliu et al., 2009). Los niveles de amonio pueden estar elevados tanto en pacientes con daño hepático, como con otras patologías, y no afectar las funciones cognitivas; sin embargo, en combinación con altos niveles de las interleuquinas IL-6 e IL-18, se produce deterioro cognitivo en pacientes con o sin daño hepático (Felipo et al., 2012b). La hiperamonemia y la inflamación periférica, aparte de dar lugar a una neuroinflamación por sí mismos, ayudan a la activación de la microglía que aumenta también la neuroinflamación (Figura 3). Todo esto en su conjunto inducirá el desarrollo de las disfunciones motoras y cognitivas características de la EHM (Montoliu et al., 2015).

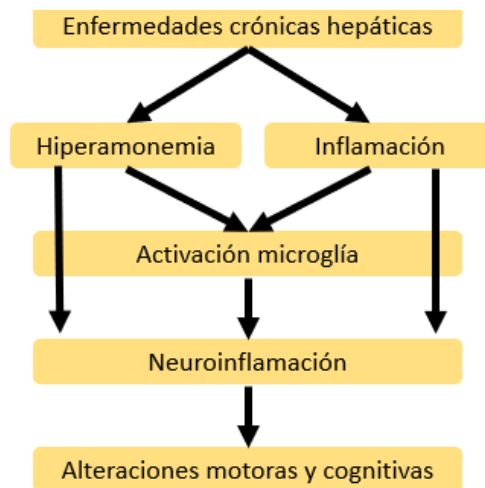


Figura 3: Relación entre las alteraciones motoras y cognitivas y las enfermedades hepáticas. Modificada de (Montoliu et al., 2015).

Clasificación encefalopatía hepática

La EH se puede subdividir en tres tipos según su origen, EH tipo A resultante de una insuficiencia hepática aguda. EH tipo B resultante de la derivación portosistémica o EH tipo C resultante de cirrosis (Butterworth, 2019). A su vez, la EH de tipo C puede subdividirse en dos grupos, encubierta o clínica dependiendo de la manifestación de los síntomas. La primera de ellas se caracteriza por presentar unas las alteraciones cognitivas y motoras que no son evidentes pero que pueden revelarse mediante pruebas psicométricas o neurofisiológicas. Por otro lado, la EH clínica se aplica cuando las alteraciones neurológicas son más evidentes, encontrándose en una fase descompensada de la enfermedad y, siendo completamente sintomática (Rega et al., 2021; Vilstrup et al., 2014).

Además de esta clasificación, la EH también puede ser clasificada en 4 grados según las manifestaciones clínicas mediante los criterios West Haven, cuyas características se muestran en la tabla 1. La EH clínica englobaría los grados II, III y IV, mientras que en la encubierta estaría el grado I y la encefalopatía hepática mínima (EHM). Este último término hace referencia a los pacientes con HE sin síntomas clínicamente evidentes pero que sí que presentan disfunción cerebral (Vilstrup et al., 2014; Weissenborn, 2019).

Manifestaciones clínicas

Como consecuencia de esta disfunción cerebral, los pacientes que la presentan tienen muchas posibilidades de experimentar un impacto en la calidad de vida relacionada con la salud (HRQOL) (Al-Hajje et al., 2015; Montagnese & Bajaj, 2019). En la manifestación más leve de la EH se pueden encontrar alteraciones relacionadas con la atención, la memoria, velocidad psicomotora y capacidad visuoespacial, así como medidas electrofisiológicas y otras medidas cerebrales funcionales. A medida que la EH progresa se pueden empezar a mostrar otros síntomas como cambios de personalidad, por ejemplo, apatía o irritabilidad, así como alteraciones de consciencia o en el ciclo de sueño (Aldridge et al., 2015; Montagnese & Bajaj, 2019; Rega et al., 2021; Vilstrup et al., 2014) .

Tabla 1: Clasificación de la encefalopatía hepática en pacientes cirróticos con los criterios West Haven. Modificada de Weissenborn, 2019

Grado	Subcategoría	Descripción	Criterios operativos sugeridos
Normal (0)		Sin encefalopatía hepática	Probado y demostrado ser normal
Mínima	Encubierta	Alteraciones psicométricas o neuropsicológicas de pruebas que exploran la velocidad psicomotora / funciones ejecutivas o alteraciones neurofisiológicas sin evidencia clínica de cambio mental	Resultados anormales de pruebas psicométricas o neuropsicológicas establecidas sin manifestaciones clínicas.
Grado I		<ul style="list-style-type: none"> Falta de conciencia Euforia o ansiedad Reducción de la capacidad de atención Deterioro de la capacidad de suma y resta 	A pesar de estar orientado en el tiempo y el espacio, el paciente parece tener cierto deterioro cognitivo / conductual con respecto a su estándar en el examen clínico.
Grado II	clínica	<ul style="list-style-type: none"> Letargo o apatía Desorientación por el tiempo Cambio de personalidad evidente Comportamiento inapropiado 	Desorientado en el tiempo (al menos tres de los siguientes son incorrectos: día del mes, día de la semana, mes, estación, año) +/- los otros síntomas mencionados.
Grado III		<ul style="list-style-type: none"> Desde somnolencia a semi-estupor Responde a estímulos Confundido Desorientación grave Comportamiento extraño 	Desorientado también en el espacio (al menos tres de los siguientes informados erróneamente: País, Estado, -o región- ciudad, lugar) +/- los otros síntomas mencionados.
Grado IV		Coma	No responde ni a los estímulos de dolor

Por ejemplo, se han demostrado alteraciones del sueño en pacientes cirróticos con EH, como insomnio o sueño fragmentado, o yendo al límite extremo, una somnolencia diurna excesiva (Montagnese & Bajaj, 2019). Así pues, se han visto también manifestaciones físicas como ralentización psicomotora o neuropsiquiátricas como asterixis, dispraxia o estupor, pudiéndose llegar incluso al coma. Dependiendo de los síntomas, que son evidentes, la EH será clasificada según los criterios West Haven (Tabla 1) (Aldridge et al., 2015; Luo et al., 2019; Xu et al., 2019).

Con respecto a las manifestaciones de la EHM, aunque sean menos evidentes pueden tener cierta repercusión. Los pacientes con EHM presentan deterioro cognitivo leve

caracterizado por déficit de atención, enlentecimiento psicomotor y alteración en funciones ejecutivas (Weissenborn, Ennen, et al., 2001; Weissenborn, Heidenreich, et al., 2001). Los pacientes que la presentan pueden encontrar dificultades para realizar tareas cotidianas como conducir (Bajaj et al., 2007; Felipo et al., 2013). También tienen un mayor riesgo de caídas, accidentes y hospitalización, lo que genera una mayor carga económica para los sistemas de atención sanitaria y social (Román et al., 2011; Urios et al., 2017).

Diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima

La detección temprana de la EHM es importante, ya que aproximadamente el 56% de los pacientes diagnosticados con ella avanzarán hacia una EH clínica, lo que les llevará a elevar más la posibilidad de otras complicaciones, así como la mortalidad (Luo et al., 2019; Xu et al., 2019). Actualmente, la batería de test psicométricos PHES (del inglés, *Psychometric Hepatic Encephalopathy Score*) es considerada como la principal herramienta para la detección de la EHM y, aunque es ampliamente usada, varios trabajos revelan un subconjunto de pacientes cirróticos que muestran déficits cognitivos y motores leves no detectados por el PHES (Butz et al., 2009; Felipo, Ordoño, et al., 2012; Felipo et al., 2014; Giménez-Garzó et al., 2017).

La Frecuencia crítica de parpadeo (CFF) se ha propuesto como un test alternativo al PHES para el diagnóstico de la EHM. La prueba de frecuencia de parpadeo crítico (CFF) es una herramienta psicofisiológica definida como la frecuencia a la que una luz (presentada desde 60 Hz hacia abajo) parece parpadear para el observador. La puntuación CFF se ha utilizado como una variable continua en varios estudios, que han demostrado buena sensibilidad en el diagnóstico la EH clínica y la EHM (Kircheis et al., 2002).

Se han utilizado un varias pruebas neurofisiológicas para caracterizar la disfunción cognitiva en la cirrosis que van desde el electroencefalograma simple (EEG) hasta potenciales evocados (PE) (Nabi & Bajaj, 2014; Vilstrup et al., 2014; Xu et al., 2019). Las ventajas de las pruebas neurofisiológicas son la ausencia de efectos de aprendizaje y la relativa especificidad de la respuesta. La necesidad de un equipo costoso y la baja sensibilidad son inconvenientes de estos métodos.

3. Potenciales evocados

Los potenciales evocados son un tipo de estudio neurofisiológico, los cuales se centran en el estudio de los sistemas nerviosos central y periférico mediante el registro de la actividad bioeléctrica o magnética, ya sea espontánea o estimulada (Amodio & Montagnese, 2015).

Existen tres tipos de potenciales evocados sensoriales, que son los visuales, auditivos y los somatosensoriales. En especial, los potenciales evocados visuales (PEV), también llamados

P100, son de gran interés en lo que respecta al diagnóstico de daño en el nervio óptico (Amodio & Gatta, 2005). Este daño ocular puede ocurrir a causa de la neuroinflamación, tal y como demostró Castoldi et al., en modelos animales de esclerosis múltiple. Los PEV se utilizaron por primera vez para detectar anomalías del sistema visual y de muchas enfermedades neurológicas con síntomas visuales (Castoldi et al., 2020).

Amodio & Gatta sugieren que la alteración de la latencia es consecuencia de alteraciones en el tiempo de transmisión, mientras que los cambios de amplitud reflejan la cantidad de neuronas activadas (Amodio & Gatta, 2005). Esta característica de los PEV podría ser de gran utilidad en el diagnóstico de la EH y la EHM, ya que como consecuencia de la neuroinflamación, el nervio óptico puede verse afectado (Cunningham, 2013).

Estudios recientes, como el de Castoldi et al (2020) han demostrado que, en los primeros estadios del daño del nervio óptico, el retraso de la latencia en el PEV está directamente relacionado con un estado inflamatorio que ocurre antes que puedan detectarse otras manifestaciones clínicas (Castoldi et al., 2020).

Zeneroli et al (1984) mostraron la utilidad de los potenciales visuales evocados para la diferenciación de los distintos grados de EH en pacientes cirróticos. Posteriormente, Zhang et al (2013) utilizaron una combinación de PEV y electroretinogramas, proponiéndolo como un método que permite predecir la EH y sugerían que podría utilizarse para diagnosticar la EHM (Zeneroli et al., 1984; Zhang et al., 2013).

