

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Hospital Universitario**

**“Dr. José Eleuterio González”**



**CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL METABOLÓMICO SÉRICO DE  
PACIENTES CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA GRADOS III Y IV**

Por

**DR. LUIS ANDRÉS GONZÁLEZ TORRES**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
MEDICINA INTERNA**

Diciembre 2023

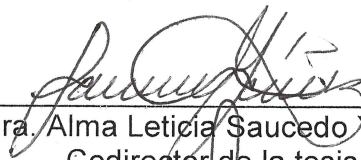
“CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL METABOLÓMICO SÉRICO DE  
PACIENTES CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA GRADOS III Y IV”

Aprobación de la tesis:



---

Dra. C. Paula Cordero Pérez  
Director de la tesis



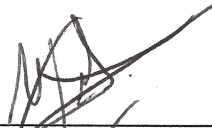
---

Dra. Alma Leticia Saucedo Yáñez  
Codirector de la tesis



---

Dr. med. Luis Adrián Rendón Pérez  
Jefe del Departamento de Medicina Interna



---

Dra. Mónica Sánchez Cárdenas  
Coordinador Enseñanza del Departamento de Medicina Interna



---

Dr. Med. Juan Fernando Góngora Rivera  
Coordinador de Investigación del Departamento de Medicina Interna



---

Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez  
Subdirector de Estudios de Posgrado

## DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos especiales a mis padres Dr. José Luis González Vela y Dra. San Juana Torres García, que siempre me han apoyado a lo largo de mi vida, sin ellos nada de esto se podría haber logrado.

A mi hermana la Dra. Christina González Torres por siempre ser mi ejemplo para seguir demostrando ser una hermana y profesionista ejemplar.

A los mentores que me han guiado en el curso de mi carrera y especialización incluyendo a la Dra. Sandra González, Dra. Luz Tarín, Dra. Olga Cantú, Dr. David Hernández Barajas.

Para mi directora de tesis la Dra. Paula Cordero quien siempre estuvo al pendiente de mi trabajo y se hizo presente en los momentos más cruciales de mi trabajo.

Para mi codirectora la Dra. Alma Saucedo quien mantuvo el objetivo principal de este estudio en pie y gracias a ella fue que se pudo completar este proyecto.

A mis compañeros de especialidad Dr. Juan Millán y Dr. Carlos de la Cruz de la Cruz quienes siempre han representado un pilar en mi educación como investigador desde el inicio.

A mis amigos quienes han estado presentes durante todo mi proyecto de vida tanto dentro como fuera del hospital.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>CAPÍTULO I</b>	
RESUMEN.....	7
<b>CAPÍTULO II</b>	
INTRODUCCIÓN.....	9
<b>CAPÍTULO III</b>	
HIPÓTESIS.....	21
<b>CAPÍTULO IV</b>	
OBJETIVOS.....	22
<b>CAPÍTULO V</b>	
JUSTIFICACIÓN.....	23
<b>CAPÍTULO VI</b>	
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
<b>CAPÍTULO VII</b>	
RESULTADOS.....	32
<b>CAPÍTULO VIII</b>	
DISCUSIÓN.....	41
<b>CAPÍTULO IX</b>	
CONCLUSIONES.....	44
<b>CAPÍTULO X</b>	
ANEXOS.....	45
<b>CAPÍTULO XI</b>	
BIBLIOGRAFÍA.....	47
<b>CAPÍTULO XII</b>	
RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.....	52

## INDICE DE TABLAS

<b>Tablas</b>	<b>Página</b>
TABLA 1 .....	10
TABLA 2 .....	11
TABLA 3 .....	15
TABLA 4 .....	16
TABLA 5 .....	33
TABLA 6 .....	38
TABLA 7 .....	39
TABLA 8 .....	40

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figuras</b>	<b>Página</b>
FIGURA 1 .....	14
FIGURA 2 .....	18
FIGURA 3 .....	32
FIGURA 4 .....	34
FIGURA 5 .....	35
FIGURA 6 .....	36
FIGURA 7 .....	37
FIGURA 8 .....	38

# CAPÍTULO I

## RESUMEN

### **Introducción:**

La Encefalopatía Hepática (EH) es una complicación de la insuficiencia hepática que se clasifica en diferentes tipos según su gravedad. La metabolómica, es el estudio de metabolitos, esta ha revelado cambios significativos en pacientes hepatopatías, incluyendo la EH evaluada a través de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Nuestro objetivo fue caracterizar perfil metabólico de los pacientes con hepatopatía crónica sin EH y con EH grados III y IV por RMN.

### **Material y métodos:**

Estudio observacional, transversal, analítico, prospectivo y muestreo por conveniencia. Se incluyeron 30 pacientes mayores de 18 años (13 con hepatopatía sin EH, 9 con EH grado III, y 8 con EH grado IV). Se tomaron muestras sanguíneas y en el suero se analizó el perfil metabólico por RMN para después caracterizar el perfil de metabolitos por paciente y grupo de estudio y analizados posteriormente por análisis multivariado de PLS-DA en plataforma Metaboanalyst 5.0

**Resultados:** Se asignaron señales de 45 metabolitos, pero solo se cuantificaron 43. El PLS-DA nos mostró una diferencia importante entre los perfiles de los grupos de estudio, notándose una disminución importante de la concentración de metabolitos conforme aumentaba la severidad de la EH, exceptuando la 3-metilhistidina que fue a la inversa. Se logró la identificación de 15 metabolitos diferenciales a partir de los cocientes Metabolito/Creatinina mostrándose una diferencia significativa entre los grupos de EH III y IV en un grupo importante de metabolitos.

**Conclusión:** Los metabolitos implicados en las EH severas fueron la arginina, isoleucina, valina, alanina, histidina, treonina, glicerol, serina, tirosina, glutamina, fenilalanina, formiato, ornitina, tau metilhistidina y metionina. Las vías

metabólicas implicadas fueron las de la fenilalanina, tirosina y biosíntesis de triptófano, fenilalanina y la vía de histidina. Los resultados mostrados prueban que la clasificación clínica de West Haven tiene una explicación objetiva y medible a través del uso de la metabolómica.



## CAPÍTULO II

### INTRODUCCIÓN

#### 2.1 Encefalopatía Hepática

La Encefalopatía Hepática (EH), es una complicación significativa secundaria a una insuficiencia hepática aguda o crónica que se caracteriza predominantemente por alteraciones en la personalidad, en el estado de consciencia, cognición y función motora (1); se ha reportado que se presenta en un 30 – 60% de los pacientes cirróticos (2).