HIPÓTESIS

En este estudio partimos de la hipótesis de que los pacientes cirróticos con EHM presentarán alteraciones en los potenciales visuales evocados, que podrían estar relacionados con los niveles de inflamación periférica y los niveles de amonio elevados de estos pacientes.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es evaluar la capacidad de los potenciales evocados visuales (PEV) para diagnosticar la encefalopatía hepática mínima en pacientes con cirrosis hepática, y relacionar las alteraciones en los PEV con la inflamación periférica en estos pacientes.

Los objetivos específicos de este estudio son:

- Caracterizar las alteraciones en los potenciales evocados visuales en pacientes cirróticos con y sin EHM, en comparación con un grupo de controles sanos.

- Estudiar la relación entre las alteraciones en PEV y las alteraciones neurológicas en los pacientes cirróticos evaluadas mediante test psicométricos específicos relacionados con atención, memoria y coordinación motora.

Estudiar la relación entre los niveles de amonio en sangre y de inflamación periférica (IL-6) y las alteraciones en los PEV en pacientes cirróticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Controles y pacientes

Para este estudio se reclutaron 66 pacientes con cirrosis hepática de las consultas externas de los hospitales Clínico y Arnau de Vilanova en Valencia, España. El diagnóstico de la cirrosis se basó en datos clínicos, bioquímicos y ecográficos. Los criterios de exclusión fueron: encefalopatía hepática clínica, una ingesta reciente de alcohol (<6 meses), infección, uso reciente de antibióticos o hemorragia gastrointestinal (<6 semanas), uso reciente de fármacos que afectan la función cognitiva (<6 semanas), presencia de carcinoma hepatocelular y trastornos neurológicos o psiquiátricos. Se incluyeron 20 controles sanos. Los criterios de exclusión para todos los grupos fueron el dolor agudo o crónico y cualquier signo de inflamación, lesión superficial ocular o ceguera para evitar interferencias con los resultados de la sensibilidad. Se estudió la correlación entre los pacientes con o sin diabetes y con o sin polineuropatía para ver si los resultados de las pruebas se veían influenciados por estas patologías y al no verse ninguna correlación se aceptaron en el estudio. Todos los participantes fueron incluidos después de firmar un consentimiento informado por escrito. Los protocolos de estudio se ajustaron a las directrices éticas de la Declaración de Helsinki y fueron aprobados por los Comités de Ética en Investigación de ambos hospitales.

Después de realizar la batería PHES, los pacientes fueron clasificados como con o sin EHM (ver más abajo) y fueron derivados a la Unidad de Neurofisiología del Hospital Clínico de Valencia, donde se les realizó la prueba de potenciales evocados visuales. Se midió la latencia, amplitud y morfología de la onda P100. Esta prueba se realizó dentro de la semana siguiente a la realización del PHES, con el fin de minimizar las posibles fluctuaciones cognitivas. La composición y características de los grupos se dan en la Tabla 2.

Tabla 2: Composición de los diferentes grupos y etiología de la enfermedad hepática.

	CONTROL	NEHM	EHM
NÚMERO DE SUJETOS	20	39	20
SEXO (MASCULINO/FEMENINO)	5/15	36/3	18/2
EDAD	65±1.6	61±1.3	64±1.8
ETIOLOGÍA CIRROSIS			
HVC/HVC+ALD	-	14/1	3/0
NAFLD/NAFLD+ALD	-	0/1	1/0
ALD	-	19	11
OTRAS	-	5	5
DIABETES (NO/SI)	20/0	27/12	10/10
POLINEUROPATIA (NO/SI) / (%)	17/3 (15/85)	22/17 (56/44)	10/10 (50/50)

Valores expresados como la media ± SEM. NEHM y EHM: pacientes sin y con encefalopatía hepática mínima, respectivamente; HVC: hepatitis viral C; NAFLD: enfermedad de hígado graso no alcohólica; ALD: enfermedad hepática alcohólica.

2. Evaluación neuropsicológica

Batería de test psicométricos PHES

La EHM fue diagnosticada mediante la batería de test psicométricos PHES (del inglés, *Psychometric Hepatic encephalopathy Score*) que se considera como el 'gold standard' para el diagnóstico de la EHM (Ferenci et al., 2002; Weissenborn, Ennen, et al., 2001). Los puntajes globales de PHES se calcularon con tablas de normalidad españolas (http://www.redeh.org/TEST_phes.htm), corregidas por edad y nivel educativo. Se definió a los pacientes con EHM con una puntuación igual o inferior a -4 puntos.

La batería del PHES se compone de 5 subtest:

- Test de dígitos y símbolos (DST): Examina la velocidad de procesamiento y la memoria de trabajo (Figura 4.A). Se le asigna a cada número una clave. Se le presenta al sujeto una plantilla en la que hay una serie de números y el sujeto en 90 segundos deberá de asignar el mayor número de claves a sus correspondientes números.
- Test de conexión numérica A (NCT-A): Examina la velocidad de procesamiento y la atención (Figura 4.B). Se medirá el tiempo en el que el sujeto une en orden ascendente los números presentados en una plantilla (1-25). Estos números se encontrarán de manera desordenada en la hoja.
- Test de conexión numérica B (NCT-B): Examina la velocidad de procesamiento y la atención (Figura 4.C). En este caso aparte de ordenar los números de manera ascendente el sujeto deberá ordenar también las letras alfabéticas en orden ascendente también. Ejemplo: 1-A; 2-B; 3-C; 4-D... 13-M. Se medirá el tiempo que tarda en completar las conexiones.
- Test de puntos seriados (SD): Examina la coordinación visuoespacial (Figura 4.D). Consiste en una lámina compuesta por 10 filas de 10 círculos cada una. El sujeto deberá realizar puntos en el centro de los círculos de toda la lámina. Se medirá el tiempo que tarda en realizarlo completamente.

- Test de la línea quebrada (LTT): Examina la coordinación visuoespacial (Figura 4.E).El paciente deberá dibujar una línea siguiendo el recorrido establecido en una lámina. No podrá levantar el lápiz ni salirse de la línea. Se mide el tiempo y se penaliza si ha levantado el lápiz o si se ha salido del recorrido.

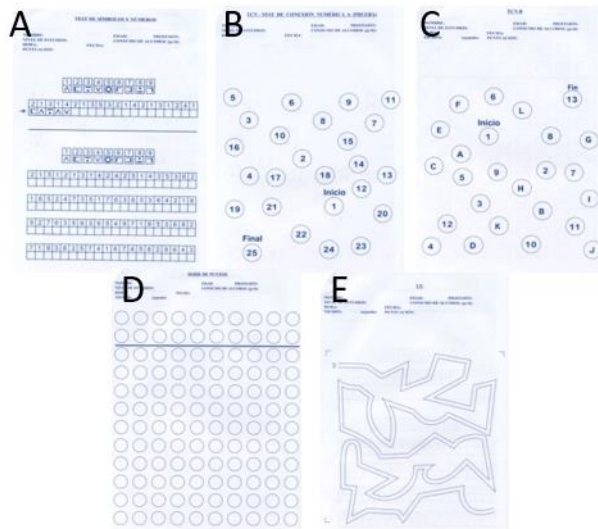


Figura 4: Batería pruebas PHES. (A-E). (A): Test de dígitos y símbolos (DST). (B): Test de conexión numérica A (NCT-A). (C):Test de conexión numérica B (NCT-B). (D): Test de puntos seriados (SD). (E): Test de la línea quebrada (LTT).

Otras pruebas psicométricas

Se realizaron otras pruebas psicométricas y motoras, que evalúan alteraciones cognitivas específicas:

- Stroop (tareas congruente, neutra e incongruente): Evalúa la atención selectiva y sostenida y flexibilidad cognitiva;
- Frecuencia crítica de parpadeo (FCP): Evaluación de la atención sostenida y deterioro cognitivo;
- d2: Evalúa la atención selectiva y sostenida, así como la concentración mental;
- Pruebas de coordinación bimanual y visomotora: Evalúa la coordinación motora y visomotora;
- Prueba oral de claves: Evalúa velocidad de procesamiento mental;
- Prueba oral de dígitos: Evaluación de la memoria inmediata y de trabajo;
- Secuenciación de letras y números: Evalúa la memoria de trabajo con mayor profundidad que el intervalo de dígitos.

Estas pruebas se realizaron como se describe en Giménez-Garzó et al. el mismo día que el PHES (Giménez-Garzó et al., 2017). Los pasos para la realización de estas pruebas se muestran con más detalle en el Anexo I.

3. Pruebas bioquímicas

Obtención de muestras

El mismo día que se citó a los pacientes para realizar las pruebas neuropsicológicas se obtuvieron muestras de sangre en tubos BD Vacutainer con agar. Posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente para obtener suero. Finalmente, se procedió a la recogida de 10 alícuotas de 110µL y lo sobrante se almacenó en alícuotas de 500 µL para poder ser usado en varios estudios. Las muestras de suero se almacenaron a -80°C.

Determinación de amonio en sangre

La concentración de amonio en sangre se midió mediante el equipo de lectura de amonio (PocketChem BA) y un kit (Ammonia Test Kit II). La medida del amonio se basa en la micro- difusión. El kit presenta unas tiras en las que se aplican 20 µL de sangre.

La capa receptora de la tira presenta un agente amortiguador de pH que, al ponerse en contacto con la tira, se disuelve haciendo alcalina la muestra. Los iones amonio (NH_4^+) pasaran a amonio gas (NH_3). Este gas tiene la capacidad de atravesar los poros de la membrana distanciadora hasta llegar a la capa indicadora (verde de bromocresol), produciendo color. El nivel de coloración será proporcional a la concentración de amonio gas producido, es decir, se determinará cuantitativamente la cantidad de amonio en la muestra a través el color en la tira.

Una vez se aplican los 20 µL de sangre recién extraída en una tira, se deja reaccionar durante 180 segundos, tras los cuales se elimina la membrana distanciadora de la tira. Se colocará posteriormente la tira en la unidad óptica del dispositivo con la muestra situada hacia abajo. Los resultados obtenidos son del orden de µmol/L. Los niveles esperados en adultos sanos son menores de 54 µmol/L.

Determinación de interleuquina 6 en suero

La cuantificación de la interleuquina 6 (IL-6) se llevó a cabo mediante un ensayo ELISA (R&D SYSTEMS, Quantikine HS ELISA). El kit presenta un límite de detección de 0.007-0.090 pg/mL. Para la realización del test se usan 100µL de suero.

El kit cuenta con placas de 96 pocillos, los cuales han sido pre-cubiertas con un anticuerpo monoclonal específico para la IL-6. El primer paso consiste en la adición de 100 µL

del tampón de dilución a cada pocillo. Tras esto se adicionó en una de las filas la curva estándar (proporcionado por el kit) haciendo las diluciones recomendadas (concentraciones finales: 0.156; 0.313; 0.625; 1.25; 2.5; 5-10 pg/mL) y en las demás filas 100 µL de las muestras de suero de controles y pacientes. A continuación, se incubó 2 horas a temperatura ambiente. Tras esta incubación se realizan 4 lavados con 400 µL del tampón de lavado proporcionado por el kit. Se añade 200 µL del anticuerpo de detección biotinilado de IL-6 HS humana a cada pocillo y se deja incubando otra hora. Posteriormente se realizan 4 lavados con el tampón de lavado. Se añade 200 µL de la solución de streptavidina, la cual va marcada con peroxidasa de rábano (HPR) y se incubó de nuevo durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se vuelven a realizar 4 lavados y se añaden 200µL de la solución de sustrato proporcionada en el kit, dejando 30 minutos de incubación y evitando su exposición a la luz. Tras estos pasos, se añaden 50 µL de la solución llamada "Stop solution" que hará que el color de los pocillos varíe de azul a amarillo y se mide la absorbancia a 450 nm.

Los resultados se obtienen interpolando la absorbancia obtenida en las muestras en la curva patrón de los estándares que nos indica la concentración de interleuquina presente (pg/mL), en función de la absorbancia leída.

4. Potenciales evocados visuales

El registro de los potenciales evocados visuales se realizó con un equipo Nihon Kohden, modelo MEB-9200K. Se colocaron electrodos de superficie de tipo cazoleta con pasta conductora, con registro en área occipital y referencia frontal (electrodos Oz y Fz respectivamente, según sistema de referencia internacional 10:20). Las impedancias siempre fueron menores a 5kohms. Los PEV se registraron con una inversión del patrón de tablero de ajedrez en blanco y negro de campo completo (Figura 5). El patrón se moduló a dos inversiones por segundo y se utilizó visualización monocular.

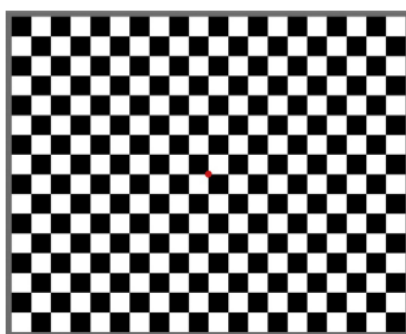


Figura 5: Tablero de ajedrez en blanco y negro

Se midieron los valores de latencia de la onda P100 y amplitud N75-P100 de ambos ojos por separado y se procedió a su análisis en los diferentes grupos de estudio.

La respuesta a este estímulo se caracteriza por un componente negativo inicial que alcanza un máximo de alrededor de 75 ms después de la inversión (N75) seguido de un componente positivo en alrededor de 100 ms (P100) y una segunda negatividad en alrededor de 145 ms (Figura 6) (Di Russo et al., 2005).

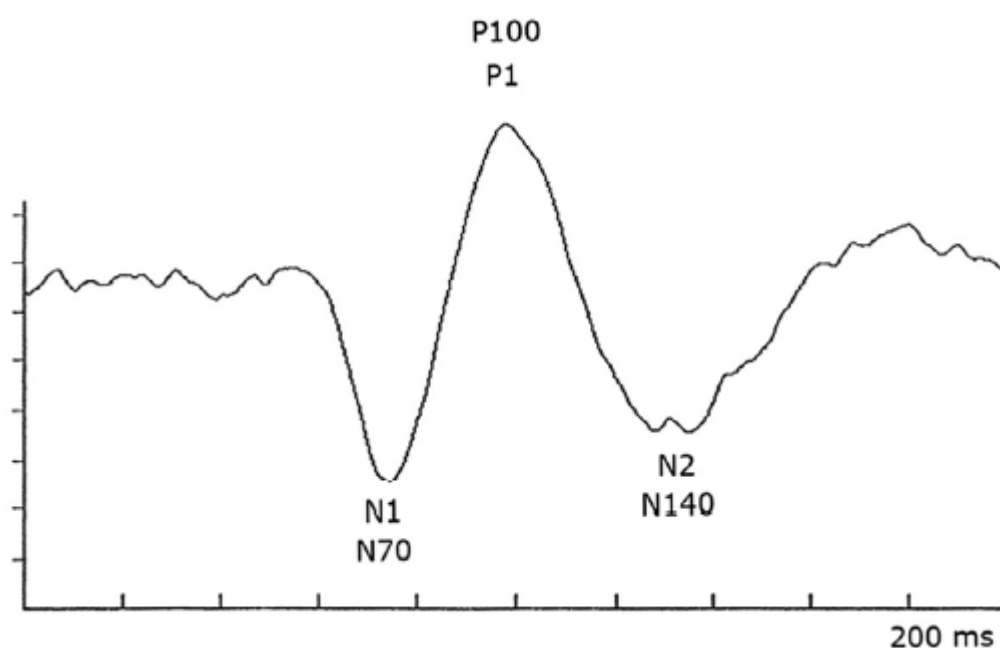


Figura 6: Resultado de VEP (Creel, 2019)

5. Análisis estadísticos

Se estimaron si las variables seguían una distribución normal mediante un análisis de D'Agostino & Pearson. Las diferencias entre los tres grupos (control, NEHM y EHM) se analizaron con un análisis ANOVA de una vía seguidos de un análisis de comparación múltiple Tukey para las comparaciones entre grupos (control vs. NEHM; control vs. EHM; NEHM vs. EHM). En el caso de que no se siguiese una distribución normal los datos se analizaron mediante análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de un análisis Dunn para las comparaciones entre los grupos. El estudio de los valores cualitativos se hizo mediante tablas de contingencia y su posterior análisis por χ^2 . Estas pruebas se realizaron con el programa GraphPad PRISM Versión 8.

Dado que las puntuaciones de las pruebas de coordinación (bimanual y visomotora), test oral de dígitos y de claves, así como el test de letras y números se correlacionaban con la edad, la comparación entre grupos de estos test se realizó mediante un análisis de covarianza (ANCOVA) en el que se incluyó la edad como covariable, seguido de un test Bonferroni entre grupos. Se realizaron correlaciones de Pearson para ver las relaciones entre las variables de las distintas pruebas psicométricas, los PEV y las variables bioquímicas. Estos análisis se realizaron utilizando el software SPSS, versión 20 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE. UU.) Se consideraron significativos los valores de $p < 0.05$.

RESULTADOS

1. Evaluación neuropsicológica.

Los pacientes fueron clasificados según la prueba PHES en pacientes con EHM o sin EHM (Tabla 3).

Se realizaron otras pruebas para evaluar alteraciones neurológicas específicas, como la atención sostenida y selectiva, concentración y procesamiento mental, la memoria inmediata o la flexibilidad cognitiva. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Resultados pruebas neuropsicológicas.

	Controles	Pacientes NEHM <i>p</i> vs. Control	Pacientes EHM <i>p</i> vs. Control	Pacientes EHM <i>P</i> vs. NEHM	ANOVA global Valores <i>p</i>
PHES	0±0.2	-0.72±0.2	7.83±0.72***	<0.0001	<0.0001
Stroop†					
Congruente (P)	49±2.1	43±1.7	35±2***	0.005	<0.0001
Neutra (C)	49±1.9	42.39±1.3*	33±1.6***	<0.0001	<0.0001
Incongruente (PC)	51±2	42±1.5**	34±1.8***	0.015	<0.0001
Interferencia (INT)	52±1.4	47±1.2	47±1.6	0.941	0.102
Frecuencia crítica al parpadeo (FCP)	48±1.7	45±1	42±1.4**	0.244	0.011
Coordinación bimanual	2.2±0.1	2.3±0.1	3.8±0.5***	<0.0001	<0.0001
Coordinación visomotora	2.8±0.1	2.8±0.1	3.9±0.2***	<0.0001	<0.0001
d2					
Valores TR	378±19	323±11*	263±16***	0.009	<0.0001
Valores TA	143±7	118±5*	94±8***	0.033	0.0003
Valores TOT	367±16	295±12**	236±17***	0.012	<0.0001
Valores CON	146±7	115±6*	84±10***	0.014	<0.0001
Prueba oral de claves (valores aciertos)	44±2	39±1.4*	24±2.5***	<0.0001	<0.0001
Prueba oral de dígitos (valores totales)	14±0.7	12±0.5**	11±0.6***	0.869	<0.0001
Prueba de secuenciación de números y letras	8.8±0.6	7±0.5**	4.5±0.7***	0.031	<0.0001

Los valores son expresados como la media ± SEM. Las diferencias entre los grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y análisis de comparación múltiple Tukey. Para las pruebas de coordinación y las pruebas orales de claves y de dígitos, así como la secuenciación de números y letras, se realizó un análisis univariante de covarianza (ANCOVA), con la edad incluida como covariable, seguido de un análisis Bonferroni. Las puntuaciones usadas en el Stroop fueron los percentiles. Las diferencias significativas en comparación con los controles se indican mediante asteriscos: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. EHM y NEHM: pacientes con y sin encefalopatía hepática mínima, respectivamente; PHES: Puntuación psicométrica de encefalopatía hepática. †Stroop: Valores de puntuación transformados.

En la prueba d2 y en algunas de las puntuaciones del Stroop (neutra e incongruente), se vio la existencia de diferencias significativas en la comparación de los tres grupos: control

vs. NEHM; control vs. EHM; NEHM vs. EHM. Sin embargo, se ve como estas diferencias son mucho más grandes entre el grupo EHM y los controles. Estas pruebas evalúan la atención selectiva y sostenida.

También se vio este resultado en la prueba oral de dígitos que evalúa la memoria inmediata y de trabajo. No se vio diferencias significativas entre los pacientes NEHM y los EHM.