En la búsqueda de dar explicación a los eventos fisiopatológicos que toman lugar en esta enfermedad, se han buscado alteraciones a nivel de receptores cerebrales, acumulación de metabolitos y otras etiologías, siendo ejemplo de esto, la relación que se buscó con los receptores cerebrales de tipo GABA A, la toxicidad secundaria a acumulación de manganeso, relación con ácidos grasos de cadenas cortas, mercaptanos, metabolitos de lactato y dopamina así como una disminución de la sinapsis glutaminérgica(3,4); pero la acumulación de amonio, se sigue tomando como la causa principal en relación al desarrollo de la EH, esto explicándose secundario a la incapacidad del hígado de llevar a cabo su función normal, causando una derivación del producto tóxico a la circulación sanguínea para después cruzar la barrera hematoencefálica y finalmente causando un efecto neurotóxico sobre las células cerebrales, hablando específicamente de los astrocitos (5).

Los signos y síntomas observados en este espectro de pacientes pueden ir desde la alteración en el estado de consciencia, cambios en la personalidad o al intelecto, asterixis, hiperreflexia, hasta cambios tan mínimos, que no se puede observar a simple vista hasta el uso de herramientas neuro-cognitivas (6). En búsqueda de la unificación y establecimiento de los términos respecto a esta enfermedad, en 1998 la Organización Mundial de Gastroenterología propuso una clasificación basada en la afección específica del hígado en cada caso, describiéndose de la letra A a la C (Tabla 1), la primera refiriéndose a los casos

en los que la EH se presenta de manera aguda, la segunda representando la asociación a un shunt porto-sistémico sin afección hepatocelular, y la última descrita en el paciente con cirrosis e hipertensión portal, la cual puede ser subcategorizada con sus respectivas subdivisiones en EH episódica (Precipitada, espontánea recurrente), EH Persistente (Leve, Severa, Dependiente de tratamiento) y Mínima.

**Tabla 1.** Nomenclatura propuesta para EH

<b>Tipo de Nomenclatura HE</b>	<b>Subcategoría</b>	<b>Subdivisiones</b>	
A	Encefalopatía asociada con falla hepática aguda		
B	Encefalopatía asociada con bypass portosistémico y no a enfermedad hepatocelular intrínseca		
C	Encefalopatía asociada con cirrosis e hipertensión portal o shunts portosistémicos	EH episódica	Precipitada Espontánea Recurrente
		EH persistente	Leve Severa Dependiente de tratamiento
		EH mínima	

Tomado de: *Hepatology*. 2002;35(3):716-721

Otra de las maneras en las que se evalúa el estado neurocognitivo en los pacientes es con la utilización de la escala conocida como West Haven (tabla 2) la cual principalmente nos indica un nivel de severidad del cuadro en relación a la EH, yendo desde el estadio conocido como encefalopatía hepática mínima (EHM) el cual se caracteriza por muestra mínima de alteraciones sintomatológicas, y crea la necesidad de utilizar pruebas neuropsiquiátricas, y grados del I al IV (7); importante mencionar que la característica principal de los estadios I y II son síntomas leves que van desde alteraciones motoras así como

de la personalidad, mientras que en los estadios III al IV existe ya una alteración del estado de alerta.

**Tabla 2.** Criterios West Haven para la graduación semicuantitativa del estado mental.

Grado 1	Falta de alerta trivial Euforia o ansiedad Tiempo de atención acortado Desempeño de adición dificultado
Grado 2	Letargo o apatía Desorientación de tiempo o espacio mínima Cambios sutiles de personalidad Comportamiento inapropiado Desempeño de restas dificultado
Grado 3	Somnolencia a estupor, pero respuesta a estímulo verbal Confusión Desorientación intensa
Grado 4	Coma (falta de respuesta a estímulo verbal o doloroso)
Tomado de: <i>Hepatology</i> . 2002;35(3):716-721	

A pesar del consenso establecido para la clasificación de severidad en esta enfermedad, existen retos diagnósticos cuando se habla de los estadios asintomático como lo es la EHM ya mencionada previamente (8); para esto se han establecido pruebas neuropsiquiátricas que se utilizan como herramientas diagnósticas, ejemplos de estas siendo la prueba de “Flicker Frequency” la cual incluye la utilización de herramientas emisoras de luz parpadeante, las cuales se prueban con cada paciente, este indicando la percepción parpadeante de la luz y confirmando su visualización a frecuencias específicas, siendo las frecuencias de 38 a 39 Hz las relacionadas a la EHM (9); otra herramienta recomendada es el uso de la “Psychometric Hepatic Encephalopathy Score (PHES), la cual hace uso de pruebas con papel y lápiz para identificar este grupo de pacientes(10,11).

A través de los años, se han intentado buscar datos objetivos que pudieran servir como herramientas para poder categorizar a los pacientes en estadios de severidad; ejemplos de esto es el uso del electroencefalograma como herramienta para identificar cambios en patrones de onda en relación al estadio del paciente con EH, donde se han encontrado patrones de ondas trifásicas en relación a EH estadios II y III con desaparición de la misma al entrar a un estado comatoso (12); aumento de actividad de tipo B en pacientes con diagnóstico de esteatohepatitis relacionada al consumo de alcohol (13); otra herramienta que se ha intentado utilizar son los potenciales evocados. Ninguna de estas técnicas es utilizada como evaluación estándar para el abordaje de pacientes con encefalopatía, y podría ser un enfoque de estudios en el futuro.

## **2.2 Metabolómica**

La metabolómica, es la ciencia que estudia la caracterización de los metabolitos y del metabolismo en los sistemas biológicos, utilizando un abordaje integrado que genera huellas químicas para procesos celulares específicos (14). La Sociedad de Metabolómica, define a la misma como un campo emergente de las ciencias “ómicas”, que se encarga de caracterizar los metabolitos de sistemas biológicos (<http://metabolomicsociety.org/>); la metabolómica nos ayuda a observar el comportamiento a nivel celular al estar en estado estático, así como dinámico al responder a estímulos genéticos, biológicos o sintéticos; esto siendo de relevancia ya que nos puede revelar la ocurrencia de procesos en asociación a procedimientos específicos.