Por otro lado, las pruebas como el PHES y la prueba oral de claves no muestran diferencias significativas entre los controles y los pacientes NEHM, pero sí que la muestran entre controles y pacientes EHM. También se vieron diferencias significativas entre pacientes EHM y NEHM. La prueba oral de claves evalúa la memoria inmediata y de trabajo.

2. Evaluación de los Potenciales evocados visuales.

Con esta prueba se midió la latencia, morfología y amplitud de la onda P100 en los tres grupos (pacientes, NEHM y EHM) y para ambos ojos. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Comparación latencia y amplitud de la onda P100 entre los diferentes grupos.

	Controles	Pacientes NEHM <i>p vs. Control</i>	Pacientes EHM <i>p vs. Control</i>	Pacientes EHM <i>P vs. NEHM</i>	ANOVA global Valores <i>p</i>
Latencia ojo derecho	110±1.4	115±1.3*	115±2*	0.993	0.042
Latencia ojo izquierdo	110.2±1.4	115±1.3*	116±1.7*	0.899	0.041
Amplitud ojo derecho	9±0.9	6.9±0.4*	6.8±0.7 (<i>p</i> =0.07)	0.992	0.044
Amplitud ojo izquierdo	8.8±0.9	7±0.5	6.5±0.7 (<i>p</i> =0.08)	0.764	0.086

Los valores son expresados como la media ± SEM. Los resultados se analizaron mediante análisis ANOVA de una vía y análisis de comparación múltiple Tukey. Para el análisis de la morfología, al ser caracteres cualitativos, se realizó un análisis de contingencia de Chi-cuadrado. Las diferencias significativas en comparación con los controles se indican mediante asteriscos: * *p*<0.05; ** *p*<0.01; *** *p*<0.001. EHM y NEHM: pacientes con y sin encefalopatía hepática mínima, respectivamente.

Los resultados de las latencias muestran diferencias significativas entre los grupos control y NEHM por un lado y, por otro lado, también entre los grupos control y EHM (Tabla 4 y Figura 7A). Estas diferencias se vieron en ambos ojos. Las diferencias en las latencias en los dos ojos entre los grupos NEHM y EHM no fueron significativas en ninguno de los casos. En la representación gráfica (Figura 7A) de los datos se puede ver como los pacientes cirróticos, ya

sean con o sin EHM, presentan una latencia mayor de la onda P100, con respecto a los controles.

En cuanto a la amplitud, únicamente se vieron diferencias significativas entre los pacientes NEHM y el grupo control en el ojo derecho (Tabla 4 y Figura 7B). Sin embargo, al comparar los valores de amplitud de P100 del grupo NEHM vs. control en el ojo izquierdo, los valores tendían a ser significativos, con valores p muy aproximados a 0.05 (valor $p \approx 0.07$). Este resultado también se vio en la comparación entre el grupo control vs. EHM en el ojo derecho, aunque con un valor p un poco más alejado de 0.05 (valor $P = 0.08$). En el caso del ojo izquierdo no había diferencias significativas entre el grupo control vs. EHM. Cuando se compararon las amplitudes de la onda P100 de los grupos NEHM y EHM en ambos ojos no se encontraron diferencias significativas. Se puede ver en la Figura 7B que, a pesar de que el análisis estadístico no haya mostrado diferencias significativas, que la tendencia es que los pacientes cirróticos, independientemente de si presentan o no EHM, tienden a presentar una amplitud más baja (Figura 7B).

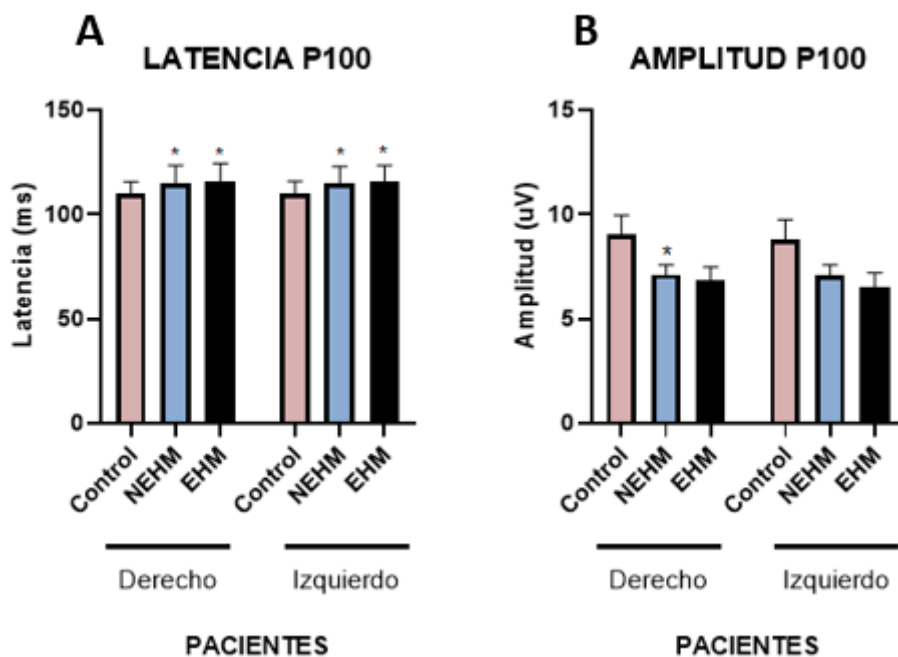


Figura 7: Latencias y amplitudes de la onda P100 entre pacientes con o sin EHM y controles. (A): Latencia de la onda P100 en el ojo derecho e izquierdo, medida en milisegundos (ms). (B): Amplitud de la onda P100 en el ojo derecho e izquierdo, medida en microvoltios (μV). Los resultados son expresados como la media \pm SEM. Las diferencias significativas en comparación con los controles se indican mediante asteriscos: * $p < 0.05$. EHM y NEHM: pacientes con y sin encefalopatía hepática mínima, respectivamente.

Con respecto a la morfología de la onda P100, se dividió según si presentaba una morfología normal o anormal. Los resultados se incluyen en la siguiente tabla (Tabla 5 y Figura 8). En todos los controles y pacientes las morfologías de las ondas P100 fueron igual para los dos ojos, por lo que no se hace distinción entre cada uno. El análisis que se hizo en este estudio fue un análisis de Chi-cuadrado (X^2) debido a la naturaleza cualitativa de esta variable.

Tabla 5: Comparación morfología de la onda P100 entre los diferentes grupos.

Morfología	Controles	Pacientes NEHM	Pacientes EHM	X^2 global Valores p
Normal	19	33	16	
Anormal	0	6	4	
Anormal bilobulada	0	4	0	
Anormal ancha	0	2	4	
Normal/Anormal ^a		ns	ns	0.139
Normal/Bilobulada/Ancha ^b		ns	0.039*	0.0366

Valores expresados como número de individuos. Las diferencias entre los grupos se obtuvieron realizando un análisis de Chi-cuadrado (X^2) entre los grupos controles y pacientes con o sin EHM. Se dividieron las morfologías en dos grupos, normal y anormal. La anormal fue la suma de las morfologías bilobulada y ancha. Las diferencias significativas en comparación con los controles se indican mediante asteriscos: * $p < 0.05$. EHM y NEHM: pacientes con y sin encefalopatía hepática mínima, respectivamente.
^acomparación de los tres grupos entre morfología normal y anormal.
^bcomparación de los tres grupos entre morfología normal y desglosando morfología anormal en bilobulada y ancha.

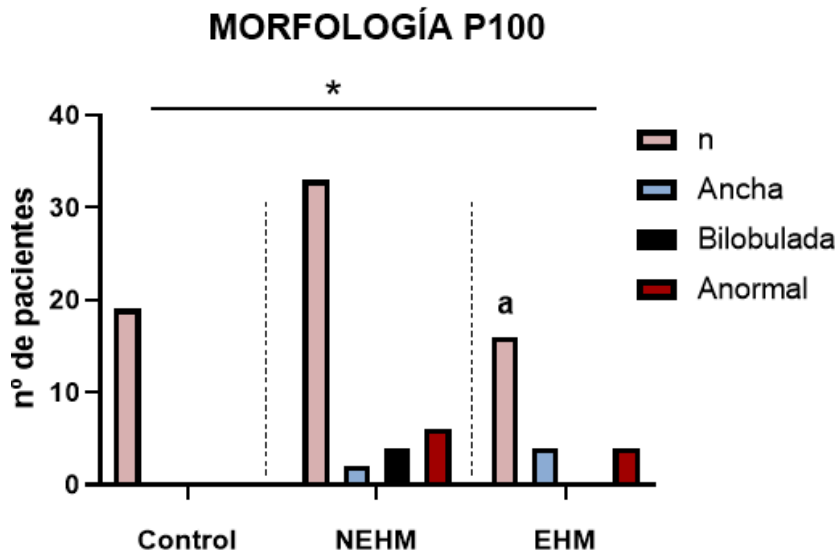


Figura 8: Representación gráfica de la distribución de las diferentes morfologías de la onda P100 de los PEV en los tres grupos de estudio. Las diferencias significativas en la morfología se indica con asteriscos: * $p < 0.05$. las diferencias significativas con respecto al control se indican con a $p < 0.05$. n, normal; NEHM, EHM, pacientes sin o con encefalopatía hepática mínima, respectivamente.

La comparación entre morfología normal y anormal de los tres grupos no llegó a dar significativa (Tabla 5). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos ($p=0.0366$) cuando los valores anormales de la morfología se desglosaban en bilobulada y ancha (Tabla 5, Figura 8). Además, el grupo de pacientes con EHM presentaban un patrón de distribución de la morfología de la onda P100 significativamente diferente del de los controles ($p=0.039$) (Tabla 5, Figura 8).

Correlaciones entre las pruebas neuropsicológicas y los PEV.

Se estudió las correlaciones entre las diferentes pruebas neuropsicológicas y los potenciales evocados visuales, cuyos resultados se muestran en la siguiente tabla (Tabla 6).