Los metabolitos son los sustratos, productos intermedios del metabolismo, generalmente menor a 1.5 kDa; en el año 2007, Wishart *et al.* crearon la primera base de datos mundial de metabolitos, información que se obtuvo de evidencia incluyendo publicaciones en revistas, libros y bases de datos electrónicas, así como información experimental acerca de metabolitos en estudio obtenida a partir de su análisis por métodos estándar que se expondrán en los siguientes puntos (15).

Al hablar sobre metabolómica, es necesario analizar las dos posibles maneras en las que se puede llevar a cabo su investigación, esto al dividir la intención de

la investigación en metabolómica de perfiles metabólicos así como la metabolómica no orientada/ de huellas dactilares de los mismos; la definición de la primera es la realización de un análisis cuantitativo de un grupo de metabolitos ya sea en su rol dentro de una vía bioquímica, o un grupo específico de componentes, ejemplos de esto puede ser el análisis de un número pequeño de metabolitos, análisis únicos de precursores o productos de reacciones bioquímicas; el segundo, se caracteriza por ser sin sesgo, clasificación de patrones específicos de metabolitos o su respuesta a un agente externo como lo puede ser alguna enfermedad, agentes ambientales o alteraciones genéticas. La metabolómica de perfiles/ orientada puede terminar generando información como para caracterizar una vía bioquímica entera para después aportar al crecimiento de bases de datos generales sobre metabolitos específicos y su relación en las vías de los procesos biológicos; la metabolómica no orientada o de huellas dactilares, cuyo objetivo es el de identificar los patrones encontrados en patologías específicas, intoxicaciones etc; estos análisis se realizan en muestra de líquidos biológicos incluyendo suero, orina, plasma, saliva, y después de obtener las muestras, se realiza un análisis de la muestra para después exportar la información a bases datos que después se analizan a través de métodos estadísticos (Figura 1). Como fin de la investigación en metabolómica, se ha observado que el combinar estos dos tipos de aplicación de estas dos corrientes, crean la información con evidencia más poderosa y sólida (16).

<b>1. Toma de muestra (Orina, saliva, suero)</b>
<b>2. Preparación de la muestra</b>
<b>3. Análisis de muestra</b>
<b>4. Obtención de datos</b>
<b>5. Análisis de datos e interpretación</b>
<b>6. Identificación de marcadores</b>

**Figura 1. Pasos de la metabolómica no orientada**

Las dos principales herramientas utilizadas en la investigación de la metabolómica son la Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (ERMN) así como la Espectrometría de Masas (EM).

La ERMN, es conocida por su practicidad al hablar de su análisis, requiriendo poca o nula preparación de la muestra, es rápida, no destructiva y no invasiva además de proveer resultados con una alta reproducibilidad (coeficiente de variación del 1 a 2%); los picos mostrados en este análisis pueden con toda seguridad indicar la presencia de un metabolito; otra de las ventajas es la cantidad de muestras que se pueden analizar a lo largo de un día; esta técnica sería lo ideal al pensar el utilizarse en muestras biológicas complejas como lo es la sangre.

La EM tiene como característica la alta sensibilidad de orden pico molar con técnicas estándar, tiene la desventaja de ser una técnica destructiva de la cual luego no es posible recuperar muestra, reproducibilidad moderada a comparación de la ERMN, no tiene capacidad de análisis de tejido. Tiene ventaja en cuanto al análisis de orina por la capacidad de ser analizada de manera directa sin preparación. En las Tablas 3 y 4 podemos apreciar las diferencias y características principales de estos dos métodos (17).

**Tabla 3. Características de la ERMN con ventajas y desventajas**

<b>Técnicas</b>	<b>Contenido</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>Métodos RMN</b>			
Secuencias 1D: pre saturación y noesy	Detecta señales de tanto los metabolitos de peso molecular bajo y relativamente alto	Altamente cuantitativo y bueno para el tamizaje de proyección de alto impacto	Los espectros son generalmente complejos debido a la presencia de concentraciones altas y bajas de señales moleculares y uniones J extensivas.
CPMG	Provee señales de pequeñas moléculas al suprimir señales RMN de moléculas grandes	El espectro es fácil de interpretar debido a la simplificación alcanzada, y son buenos para tamizaje de proyección de alto impacto .	No muestra simplificación apreciable de biofluidos como orina, en donde la mayoría de los metabolitos son pequeñas moléculas y es menos cuantitativo.
Secuencia de difusión editada	Provee información de moléculas relativamente grandes como lípidos	Simple, bueno para tamizaje de proyección de alto impacto de moléculas grandes en plasma y suero	No útil para muestras como orina, donde no es apreciable la diferencia en coeficientes de difusión, y es menos cuantitativo.
2D-J-RES	El espectro es altamente simplificado debido a la eliminación de la multiplicidad de emparejamiento J	La sobreposición de señales puede ser mejor resultado debido a que es fácil de interpretar y para seguir adecuadamente la variación de metabolitos corresponde a sobreposición de señales es un 1D espectro normal.	Como el espectro es derivado de experimento 2D, consume más tiempo y es menos cuantitativo.
<i>Tomado de: Gowda GN et al. Expert review of molecular diagnostics. 2008; 8(5):617-33</i>			

**Tabla 4. Características de EM con ventajas y desventajas**

<b>Técnicas</b>	<b>Contenido</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>Métodos EM</b>			
CL-EM (HPLC/UPLC-MS)	Los metabolitos son separados utilizando cromatografía líquida y detectados por EM	Es el método más comúnmente utilizado en metabolómica debido a su simplicidad en la preparación de la muestra y con una proyección alta.	La supresión de iones en presencia de múltiples cationes o aniones puede ser problemático y afectar significativamente el resultado.
CG-EM	Similar al CL-EM pero con separación basada en cromatografía de gases	El método puede ser más sensible y más reproducible que CL-EM. Tiene alta eficiencia de separación y es más cuantitativo que CL-EM	Requiere pasos de preparación de muestra tediosos y no todos los compuestos de clase pueden ser separados por este método.
2D CG-EM	Similar al CG-EM, pero la separación de metabolitos ocurre en dos dimensiones.	Similar al CG-EM pero con una resolución adicional alcanzada por una segunda dimensión que permite que sea más fácil el análisis de muestras biológicas complejas.	Requiere pasos de preparación de muestra tediosos y no todos los compuestos de clase pueden ser separados por este método.
EESI-EM	Es un método de análisis de solución directo que utiliza dos fuentes es spray: uno nebuliza y otro provee gotas de solvente cargadas	No se requiere preparación o extracción de la muestra	Menos cuantitativo, puede sufrir de supresión de iones en la mezcla compleja de muestras biológicas
ESI-EM	Método de ambiente ionizado que analiza la muestra directamente	Sensible, excelente tolerancia a altas concentraciones de sal, no se requiere preparación o extracción de la muestra	Menos cuantitativo, puede sufrir de supresión de iones en la mezcla compleja de muestras biológicas
DART-EM	Utiliza corrientes de gas helio excitado meta estable y nitrógeno caliente, provee información en tiempo real, análisis de muestra directo.	Sensible, útil para tamizaje de muy alta proyección, no se requiere preparación o extracción de la muestra	Menos cuantitativo, puede sufrir de supresión de iones en la mezcla compleja de muestras biológicas
<i>Tomado de: Gowda GN et al. Expert review of molecular diagnostics. 2008; 8(5):617-33</i>			