Tabla 6: Correlaciones parámetros PEV con las pruebas neuropsicométricas

Parámetros PEV		PHES		Stroop				FCP	Coordinación		d2		Claves	Dígitos	Números y letras
		P	C	PC	INT		Bimanual	Visomotora	TOT	CON					
Latencia (ms)	Ojo derecho	-0.001 (0.992)	-0.092 (0.438)	-0.177 (0.131)	-0.127 (0.290)	-0.037 (0.757)	0.003 (0.982)	-0.053 (0.655)	-0.078 (0.515)	-0.104 (0.403)	-0.146 (0.247)	0.026 (0.832)	0.029 (0.811)	0.038 (0.761)	
	Ojo izquierdo	0.012 (0.919)	-0.093 (0.436)	-0.184 (0.123)	-0.084 (0.493)	0.040 (0.743)	0.074 (0.565)	-0.089 (0.461)	-0.055 (0.650)	-0.090 (0.475)	-0.109 (0.397)	-0.063 (0.609)	-0.004 (0.977)	0.014 (0.912)	
Amplitud (µV)	Ojo derecho	0.074 (0.523)	0.153 (0.194)	0.111 (0.346)	0.167 (0.164)	0.089 (0.457)	-0.129 (0.305)	-0.079 (0.506)	-0.092 (0.442)	0.136 (0.274)	0.194 (0.122)	0.128 (0.286)	0.111 (0.366)	0.155 (0.213)	
	Ojo izquierdo	0.047 (0.686)	0.137 (0.249)	0.084 (0.482)	0.118 (0.336)	0.060 (0.624)	-0.085 (0.507)	-0.71 (0.554)	-0.083 (0.497)	0.084 (0.504)	0.159 (0.213)	0.126 (0.301)	0.044 (0.721)	0.069 (0.586)	

Se muestran los valores r del análisis de correlación de Pearson y los valores p entre paréntesis. Los valores para la prueba de Stroop son los datos en bruto para las tareas congruente (P), Neutra (C), incongruente (PC) e interferencia (INT). Para la prueba d2 se hicieron correlaciones con los percentiles: Valor total menos los errores (TOT); puntuación de concentración (CON). La existencia de una correlación significativa se indica mediante asteriscos: * $p < 0.05$. PEV: Potencial evocado visual; ms: milisegundos; µV: microvoltios; FCP: Frecuencia crítica de parpadeo; PHES: Puntuación psicométrica de encefalopatía hepática

No se vieron diferencias significativas entre las correlaciones de ninguno de los test y los parámetros de latencia y amplitud de la onda P100 de ambos ojos.

3. Análisis parámetros bioquímicos

Se midieron los niveles de amonio e IL-6 y se comparó si existían diferencias significativas entre los diferentes grupos. Los resultados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7: Estudio parámetros bioquímicos

	Controles	Pacientes NEHM <i>p vs. Control</i>	Pacientes EHM <i>p vs. Control</i>	Pacientes EHM <i>P vs. NEHM</i>	ANOVA global Valores <i>p</i>
IL-6 (pg/ml)	0.9±0.1	2±0.2***	3.1±0.3***	0.006	<0.0001
Amonio (μmol)	11±0.8	29.1±5.1*	39.7±7.1**	0.181	0.0049

Los valores son expresados como la media ± SEM. Las diferencias entre los grupos se obtuvieron realizando un análisis Kruskal-Wallis junto con un análisis de comparación múltiple Dunn. Las diferencias significativas en comparación con los controles se indican mediante asteriscos: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. EHM y NEHM: pacientes con y sin encefalopatía hepática mínima, respectivamente.

En la IL-6 se veía una gran diferencia significativa entre todos los grupos, presentando siempre valores p por debajo de 0.01. También se vieron diferencias significativas entre pacientes EHM y controles, y entre pacientes EHM y NEHM. Con respecto al amonio, presentó diferencias significativas entre los grupos NEHM vs. control y EHM vs. control únicamente, y de manera no tan significativa como en el caso de la IL-6. Los niveles de amonio en sangre entre pacientes NEHM y EHM no eran significativamente diferentes (Tabla 7).

4. Estudio de la relación entre los parámetros bioquímicos y los PEV

Se estudió la correlación entre los parámetros bioquímicos y los parámetros de los potenciales evocados visuales y se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Correlación parámetros PEV y bioquímicos

Parámetros PEV		IL-6	Amonio
Latencia	Ojo derecho	0.268 (0.019)*	0.192 (0.101)
	Ojo izquierdo	0.0169 (0.149)	0.277 (0.019)*
Amplitud	Ojo derecho	-0.264 (0.021)*	-0.175 (0.136)
	Ojo izquierdo	-0.238 (0.041)*	-0.148 (0.214)

Se muestran los valores r del análisis de correlación de Pearson y entre paréntesis el valor p . Las diferencias significativas en comparación con los controles se indican mediante asteriscos: * $p < 0.05$.

Se encontraron correlaciones significativas entre la latencia del ojo derecho y los niveles de la interleuquina proinflamatoria IL-6 en suero. También entre la latencia del ojo izquierdo y el amonio. Finalmente, amplitud de los PEV en ambos ojos se correlacionaba significativamente con los niveles de la IL-6 (Tabla 8).

5. Estudio de la relación entre los parámetros bioquímicos

Se estudió la relación entre los niveles de amonio y de la interleuquina proinflamatoria IL-6. Los niveles de amonio en sangre se correlacionaban significativamente con los niveles de IL6 en suero ($r=0.281$; $p=0.013$).

DISCUSIÓN

El principal hallazgo de este trabajo consiste en que los pacientes cirróticos sin y con EHM presentan un retraso significativo en la latencia de los potenciales evocados visuales y una tendencia a la disminución en la amplitud, con respecto a los controles sanos. Estas alteraciones en los PEV se correlacionan con los niveles de amonio y de inflamación (medida mediante los niveles de IL 6 en suero). Sin embargo, la medida de PEV no llega a discriminar entre pacientes sin y con EHM, por lo que no se podría utilizar como test de diagnóstico para la EHM.

Como se ha mencionado anteriormente, un retraso en la latencia se encuentra relacionado con una alteración en el tiempo de transmisión de las neuronas, mientras que la amplitud representa el número de neuronas activadas (Amodio & Gatta, 2005). La diferencia entre los pacientes cirróticos y controles en la latencia de la onda P100 podría indicarnos por lo tanto que los pacientes cirróticos presentan una alteración en la conexión entre las neuronas. Por el contrario, se podría deducir que el número de neuronas que se activan no se ve alterado, pues la amplitud no presenta apenas diferencias significativas, únicamente entre pacientes sin EHM y controles en ojo derecho. Estos resultados están en línea con estudios anteriores (Kügler et al, 1994) en los que mostraron latencias prolongadas en pacientes cirróticos, pero no encontraron diferencias entre pacientes sin y con EHM. Estos autores midieron también los potenciales evocados visuales P300, y llegaron a la conclusión de que en la etapa subclínica de la EH la atención visual permanece relativamente intacta, con ligeras alteraciones en la dinámica de la atención visual.

Por otro lado, se muestran también diferencias significativas entre controles y pacientes cirróticos en la morfología de la onda P100. Según estudios como el de Marra et al (1990), una morfología anormal podría compararse con un retraso en la latencia en pacientes con EH, siendo esta una característica de pacientes cirróticos que presentan EH (Marra et al, 1990).

Con respecto a la correlación del PEV con el PHES, no se encontró ninguna correlación significativa entre los parámetros del PEV y la puntuación del PHES. Este resultado era de esperar, dado que no hay diferencias significativas entre pacientes sin y con EHM en ninguno de los parámetros del PEV.

Tampoco se encontraron correlaciones significativas de los parámetros del PEV con ninguna de las otras pruebas usadas para la caracterización del deterioro cognitivo en pacientes cirróticos. Estos test se basan principalmente en evaluar la atención (Stroop, FCP,

d2), la coordinación (coordinación bimanual y visomotora) y la memoria y el procesamiento mental (prueba oral de dígitos, claves y secuenciación de letras y números). El que los PEV no correlacionen con ellos podrían indicar que las alteraciones en los PEV no se deben a que el paciente presente alteradas estas características.

Los pacientes con EHM sufren algunas alteraciones neurológicas (e.g. déficits de atención y alteraciones de la coordinación bimanual y visuo-motora) antes de que la EHM se pueda detectar con la batería de test psicométricos PHES (Giménez-Garzó et al 2017). Estos autores analizaron distintas funciones neurológicas en sujetos control, pacientes cirróticos sin EHM y pacientes cirróticos con EHM. La presencia o no de EHM se evaluó de acuerdo con los resultados de los test psicométricos de la batería PHES. Comprobaron que pacientes cirróticos que son capaces de realizar correctamente los test de la batería PHES, y por tanto se clasifican como sin EHM, sin embargo, presentan déficits en la realización de test de atención y coordinación bimanual y visuo-motora (Felipo et al. 2012a; Giménez-Garzó et al 2017). Los resultados de este estudio concuerdan con estos resultados, pues los pacientes sin EHM presentan valores significativamente alterados con respecto a controles en los test que evalúan la atención (Stroop y d2), velocidad de procesamiento mental (Prueba oral de claves) y memoria de trabajo (pruebas orales de Dígitos y secuenciación de números y letras).

En este estudio encontramos que los pacientes sin EHM presentan alteraciones en la latencia y la amplitud de la onda P100 con respecto a los controles. Esto podría significar que los PEV podrían servir para la detección de alteraciones en el sistema nervioso central antes de que se llegue a producir un deterioro cognitivo.

En el estudio de la inflamación periférica, se vieron diferencias significativas en los niveles de amonio y de IL-6 entre controles y pacientes cirróticos, tal y como se esperaba según estudios anteriores (Montoliu et al 2009). Además, en este trabajo encontramos también diferencias significativas en el caso de la IL-6 entre los grupos EHM y NEHM, lo que indica que los niveles de esta interleuquina podrían ser usados como herramienta para distinguir entre pacientes NEHM y EHM. En el amonio se vieron diferencias significativas entre los controles y pacientes cirróticos. Esto concuerda con varios estudios donde se hace referencia a la necesidad de presentar tanto una inflamación periférica como unos niveles elevados de amonio para llegar a desarrollar un deterioro neurológico (Felipo, et al., 2012a; Montoliu et al., 2009; Shawcross et al., 2004). La correlación positiva existente entre la IL-6 y el amonio (Tabla 9) apoya también la idea de que son dos parámetros

íntimamente relacionados, actuando de forma sinérgica en la inducción de la EHM en pacientes cirróticos.

También se estudió la existencia de correlaciones entre los PEV y los niveles de IL-6 y amonio en sangre. Se encontraron correlaciones entre la latencia del ojo derecho y la IL-6, entre la latencia del ojo izquierdo y el amonio y entre la amplitud del ojo derecho e izquierdo y la IL-6 (Tabla 8). Esto podría indicar que las alteraciones producidas en los parámetros del PEV están relacionadas con un estado inflamatorio, tal y como mostró Castoldi et al (2020) en sus estudios. Este autor demostró que las alteraciones en la latencia, más concretamente, aumentos en ella, están relacionados con una inflamación del nervio óptico (Castoldi et al., 2020).

CONCLUSIÓN

Los pacientes cirróticos sin y con EHM presentan un retraso significativo en la latencia de los potenciales evocados visuales y una tendencia a la disminución en la amplitud, con respecto a los controles sanos. Estas alteraciones en los PEV se correlacionan con los niveles de amonio y de inflamación (medida mediante los niveles de IL 6 en suero), que indicaría que el deterioro del nervio óptico en pacientes cirróticos se debe a un estado inflamatorio. Este estado inflamatorio provocaría alteraciones en los PEV que pueden ser detectadas antes que las alteraciones cognitivas.

Sin embargo, la medida de PEV no llega a discriminar entre pacientes sin y con EHM, por lo que no se podría utilizar como test de diagnóstico para la EHM. Además, los parámetros de los PEV no se ven influenciados por la atención, la coordinación, la memoria y el procesamiento mental.

La detección temprana de este estadio de la encefalopatía hepática es muy importante para evitar que progrese a unos estadios más avanzados. Es por esto por lo que el seguir estudiando nuevos métodos de detectar la EHM es clave en el caso de la cirrosis, una enfermedad donde se ha visto que una gran cantidad de pacientes acaban desarrollando encefalopatía hepática.

BIBLIOGRAFÍA

Al-Hajje, A., Awada, S., Rachidi, S., Zein, S., Bawab, W., El-Hajj, Z., Bou Zeid, M., Yassine, M., & Salameh, P. (2015). Factores que afectan a la adherencia a la medicación en pacientes libaneses con enfermedades crónicas. *Pharmacy Practice*, 13(3), 590. <https://doi.org/10.18549/PharmPract.2015.03.590>

Aldridge, D. R., Tranah, E. J., & Shawcross, D. L. (2015). Pathogenesis of hepatic encephalopathy: Role of ammonia and systemic inflammation. In *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* (Vol. 5, Issue S1, pp. S7–S20). <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.06.004>

Amodio, P., & Gatta, A. (2005). Neurophysiological Investigation of Hepatic Encephalopathy. *Metabolic Brain Disease*, 20(4). <https://doi.org/10.1007/s11011-005-7921-5>

Amodio, P., & Montagnese, S. (2015). Clinical neurophysiology of hepatic encephalopathy. In *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* (Vol. 5, Issue S1, pp. S60–S68). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.06.007>

Argo, C. K., & Caldwell, S. H. (2009). Epidemiology and Natural History of Non-Alcoholic Steatohepatitis. In *Clinics in Liver Disease* (Vol. 13, Issue 4, pp. 511–531). <https://doi.org/10.1016/j.cld.2009.07.005>

Arroyo, V., Angeli, P., Moreau, R., Jalan, R., Clària, J., Trebicka, J., Fernández, J., Gustot, T., Caraceni, P., & Bernardi, M. (2021). The systemic inflammation hypothesis: Towards a new paradigm of acute decompensation and multiorgan failure in cirrhosis. In *Journal of Hepatology* (Vol. 74, Issue 3, pp. 670–685). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.11.048>

Asrani, S. K., Devarbhavi, H., Eaton, J., & Kamath, P. S. (2019). Burden of liver diseases in the world. In *Journal of Hepatology* (Vol. 70, Issue 1, pp. 151–171). <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.09.014>

Azhari, H., & Swain, M. G. (2018). Role of Peripheral Inflammation in Hepatic Encephalopathy. In *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* (Vol. 8, Issue 3, pp. 281–285). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2018.06.008>

Babineaux, M. J., & Alter, M. J. (2011). Viral Hepatitis. In *Netter's Infectious Disease* (pp. 399–410). <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0126-5.00067-7>

Bajaj, J. S., Hafeezullah, M., Hoffmann, R. G., & Saeian, K. (2007). Minimal hepatic encephalopathy: A vehicle for accidents and traffic violations. *American Journal of Gastroenterology*, 102(9), 1903–1909. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01424.x>

Bernardi, M., Moreau, R., Angeli, P., Schnabl, B., & Arroyo, V. (2015). Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. In *Journal of Hepatology* (Vol. 63, Issue 5, pp. 1272–1284). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.07.004>

Butterworth, R. F. (2019). Hepatic Encephalopathy in Cirrhosis: Pathology and Pathophysiology. In *Drugs* (Vol. 79, pp. 17–21). <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1017-0>

Butz, M., Timmermann, L., Braun, M., Groiss, S. J., Wojtecki, L., Ostrowski, S., Krause, H., Pollok, B., Gross, J., Südmeyer, M., Kircheis, G., Häussinger, D., & Schnitzler, A. (2009). Motor impairment in liver cirrhosis without and with minimal hepatic encephalopathy. *Acta Neurologica Scandinavica*, 122(1), 27–35. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2009.01246.x>

Castoldi, V., Marenga, S., d'Isa, R., Huang, S. C., De Battista, D., Chirizzi, C., Chaabane, L., Kumar, D., Boschert, U., Comi, G., & Leocani, L. (2020). Non-invasive visual evoked potentials to assess optic nerve involvement in the dark agouti rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis induced by myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Brain Pathology*, *30*(1), 137–150. <https://doi.org/10.1111/bpa.12762>

Chaudhry, V., Corse, A. M., O'Brian, R., Cornblath, D. R., Klein, A. S., & Thuluvath, P. J. (1999). Autonomic and peripheral (sensorimotor) neuropathy in chronic liver disease: A clinical and electrophysiologic study. *Hepatology*, *29*(6), 1698–1703. <https://doi.org/10.1002/hep.510290630>

Chisari, F. V., Isogawa, M., & Wieland, S. F. (2010). Pathogenèse de l'infection par le virus de l'hépatite B. In *Pathologie Biologie* (Vol. 58, Issue 4, pp. 258–266). Elsevier Masson. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.11.001>

Cobbina, E., & Akhlaghi, F. (2017). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)–pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. In *Drug Metabolism Reviews* (Vol. 49, Issue 2, pp. 197–211). <https://doi.org/10.1080/03602532.2017.1293683>

Cunningham, C. (2013). Microglia and neurodegeneration: The role of systemic inflammation. *Glia*, *61*(1), 71–90. <https://doi.org/10.1002/glia.22350>

Day, C. P. (2001). Apoptosis in alcoholic hepatitis: A novel therapeutic target? In *Journal of Hepatology* (Vol. 34, Issue 2, pp. 330–333). J Hepatol. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(00\)00110-0](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(00)00110-0)

Di Russo, F., Pitzalis, S., Spitoni, G., Aprile, T., Patria, F., Spinelli, D., & Hillyard, S. A. (2005). Identification of the neural sources of the pattern-reversal VEP. *NeuroImage*, *24*(3), 874–886. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.09.029>

Felipo, V., Ordoño, J. F., Urios, A., El Mlili, N., Giménez-Garzó, C., Aguado, C., González-Lopez, O., Giner-Duran, R., Serra, M. A., Wassel, A., Rodrigo, J. M., Salazar, J., & Montoliu, C. (2012a). Patients with minimal hepatic encephalopathy show impaired mismatch negativity correlating with reduced performance in attention tests. *Hepatology*, *55*(2), 530–539. <https://doi.org/10.1002/hep.24704>

Felipo, V., Urios, A., Giménez-Garzó, C., Cauli, O., Andrés-Costa, M. J., González, O., Serra, M. A., Sánchez-González, J., Aliaga, R., Giner-Durán, R., Belloch, V., & Montoliu, C. (2014). Non invasive blood flow measurement in cerebellum detects minimal hepatic encephalopathy earlier than psychometric tests. *World Journal of Gastroenterology*, *20*(33), 11815–11825. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i33.11815>

Felipo, V., Urios, A., Montesinos, E., Molina, I., Garcia-Torres, M. L., Civera, M., Del Olmo, J. A., Ortega, J., Martinez-Valls, J., Serra, M. A., Cassinello, N., Wassel, A., Jordá, E., & Montoliu, C. (2012b). Contribution of hyperammonemia and inflammatory factors to cognitive impairment in minimal hepatic encephalopathy. *Metabolic Brain Disease*, *27*(1), 51–58. <https://doi.org/10.1007/s11011-011-9269-3>

Felipo, V., Urios, A., Valero, P., Sánchez, M., Serra, M. A., Pareja, I., Rodríguez, F., Gimenez-Garzó, C., Sanmartín, J., & Montoliu, C. (2013). Serum nitrotyrosine and psychometric tests as indicators of impaired fitness to drive in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *Liver International*, *33*(10), 1478–1489. <https://doi.org/10.1111/liv.12206>

Ferenci, P., Lockwood, A., Mullen, K., Tarter, R., Weissenborn, K., & Blei, A. T. (2002). Hepatic encephalopathy - Definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: Final report

of the Working Party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology*, 35(3), 716–721. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.31250>

Foster, J. E., Mendoza, J. A., & Seetahal, J. (2018). Viruses as Pathogens: Animal Viruses, With Emphasis on Human Viruses. In *Viruses: Molecular Biology, Host Interactions, and Applications to Biotechnology* (pp. 157–187). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811257-1.00007-3>

Gal-Tanamy, M., Walker, C., Fong, S., & Lemon, S. M. (2009). Hepatitis C. In *Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases* (pp. 413–440). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369408-9.00024-X>

Giménez-Garzó, C., Garcés, J. J., Urios, A., Mangas-Losada, A., García-García, R., González-López, O., Giner-Durán, R., Escudero-García, D., Serra, M. A., Soria, E., Felipo, V., & Montoliu, C. (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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171211>

Heidelbaugh, J. J., & Bruderly, M. (2006). Cirrhosis and Chronic Liver Failure: Part I. Diagnosis and Evaluation. In *American Family Physician* (Vol. 74, Issue 5). www.aafp.org/afp.