Realizando un hincapié en los pasos que se tienen que seguir al realizar una investigación metabolómica, a continuación, se expone de manera breve las características principales de cada una de las etapas (**Figura 2**)(18):

1. **Problema biológico y diseño experimental:** El primer paso a seguir, cuya importancia radica en que la identificación del problema a estudiar determinará los pasos que se deberán de seguir para continuar con la investigación.

2. **Preparación de la Muestra:** Esta etapa es importante, y la manera en la que se llevará acabo depende del tipo de investigación que se va a realizar y con qué tipo de muestra se cuenta. Generalmente la metabolómica dirigida no requiere mucha manipulación de las muestras, mientras que la no dirigida generalmente requiere una preparación mínima, dependiendo del tipo de muestra o técnica que se pueda utilizar.

3. **Obtención de los datos:** Y descrito en sección anterior donde se especifican los métodos de identificación incluyendo EM Y ERMN.

4. **Análisis Estadístico:** La información metabolómica es muy compleja y requiere de herramientas químio métricas para mostrar diferencias en metabolitos entre muestras de control y muestras de prueba. Dentro del análisis utilizado, encontramos el del tipo multivariado que incluye métodos no supervisados como lo es el Principal Component Análisis (PCA), y métodos supervisados como lo son Partial Least Square Discriminant Analysis (PLS-DA) y Orthogonal Projections to Latent Structures Discriminant Analysis (OPLS-DA), y el análisis univariado donde se usan pruebas estadísticas de variables paramétricas- no paramétricas como lo son T de student, ANOVA, Kruskall Wallis, etc.

5. **Identificación de metabolitos:** Se realiza específicamente en metabolómica dirigida, utilizando bases de datos conocidas donde se tiene identificados los diferentes metabolitos.

6. **Identificación de la vía biológica afectada:** Se realiza en cualquier tipo de investigación metabolómica y consiste en buscar la vía específica afectada en bases de datos ya conocidas.

7. **Validación Biológica:** Consiste en comprobación de los datos después de acabar el estudio principal, utilizando nuevas muestras y comprobándose con métodos in- vitro.

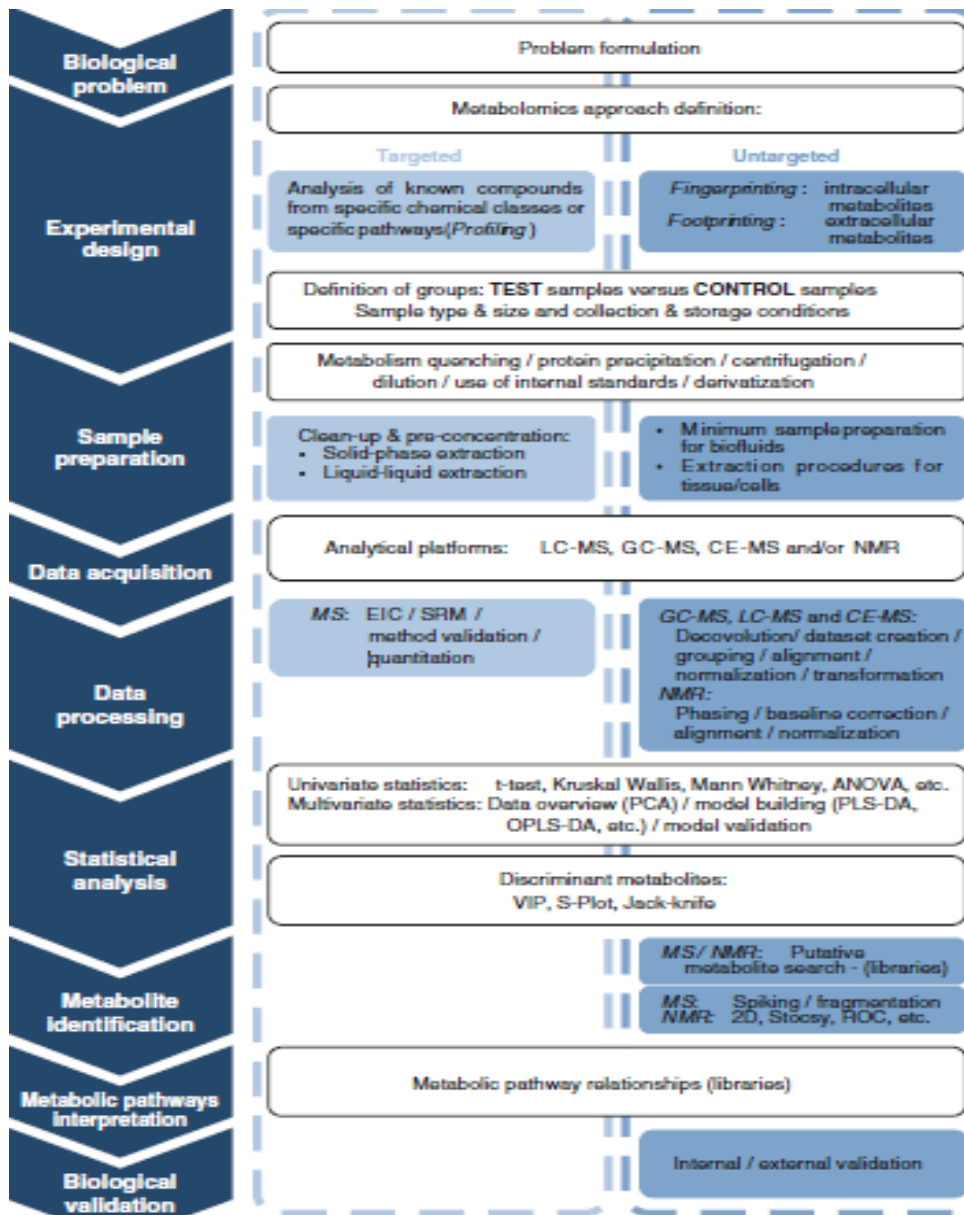


Figura 2. Pasos en investigación de la metabolómica

Fuente: Alessandra Sussolini *Metabolomics: From Fundamentals to Clinical Applications* 2017; Cap 1, Pag 8

### **2.3 Metabolómica en el paciente con hepatopatía crónica**

A través del tiempo, la metabolómica ha sido utilizada para el abordaje de muchos tipos de diagnóstico, incluyendo estudios acerca de las complicaciones y estrés oxidativo que ocurren en los pacientes diabéticos (19), en cuanto a enfermedades neoplásicas ha habido autores que han intentado enfatizar la importancia de establecer bases de datos que identifiquen los metabolitos implicados (20) e inclusive, se ha utilizado para perfilar metabólicamente de manera temprana la hepatotoxicidad inducida por acetaminophen (21).

Específicamente hablando de la patología a nivel del hígado, Qui *et al.* describieron la diferencia en perfil metabolómico entre 60 pacientes con diagnóstico de hepatitis B por antígeno de superficie y cirrosis descompensada/compensada y pacientes de un grupo control (22) y más tarde realizarían estudio donde se analizaron sujetos con hepatopatía por alcohol y hepatitis B contra grupo control encontrando similitudes en los perfiles de pacientes con hepatopatía crónica(23). También se han realizado estudios donde se han observado cambios metabolómicos a nivel de lipólisis, disminución en utilización de glucosa por glucolisis, aumento en catabolismo de proteínas y péptidos (24). Se encontró que existe una diferencia a nivel del perfil metabolómico entre pacientes con cirrosis secundaria a alcohol contra etiologías no alcohólicas donde se encontró la presencia en conjunto de betaína y citrulina como indicadores de daño por alcohol (25). De igual manera, se han realizado investigaciones para diferenciar enfermedad crónica agudizada y crónica, síndrome hepatorenal y daño glomerular, hepatocarcinoma y mortalidad (26–29).

Por último, hablando específicamente de EH, han habido algunos estudios que se han adentrado en la metabolómica del paciente con EHM ejemplo de esto fue el estudio conducido por Jiménez *et al.* donde compararon el perfil metabolómico de pacientes con EHM contra paciente cirróticos, observando un aumento a nivel del glicerol, lactato, metionina y óxido de trimetil-amina así como un decremento en niveles de acetoacetato, alanina, glicoproteínas alfa acidas, colina, glicina y niveles de lipoproteína de baja densidad (30); otro

estudio, encontró una diferencia en líquido cefalorraquídeo entre paciente con y sin diagnóstico de EH, donde se encontraron acumulación de compuestos acetilados en pacientes con EH, así como aumento en las concentraciones de metabolitos de amonio, aminoácidos y metabolismo energético(31). Bajaj *et al*, realizaron un ensayo clínico controlado entre pacientes con diagnóstico de cirrosis y EHM con administración de rifaximina 550 mg cada 12 horas donde se encontraron niveles aumentados de ácidos grasos de cadena larga, así como disminución en niveles de lipopolisacáridos (32).

## CAPÍTULO III

### HIPÓTESIS

**Hipótesis alterna (H):**

El perfil metabólico de los pacientes con diagnóstico de encefalopatía hepática grado III y IV en la escala de West Haven, presentan diferencias importantes entre sí, así como diferencias importantes con pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática sin EH.

**Hipótesis nula (H0):**

El perfil metabólico de los pacientes con diagnóstico de encefalopatía hepática grado III y IV en la escala de West Haven, no presentan diferencias importantes entre sí, y no existen diferencias importantes a los pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática sin EH.

# **CAPÍTULO IV**

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO**

Caracterizar el perfil metabólico encontrado en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática con encefalopatía hepática grados III y IV en la escala de West Haven mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- Caracterizar perfil metabólico mediante un análisis multivariado de pacientes con cirrosis hepática que tienen diagnóstico clínico de encefalopatía hepática en estadios III y IV en la escala de West Haven.
- Comparar perfil metabólico entre grupo de pacientes con cirrosis hepática sin EH y grupo con EH en grados III y IV en escala de West Haven.

## CAPÍTULO V

### JUSTIFICACIÓN

La diferenciación entre estadios severos de EH, a veces se ve comprometida por la incapacidad de identificar de manera objetiva los elementos que catalogan a los pacientes en una fase específica.

El análisis de perfil metabolómico podría contribuir a la evidencia existente la cual es poca en pacientes con cirrosis y diagnóstico de EH, para identificar metabolitos e intentar agregarse a bases de datos disponibles.

Resultados de este estudio podrían contribuir al inicio de ensayos clínicos controlados en los cuales se podrían identificar cambios en los metabolitos entre pacientes cirróticos con tratamientos diferentes para EH.

Observar alteraciones metabólicas que podrían correlacionarse con el perfil de alteraciones neurológicas existentes, pensando en marcadores de lesión neurológica, que sería esperado en pacientes con EH.

Un estudio de suero sanguíneo podría ayudar a identificar pacientes clasificados de manera errónea y clasificarse en el grupo al que se pertenece.

# CAPÍTULO VI

## MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se incluyeron paciente previamente reclutados en el protocolo MI21-00009 que tengan diagnóstico de encefalopatía hepática estadios III y IV de la clasificación de West Haven, y pacientes con diagnóstico de hepatopatía crónica sin encefalopatía hepática.

Diseño de estudio

- Observacional
- Corte transversal
- Analítico
- Prospectivo

### **6.1 Consentimiento Informado**

Se solicitó la exención del consentimiento informado escrito debido a que no se almacenarán muestras para estudios genéticos o posteriores ni se tomará un volumen grande de sangre. Sin embargo, antes de tomar la muestra se llevará a cabo un proceso de consentimiento informado verbal por parte del familiar o tutor, donde se explicará el objetivo del estudio, los riesgos de la punción, los beneficios de los hallazgos del estudio y que los beneficios no serán directos para el paciente. El paciente o su familiar son libres de rechazar la participación del Sujeto de Investigación, sin amonestaciones en su proceso diagnóstico-terapéutico en nuestra institución, respetando la libre autonomía del paciente.