Huang, T., Behary, J., & Zekry, A. (2020). Non-alcoholic fatty liver disease: a review of epidemiology, risk factors, diagnosis and management. In *Internal Medicine Journal* (Vol. 50, Issue 9, pp. 1038–1047). <https://doi.org/10.1111/imj.14709>

Jung, Y. K., & Yim, H. J. (2017). Reversal of liver cirrhosis: Current evidence and expectations. In *Korean Journal of Internal Medicine* (Vol. 32, Issue 2, pp. 213–228). <https://doi.org/10.3904/kjim.2016.268>

Kircheis, G., Wettstein, M., Timmermann, L., Schnitzler, A., & Häussinger, D. (2002). Critical flicker frequency for quantification of low-grade hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 35(2), 357–366. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.30957>

Kügler CF, Petter J, Taghavy A, Lotterer E, Wensing G, Hahn EG, Fleig WE. (1994) Dynamics of cognitive brain dysfunction in patients with cirrhotic liver disease: an event-related P300 potential perspective. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 91(1), 33-41. [https://doi:10.1016/0013-4694\(94\)90016-7](https://doi:10.1016/0013-4694(94)90016-7).

Koutsoudakis, G., Forns, X., & Pérez-del-Pulgar, S. (2013). Biología molecular aplicada del virus de la hepatitis C. *Gastroenterología y Hepatología*, 36(4), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2012.11.005>

Lai, C. L., Ratziu, V., Yuen, M.-F., & Poynard, T. (2003). Viral hepatitis B. *The Lancet*, 362(9401), 2089–2094. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)15108-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)15108-2)

Lefkowitz, J. H. (2005). Morphology of alcoholic liver disease. In *Clinics in Liver Disease* (Vol. 9, Issue 1, pp. 37–53). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2004.11.001>

Levero, M. (2006). Viral hepatitis and liver cancer: The case of hepatitis C. In *Oncogene* (Vol. 25, Issue 27, pp. 3834–3847). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209562>

Liaw, Y. F., & Chu, C. M. (2009). Hepatitis B virus infection. In *The Lancet* (Vol. 373, Issue 9663, pp. 582–592). Elsevier B.V. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60207-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60207-5)

Lu, L., Wu, C., Lu, B. jie, Xie, D., Wang, Z., Bahaji Azami, N. L., An, Y. tong, Wang, H. jun, Ye, G., & Sun, M. yu. (2020). BabaoDan cures hepatic encephalopathy by decreasing ammonia

levels and alleviating inflammation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 249. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112301>

Lu, X. L., Luo, J. Y., Gen, Y., Tao, M., Zhao, P., Zhao, H. L., Zhang, X. D., & Dong, N. (2004). Risk factors for alcoholic liver disease in China. *World Journal of Gastroenterology*, 10(16), 2423–2426. <https://doi.org/10.3748/wjg.v10.i16.2423>

Luo, M., Ma, P., Li, L., & Cao, W. K. (2019). Advances in psychometric tests for screening minimal hepatic encephalopathy: From paper-and-pencil to computer-aided assessment. In *Turkish Journal of Gastroenterology* (Vol. 30, Issue 5, pp. 398–407). AVES. <https://doi.org/10.5152/tjg.2019.18226>

Marra, T. R. (1990). The Clinical Significance of the Bifid or “W” Pattern Reversal Visual Evoked Potential. *Clinical EEG and Neuroscience*, 21(3), 162–167. <https://doi.org/10.1177/155005949002100312>

Montagnese, S., & Bajaj, J. S. (2019). Impact of Hepatic Encephalopathy in Cirrhosis on Quality-of-Life Issues. In *Drugs* (Vol. 79, pp. 11–16). <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1019-y>

Montoliu, C., Llansola, M., & Felipo, V. (2015). Neuroinflammation and neurological alterations in chronic liver diseases. In *Neuroimmunology and Neuroinflammation* (Vol. 2, Issue 3, pp. 138–144). OAE Publishing Inc. <https://doi.org/10.4103/2347-8659.160845>

Montoliu, C., Piedrafita, B., Serra, M. A., Del Olmo, J. A., Urios, A., Rodrigo, J. M., & Felipo, V. (2009). IL-6 and IL-18 in blood may discriminate cirrhotic patients with and without minimal hepatic encephalopathy. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 43(3), 272–279. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31815e7f58>

Nabi, E., & Bajaj, J. S. (2014). Useful tests for hepatic encephalopathy in clinical practice. *Current Gastroenterology Reports*, 16(1), 362. <https://doi.org/10.1007/s11894-013-0362-0>

Niller, H. H., & Minarovits, J. (2018). Epigenetics and Human Infectious Diseases. In *Epigenetics in Human Disease* (pp. 643–687). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812215-0.00021-2>

O’Shea, R. S., Dasarathy, S., & McCullough, A. J. (2010). Alcoholic liver disease. *Hepatology*, 51(1), 307–328. <https://doi.org/10.1002/hep.23258>

Odena, G., & Bataller, R. (2012). Fibrogénesis hepática: Fisiopatología. *Gastroenterología y Hepatología*, 35(SUPPL.2), 3–9. [https://doi.org/10.1016/S0210-5705\(12\)70043-2](https://doi.org/10.1016/S0210-5705(12)70043-2)

Oсна, N. A., Donohue, T. M., & Kharbanda, K. K. (2017). Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. In *Alcohol research : current reviews* (Vol. 38, Issue 2, pp. 147–161). National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. [/pmc/articles/PMC5513682/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5513682/)

Parola, M., & Pinzani, M. (2019). Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. In *Molecular Aspects of Medicine* (Vol. 65, pp. 37–55). <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.09.002>

Pimpin, L., Cortez-Pinto, H., Negro, F., Corbould, E., Lazarus, J. V., Webber, L., & Sheron, N. (2018). Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. In *Journal of Hepatology* (Vol. 69, Issue 3, pp. 718–735). <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.05.011>

Raimondo, G., Cacciamo, G., & Saitta, C. (2005). Hepatitis B virus and hepatitis C virus co-infection: additive players in chronic liver disease? In *Annals of hepatology : official journal of the Mexican Association of Hepatology* (Vol. 4, Issue 2, pp. 100–106). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)32072-1](https://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)32072-1)

Rega, D., Aiko, M., Peñaranda, N., Urios, A., Gallego, J.-J., Giménez-Garzó, C., Casanova, F., Fiorillo, A., Cabrera-Pastor, A., San-Miguel, T., Ipiens, C., Escudero-García, D., Tosca, J., Montón, C., Ballester, M.-P., Ballester, J., Aparicio, L., Ríos, M.-P., Durbán, L., ... Montoliu, C. (2021). Patients with Minimal Hepatic Encephalopathy Show Altered Thermal Sensitivity and Autonomic Function. *Journal of Clinical Medicine*, *10*(2), 239. <https://doi.org/10.3390/jcm10020239>

Rodrigo, R., Cauli, O., Gomez-Pinedo, U., Agusti, A., Hernandez-Rabaza, V., Garcia-Verdugo, J. M., & Felipo, V. (2010). Hyperammonemia induces neuroinflammation that contributes to cognitive impairment in rats with hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*, *139*(2), 675–684. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.03.040>

Román, E., Córdoba, J., Torrens, M., Torras, X., Villanueva, C., Vargas, V., Guarner, C., & Soriano, G. (2011). Minimal Hepatic Encephalopathy Is Associated With Falls. *American Journal of Gastroenterology*, *106*(3), 476–482. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.413>

Shawcross, D. L., Davies, N. A., Williams, R., & Jalan, R. (2004). Systemic inflammatory response exacerbates the neuropsychological effects of induced hyperammonemia in cirrhosis. *Journal of Hepatology*, *40*(2), 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2003.10.016>

Taylor, R. S., Taylor, R. J., Bayliss, S., Hagström, H., Nasr, P., Schattenberg, J. M., Ishigami, M., Toyoda, H., Wai-Sun Wong, V., Peleg, N., Shlomain, A., Sebastiani, G., Seko, Y., Bhala, N., Younossi, Z. M., Anstee, Q. M., McPherson, S., & Newsome, P. N. (2020). Association Between Fibrosis Stage and Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*, *158*(6), 1611-1625.e12. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.01.043>

Trépo, C., Chan, H. L. Y., & Lok, A. (2014). Hepatitis B virus infection. In *The Lancet* (Vol. 384, Issue 9959, pp. 2053–2063). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60220-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60220-8)

Urios, A., Mangas-Losada, A., Gimenez-Garzó, C., González-López, O., Giner-Durán, R., Serra, M. A., Noe, E., Felipo, V., & Montoliu, C. (2017). Altered postural control and stability in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy correlate with cognitive deficits. *Liver International*, *37*(7), 1013–1022. <https://doi.org/10.1111/liv.13345>

Vilstrup, H., Amodio, P., Bajaj, J., Cordoba, J., Ferenci, P., Mullen, K. D., Weissenborn, K., & Wong, P. (2014). Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study Of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology*, *60*(2), 715–735. <https://doi.org/10.1002/hep.27210>

Warner, N., & Locarnini, S. (2012). Replication of Hepatitis B Virus. In *Zakim and Boyer's Hepatology* (pp. 86–96). <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0881-3.00006-1>

Weissenborn, K. (2019). Hepatic Encephalopathy: Definition, Clinical Grading and Diagnostic Principles. In *Drugs* (Vol. 79, Issue Suppl 1, pp. 5–9). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1018-z>

Weissenborn, K., Ennen, J. C., Schomerus, H., Rückert, N., & Hecker, H. (2001). Neuropsychological characterization of hepatic encephalopathy. In *Journal of Hepatology* (Vol. 34, Issue 5, pp. 768–773). J Hepatol. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(01\)00026-5](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(01)00026-5)

Weissenborn, K., Heidenreich, S., Ennen, J., Rückert, N., & Hecker, H. (2001). Attention deficits in minimal hepatic encephalopathy. *Metabolic Brain Disease*, 16(1–2), 13–19. <https://doi.org/10.1023/A:1011654210096>

Xiao, J., Wang, F., Wong, N. K., He, J., Zhang, R., Sun, R., Xu, Y., Liu, Y., Li, W., Koike, K., He, W., You, H., Miao, Y., Liu, X., Meng, M., Gao, B., Wang, H., & Li, C. (2019). Global liver disease burdens and research trends: Analysis from a Chinese perspective. In *Journal of Hepatology* (Vol. 71, Issue 1, pp. 212–221). <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.03.004>

Xu, X. Y., Ding, H. G., Li, W. G., Jia, J. D., Wei, L., Duan, Z. P., Liu, Y. L., Ling-Hu, E. Q., & Zhuang, H. (2019). Chinese guidelines on management of hepatic encephalopathy in cirrhosis. In *World Journal of Gastroenterology* (Vol. 25, Issue 36, pp. 5403–5422). <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i36.5403>