Se identificó al paciente clínicamente en consulta o sala de internamiento de Medicina Interna, así como en la consulta de Unidad de Hígado, se le invitó a participar al familiar del paciente, debido a que, por las características clínicas, será difícil la obtención del consentimiento verbal por parte del paciente. Se mencionó que es una toma de muestra de sangre para análisis de los metabolitos que se encuentran en ella, y su interacción entre ellos. Además, se le explicaron los derechos, los mecanismos de confidencialidad y privacidad de



los datos que se obtengan, y de su función como sujeto de investigación. Se explicó al sujeto de investigación que el inicio del estudio iniciará después de la obtención de su consentimiento, en caso de que esté completamente informado y dé su consentimiento verbal. Se mencionó que no se resguardará la muestra para estudios posteriores.

## **6.2 Confidencialidad**

Para asegurar la confidencialidad en el estudio, la captura de datos de los sujetos se optó por anexarse a base de datos virtual sin especificar nombre exacto, contando solamente con iniciales, edad, sexo así como el diagnóstico de ingreso y los datos de laboratorio o clínicos que sean necesarios para poder cumplir el objetivo del estudio; la información permanecerá en el expediente y en equipo de computación instalada dentro de la institución sin exponerse a personas ajenas a la institución o que no formen parte de la investigación presente; en caso de que se requiera, la información se brindará a representantes de la Ley que comprueben el requerimiento de la información del paciente. La seguridad de la información será resguardada por la Facultad de Medicina y el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio Gonzalez” así como el investigador con intención de la protección de los datos previamente descritos.

El sujeto tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo con las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaria de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar el expediente clínico, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio u otra información personal.

### **6.3 Población de estudio**

El grupo caso lo constituirán pacientes mayores a 18 años de edad con diagnóstico de EH según criterios clínicos (escala West Haven, valoración neuropsicológica), así como bioquímicos e imagenológicos rutinarios con los que cuente ya el paciente en su expediente, que sugieran que el deterioro cognitivo es precisamente por agudización de una cirrosis hepática/hepatopatía crónica previamente establecida y excluyendo causas que puedan aparentar EH, tales como Traumatismo Craneoencefálico, estado epiléptico no convulsivo, Síndrome de abstinencia de alcohol, Síndrome de Wernicke-Korsakoff; causas metabólicas como hiponatremia, alcalosis metabólica e hipoglicemia. El reclutamiento de pacientes se hará en la Unidad de Hígado del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL y la sala de Medicina Interna del Hospital Universitario.

Los grupos se dividirán de la siguiente manera:

1. Paciente con EH grado III
2. Paciente con EH grado IV
3. Pacientes con enfermedad hepática crónica sin encefalopatía hepática.

Los pacientes se estratificaron a su vez en severidad de la hepatopatía según la escala de Child-Pugh y la escala MELD, para su comparación ulterior entre grupos. El diagnóstico de encefalopatía crónica para clasificar a los pacientes se hizo a partir del diagnóstico rutinario y confirmado por los médicos del estudio, a través de los criterios de West Haven y valoración neuropsicológica.

Todos los pacientes contaron con datos bioquímicos de estudios de laboratorio generales que normalmente son tomados por razón médica (pacientes en Medicina Interna y Unidad de Hígado). Esta muestra también se aprovechó para el análisis del perfil metabólico. Para finalidad de este estudio, se tomó una muestra de sangre venosa 10 mL en un tubo rojo para el análisis del perfil metabólico completo que se realizó en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear en la Universidad Autónoma Metropolitana.

#### **6.4 Criterios de inclusión**

- Pacientes mayores de 18 años
- Sexo indistinto
- Contar con diagnóstico de Hepatopatía Crónica de cualquier etiología
- Que ingresen al servicio de urgencias o consulta externa de Medicina Interna o Unidad de Hígado del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” UANL.

#### **6.5 Criterios de exclusión**

- Con alteración del estado de la consciencia con duda diagnóstica,
- Encefalopatía hepática agravada o encefalopatía de otra etiología/alteración del estado de la conciencia debido a causas secundarias tales como: traumatismo craneo encefálico (TCE), sangrado intracraneal, síndrome urémico, neuroinfección, intoxicación, metabólico, de abstinencia, de deficiencia nutricional u otro que no sea asociado al cuadro primario de agudizado de hepatopatía crónica.
- Pacientes con EH por Insuficiencia Hepática Aguda.
- Pacientes que no tengan laboratorios generales rutinarios en el expediente clínico
- Expediente incompleto

#### **6.6 Tamaño de la muestra:**

Se llevó a cabo un estudio poblacional. Nuestra población constó de 3 grupos previamente definidos.

#### **6.7 Lugar donde se desarrolló el proyecto:**

Este proyecto se desarrolló en la Unidad de Hígado y el Departamento de Medicina Interna del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” y en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de la Universidad Autónoma Metropolitana en colaboración con la Universidad de Chapingo.

## **6.8 Recursos e infraestructura:**

El proyecto contó con los recursos humanos e infraestructura de Unidad de Hígado del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL. Se desarrolló con recursos propios del servicio. La Unidad de Hígado cuenta con las instalaciones, el equipo y el personal técnico necesario para proyecto; así como con el recurso humano para la captura, análisis e interpretación de los resultados derivados del estudio. Se contó con la participación del Servicio de Medicina Interna para el apoyo en la interpretación y análisis de parámetros. El departamento de Química Analítica cuenta con recursos humanos e infraestructura para resguardar las muestras. Participación del laboratorio de resonancia magnética nuclear de la Universidad Autónoma Metropolitana para la realización de la RMN. Participación en el análisis de los espectros, su interpretación y cuantificación de metabolitos por parte del Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal, de la Universidad Autónoma Chapingo.

## **6.9 Estrategia general:**

### ***6.9.1 Reclutamiento de pacientes:***

Los pacientes fueron reclutados por el Departamento de Medicina Interna y la Unidad de Hígado del Hospital Universitario en cuestión por el médico residente internista que se encontraba realizando su guardia laboral. Se contactó posteriormente con el encargado del protocolo o investigador principal para proceder a la explicación del protocolo, reclutamiento. El procedimiento de identificación del expediente se hizo con sellos y documentos autorizados por parte del Comité de Ética del hospital los cuales están en sus correspondientes lugares en el expediente del paciente, así como se anexará una copia del consentimiento informado firmado por familiar o representante legal. Para finalidad de este estudio, se tomó una muestra de sangre venosa 10 mL en un tubo rojo para el análisis del perfil metabólico completo que se realiza Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de la Universidad Autónoma Metropolitana.

### **6.9.2 Preparación de la muestra**

Al tomar la muestra de sangre venosa 10 mL en un tubo rojo, esta se procedió a centrifugar para la obtención del suero, el cual se alicuotó en crioviales para ser almacenada a -70° C hasta su posterior análisis metabólico por RMN. Al realizar el análisis metabólico, las muestras de suero se descongelaron y se prepararon añadiendo 400 µL de buffer de fosfato de sodio (buffer: 200 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 55 mM TMS<sup>+</sup>P en 20% de agua deuterada, pH 7.4) a 400 µL de suero. Las muestras se homogenizaron en vórtex y se centrifugaron a 12 000x g por 5 min a 4°C, se tomaron 700 µL del sobrenadante y se analizaron de forma inmediata. Las muestras fueron analizadas en Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de la Universidad Autónoma Metropolitana en un equipo de RMN Agilent de 600 MHz, a temperatura controlada a 298 K. Los datos de RMN a 600 MHz se obtuvieron a través del experimento Carr–Purcell–Meiboom–Gill (CPMG) con presaturación, el cual permitió eliminar la detección de la señal del agua y filtrar las señales de las proteínas presentes en el suero aprovechando las diferencias de relajación entre estas macromoléculas y los metabolitos.

### **6.9.3 Obtención de los espectros**

Los espectros de RMN se preprocesaron con el software MNova y se analizaron en una plataforma de análisis estadístico multivariable (Metaboanalyst). Con esta plataforma es posible realizar la normalización absoluta de las señales del espectro y la segmentación en bloques, dando así datos necesarios para efectuar el análisis estadístico multivariable por PCA y regresión PLS-DA con el 95% de confianza. De manera adicional, para encontrar o identificar señales de metabolitos diferenciales se tuvo acceso a bases de datos públicas en este respecto, tales como Human Metabolome Data Base y bases bajo licencia como Chenomx Suite, con las cuales podremos proponer la presencia de algún metabolito determinado.

Cabe mencionar que las muestras obtenidas en este estudio no fueron almacenadas ni utilizadas para la creación de líneas celulares permanentes o inmortales.

### **6.10 Análisis estadístico:**

Se obtuvieron los perfiles de RMN a partir del espectro de  $^1\text{H}$ . Adicionalmente, la asignación de las señales se realizó siguiendo 2 enfoques. Primero, comparando desplazamientos químicos, multiplicidad y constantes de acoplamiento del espectro con los datos bibliográficos y bases de datos espectrales de RMN como BMRB, MDL HMDB o la Biblioteca de Lípidos AOCS. En segundo lugar, mediante la verificación de las señales características de los metabolitos a través de la realización de un conjunto de experimentos de RMN bidimensionales y el análisis concertado de los resultados obtenidos empleando las estrategias básicas de RMN seguidas para la caracterización estructural, que se aplican para la elucidación de mezclas complejas de metabolitos.

### **6.11 Análisis estadístico multivariable.**

Una vez obtenidos los perfiles metabolómicos por RMN se realizó el análisis quimiométrico para determinar diferencias entre grupos. Esto se llevó a cabo utilizando una aproximación estadística, tanto uni como multivariable. Los métodos univariados, se utilizaron para explorar las diferencias entre compuestos individuales entre las muestras e identificar si un metabolito específico está en mayor o menor cantidad en los distintos grupos. Los métodos no supervisados se emplearon para tener una visión general de los datos del estudio metabolómico. Después de esto se utilizó el programa Chenomx que arrojó la cuantificación específica de los metabolitos dependiendo de su señal en el espectro. Se transfirieron los datos a documento de Microsoft Office Excel el cual se utilizó para señalar los diferentes metabolitos con sus diferentes concentraciones. Se creó un índice metabolito/creatinina por cada uno de los metabolitos cuantificados y se dividió un set completo de perfiles de metabolito por paciente previamente clasificado en uno de los grupos de estudio (Sin encefalopatía, EH WH III, EH WH IV). Se accedió a la plataforma Metaboanalyst 5.0 de internet para análisis estadístico metabolómico. Se normalizó la muestra a través de del auto escalado (centrado en medias y dividido por la desviación estándar de cada variable). Se seleccionó un análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) el cual termina por realizar el análisis de los diferentes

perfiles metabólicos que caracterizan a cada uno de los grupos estudiados a través de gráficos 2D y 3D, así como medidas de importancia.

### **Objetivos secundarios**

Para las variables cuantitativas incluyendo edad, laboratorios y escalas, dependiendo de la distribución de las variables utilizando la prueba de Shapiro-Wilk, se decidió realizar reporte de resultados en media y desviaciones standard en caso de tener una distribución normal, y mediana con rangos Inter cuartiles en caso de tener una distribución anormal.

Para el análisis de las diferencias entre los tres grupos entre las variables de edad, laboratorios y escalas, se tomó en cuenta la normalidad con la prueba mencionada previamente y se decide utilizar prueba de ANOVA de un factor para las muestras paramétricas, así como Kruskal Wallis en caso de no serlo. Se tomo una  $p < 0.05$  como resultado significativo.