Zeneroli, M. L., Pinelli, G., Gollini, G., Penne, A., Messori, E., Zani, G., & Ventura, E. (1984). Visual evoked potential: A diagnostic tool for the assessment of hepatic encephalopathy. *Gut*, 25(3). <https://doi.org/10.1136/gut.25.3.291>

Zhang, L., Li, L., Zhou, X., Xia, F., & Zhang, Z. (2013). Visual electrophysiological examination in diagnosis of hepatic encephalopathy. *World Journal of Neuroscience*, 03(04), 204–208. <https://doi.org/10.4236/wjns.2013.34026>

ANEXOS

Anexo 1: Pruebas psicométricas y motoras para estudiar el deterioro neuropsicológico

Stroop

Test de palabras y colores que evalúa la atención selectiva y sostenida y la flexibilidad cognitiva. Comprende tres pruebas:

- Tarea congruente (P): Se realiza mediante una lámina que presenta nombres de colores escritos en negro (rojo, amarillo, azul y verde). La persona deberá leer el mayor número de palabras posible en 45 segundos (Figura 1A).
- Tarea neutra (C): En este caso a la persona se le presenta una lámina con círculos de diferentes colores. El sujeto deberá decir el mayor número de colores de círculos en 45 segundos (Figura 1B).
- Tarea incongruente (PC): La lamina en este caso lleva las palabras de los cuatro colores mencionados anteriormente, pero en este caso en vez de estar escritas en negro están escritas en un color distinto al que hace referencia el color escrito. La persona deberá indicar el color en el que están escritas las palabras en 45 segundos (Figura 1C).

En las tres pruebas, si la persona termina la lámina antes de los 45 segundos debe de volver a empezar. Las puntuaciones obtenidas en un principio (número de palabras o colores acertados) se corrigieron según la edad. Los percentiles obtenidos fueron los usados en los análisis comparativos y en las correlaciones.

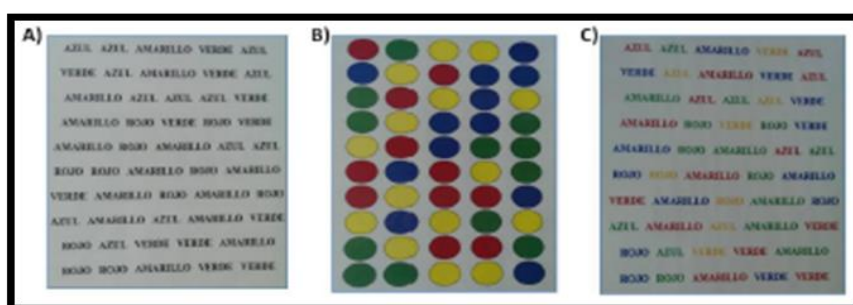


Figura 1: Prueba Stroop (A-B). (A): Tarea congruente. (B): Tarea neutra. (C): Tarea incongruente

El valor de interferencia se calcula comparándolos parámetros congruente (P) y neutro (C) con los valores de la interferencia (PC). Se calcula mediante la fórmula $PC-PC'$, siendo $PC'=(PxC)/(P+C)$. PC' sería una estimación de lo que el sujeto debería haber obtenido en PC.

Frecuencia crítica de parpadeo (FCP)

Evaluación de la atención selectiva y sostenida. Es una prueba visual que se basa en el registro de la frecuencia en la que la persona ve el parpadeo de una luz roja. Esta luz comienza a parpadear en 60Hz y baja la frecuencia progresivamente. Los resultados obtenidos son los Hz en los que el sujeto detecta el parpadeo de la luz (Figura 2).



Figura 2: Instrumentación usada para la prueba de Frecuencia Crítica de Parpadeo.

Prueba d2

Evalúa la atención selectiva y sostenida, así como la concentración mental. Esta prueba consiste en una lámina formada por 14 líneas (Figura 4) con 47 caracteres (658 elementos en total). Los caracteres pueden ser la letra "d" o "p" y, estas pueden ir acompañadas de una o dos rayas en la parte superior o inferior de cada letra.

En esta prueba la persona deberá revisar de izquierda a derecha los caracteres presentados en cada una de las 14 líneas y deberá marcar todas las letras "d" que presenten dos rayas, ya sean las dos abajo, arriba o una arriba y otra abajo. La persona tendrá 20 segundos para comprobar cada línea (Figura 3).

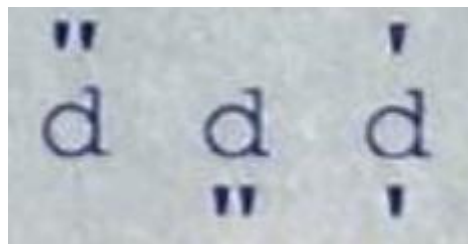


Figura 3: Caracteres que han de ser seleccionados.

Se obtienen de esta manera los siguientes parámetros:

- Total de respuestas (TR): Sería la posición de la última marca realizada, es decir, la suma del total de caracteres estudiados. Es una medida de la velocidad de procesamiento y cantidad de trabajo realizado.
- Total de aciertos (TA): Es una medida de la precisión del procesamiento.
- Errores por omisión (O)

- Errores por comisión (C)
- Valor total menos los errores (TOT): $TOT=TR-(O+C)$
- Puntuación de concentración (CON): $CON=TA-C$
- Índice de variación o fluctuación en el modo de trabajar del sujeto $(TR+)-(TR-)$.
Siento TR+ el número de respuestas de la fila en la que ha contestado más y TR- en la que ha contestado menos.



Figura 4: Plantilla prueba d2.

Pruebas de coordinación bimanual y visomotora

- Coordinación bimanual: Se le presentará al sujeto una placa con 4 filas y cada una con 10 orificios. Cada orificio tendrá introducido una barra pequeña (Figura 5.A). En esa misma placa habrá un poco hacia delante el mismo número de orificios. El sujeto deberá mover todas las barras con las dos manos desde uno de los extremos de la placa hacia el otro. Empezará por la primera fila desde los extremos hacia el centro. Este proceso se realizará dos veces en cada sentido y se registrará el tiempo.
- Coordinación visomotora: Consta de un tablero en el que hay orificios en forma cuadrada pero dispuestos en diferentes orientaciones espaciales. En el lado derecho de los orificios el sujeto tendrá bloques con la misma área que los orificios (Figura 5.B). Se tendrán que colocar los bloques dentro de los

orificios una a una y con la mano dominante. Se registrará el tiempo en el que el sujeto realiza la tarea completa.



Figura 5: Pruebas de coordinación. (A): Tablero coordinación bimanual. (B): Tablero coordinación visomotora.

Prueba oral de claves

Evalúa velocidad de procesamiento mental. La prueba consiste en presentarle al sujeto una plantilla en la que hay asignado una numeración para cada clave (Figura 6). El paciente tiene que asignar al mayor número de claves el número que le corresponde. Se registrarán el número de aciertos, el número de errores y el número total de respuestas. Es similar a la prueba “test de dígitos y símbolos (DST)” del PHES pero, en este caso, al contrario.

⌒	÷	┌	└	┐	➤	+	⌒	÷
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Figura 6: Prueba oral de claves. Valores numéricos asignados a cada símbolo

Prueba oral de dígitos

Evaluación de la memoria inmediata y de trabajo. Se realiza de manera directa e inversa:

- Directa: Se le dirán al sujeto una serie de números en un orden y el sujeto deberá repetir los números en el mismo orden. La prueba se divide en varios bloques que van aumentando la dificultad. Se le da una puntuación según los bloques que consiguen repetir bien. Máximo son 16 puntos (Figura 7.A)

- Inversa: Igual que la anterior, pero en este caso el sujeto deberá decirlo en el orden inverso al que se dice (Figura 7.B).

ORDEN DIRECTO			Punt.	Puntuación	ORDEN INVERSO			Punt.	Puntuación
Elemento/Intento			intento	elemento	Elemento/Intento			intento	elemento
1	1	1-7	0	1	1	1	2-4	0	1
	2	6-3	0	1		2	5-7	0	1
2	1	5-8-2	0	1	2	1	6-2-9	0	1
	2	6-9-4	0	1		2	4-1-5	0	1
3	1	6-4-3-9	0	1	3	1	3-2-7-9	0	1
	2	7-2-8-6	0	1		2	4-9-6-8	0	1
4	1	4-2-7-3-1	0	1	4	1	1-5-2-8-6	0	1
	2	7-5-8-3-6	0	1		2	6-1-8-4-3	0	1
5	1	6-1-9-4-7-3	0	1	5	1	5-3-9-4-1-8	0	1
	2	3-9-2-4-8-7	0	1		2	7-2-4-8-5-6	0	1
6	1	5-9-1-7-4-2-8	0	1	6	1	8-1-2-9-3-6-5	0	1
	2	4-1-7-9-3-8-6	0	1		2	4-7-3-9-1-2-8	0	1
7	1	5-8-1-9-2-6-4-7	0	1	7	1	9-4-3-7-6-2-5-8	0	1
	2	3-8-2-9-5-1-7-4	0	1		2	7-2-8-1-9-6-5-3	0	1
8	1	2-7-5-8-6-2-5-8-4	0	1	8	1	9-4-3-7-6-2-5-8	0	1
	2	7-1-3-9-4-2-5-6-8	0	1		2	7-2-8-1-9-6-5-3	0	1

Figura 8: Prueba oral de dígitos. (A): Orden directo. (B): Orden inverso.

Prueba oral de números y letras

Evalúa la memoria de trabajo con mayor profundidad que el intervalo de dígitos. Similar a la prueba anterior, pero con mayor dificultad. Se le dice al sujeto una serie de números y letras desordenados y este deberá ordenarlos. También se divide en bloques que van aumentando la dificultad, aumentando el número de dígitos en cada serie. Se les da la puntuación según los bloques que realizan bien.

Intento	Elemento	Respuesta correcta	Punt. intento	Puntuación elemento
1	1	L-2 2-L	0	1
	2	6-P 6-P	0	1
	3	B-5 5-B	0	1
2	1	F-7-L 7-F-L	0	1
	2	R-4-D 4-D-R	0	1
	3	H-1-8 1-8-H	0	1
3	1	T-9-A-3 3-9-A-T	0	1
	2	V-1-J-5 1-5-J-V	0	1
	3	7-N-4-L 4-7-L-N	0	1

Figura 9: Prueba oral de números y letras.