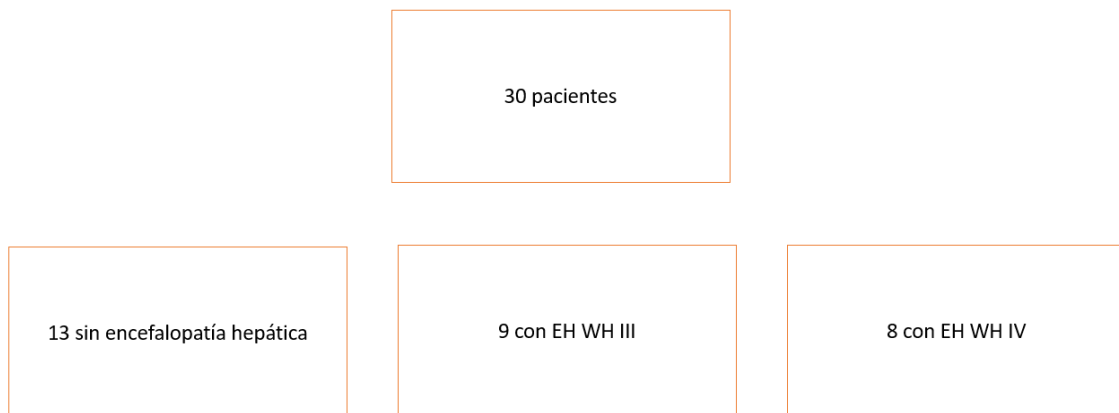
Para las variables de índices de metabolitos y las diferencias entre los grupos se tomó en cuenta la normalidad con la prueba mencionada y se reportan resultados en media y desviaciones standard en caso de tener una distribución normal, y mediana con rangos Inter cuartiles en caso de tener una distribución anormal. Para las diferencias entre los grupos se utilizó ANOVA de un factor para las muestras paramétricas, así como Kruskal Wallis en caso de no serlo. Se tomo una  $p < 0.05$  como resultado significativo.

Para el análisis de sensibilidad y especificidad por metabolito en relación con la presencia o no de EH WH IV, se utilizaron las curvas ROC como predictores. Se toma un valor arriba de 0.7 como significativo en el área debajo de la curva y finalmente el índice de Youden para encontrar el área con más poder balance.

## CAPÍTULO VII

### RESULTADOS

Se incluyeron 30 pacientes, de los cuales 13 corresponden a controles con hepatopatía sin EH, 9 tienen EH grado III, y 8 con EH grado IV **Figura 3**.



**Figura 3.** Distribución de los pacientes en los diversos grupos de estudio

#### 7.1 Características descriptivas de población

Los resultados de la tabla muestran datos clínicos de un grupo de pacientes. La edad promedio de los pacientes fue de 54 años (48-60). La distribución por sexo fue de 17 (57%) pacientes masculinos y 13 pacientes (43%) femeninos.

En cuanto a los grupos de estudio, 13 pacientes se consideraron como hepatopatías sin un grado de EH (43%), 9 en los pacientes con EH grado III y 8 del grado IV (30%) cada uno.

#### 7.2 Características pato clínicas

La **Tabla 5** refleja el análisis entre grupos respecto a variables cuantitativas; La edad promedio varió entre los grupos, con una mediana de 51 años (RIC 41 - 57) para el grupo de controles, 60 años (RIC 47-67) para el grupo WH III y 55.5 años (RIC 48-59) para el grupo WH IV. La diferencia en las edades no fue estadísticamente significativa ( $p= 0.385$ ).

Se encontraron diferencias significativas en los niveles de hemoglobina, con un promedio de  $10.7 \pm 2.8$  en el grupo de controles,  $7.6 \pm 2.4$  en el grupo WH III y



9.7  $\pm$ 2.3 n el grupo WH IV (p= 0.035). En cuanto los leucocitos encontramos una diferencia significativa entre los grupos con predominancia de diferencia entre el grupo WH IV y los controles sin encefalopatía (p=.011). Sin diferencias en cuanto a plaquetas.

**Tabla 5. Parámetros paraclínicos con comparaciones entre grupos**

n= 30	Controles n=13	WH III N=9	WH IV n=8	Valor de p
<b>Biometría Hemática</b>				
Edad	54 (RIC 41-57)	60 (RIC 47-67)	55.5 (RIC 48-59)	P= .385
Hemoglobina*	10.7( $\pm$ 2.8)*	7.6 ( $\pm$ 2.4)*	9.7 ( $\pm$ 2.3)	<b>P= .035</b>
Plaquetas	107 (RIC 65-164)	94.8 ( $\pm$ 79.6)	76.9 (RIC 74-118)	p= .315
Leucocitos	5.4 ( $\pm$ 2.9)*	4.7 (RIC 3.6 – 11.6)	14.1 ( $\pm$ 6.9)*	<b>p= .011</b>
<b>Química Sanguínea</b>				
Glucosa	103 (RIC 88-128)	127.3 ( $\pm$ 51.5)	135.5 (RIC 107-175)	P= .175
Creatinina	.6 (RIC .5-.8)**	3 ( $\pm$ 2.1)*	2.3 ( $\pm$ 1.6)*	<b>p= .002</b>
BUN	12.92 ( $\pm$ 5.1)**	65.6 ( $\pm$ 45)*	59.8 ( $\pm$ 42)*	<b>p= &lt;.0001</b>
Ácido Úrico	4.5 ( $\pm$ 1.7)**	9.2 ( $\pm$ 5.1)*	7.8 ( $\pm$ 3.4)*	<b>p= .005</b>
<b>Pruebas de Función Hepática</b>				
AST	46.5 ( $\pm$ 22)*	90 ( $\pm$ 42)*	61.1 ( $\pm$ 46)	<b>p= .036</b>
BT	1.2 (RIC .9- 4.7)*	4.3 (RIC 2.2-14.8)*	3.6 (RIC 1.8-9.1)	<b>p= .02</b>
ALT	25 (RIC 23-40)	34.3 ( $\pm$ 14)	28 (RIC 18-39)	p=.379
ALP*	142 ( $\pm$ 67)	122.8 ( $\pm$ 49)	103.7 ( $\pm$ 50)	P= .346
Albúmina*	2.8 ( $\pm$ 1)*	2 ( $\pm$ .5)*	2.4 ( $\pm$ .4)	<b>P= .010</b>
<b>Escalas</b>				
MELD*	2.9 ( $\pm$ 0.9)**	1.9 ( $\pm$ .44)*	2.4 ( $\pm$ .47)*	<b>P= &lt;.001</b>

WH III (West Haven III), WH IV (West Haven IV), AST (Aspartato aminotransferasa), ALT (Alanina aminotransferasa), BT (Bilirubina Total), ALP (Fosfatasa Alcalina), RIC (Rango Intercuartil) \*En la primera columna indica si se realizó un análisis con ANOVA en caso de no indicarse, se utilizó Kruskal-Wallis. \* En las demás columnas la ausencia de un doble asterisco indica que la variable de ese grupo tiene una diferencia significativa con el otro grupo con asterisco único \*\* Se utiliza cuando la variable de un grupo tiene diferencias significativas individualmente contra cada grupo que contenga solamente un asterisco sin diferencias entre las variables con asterisco individual.

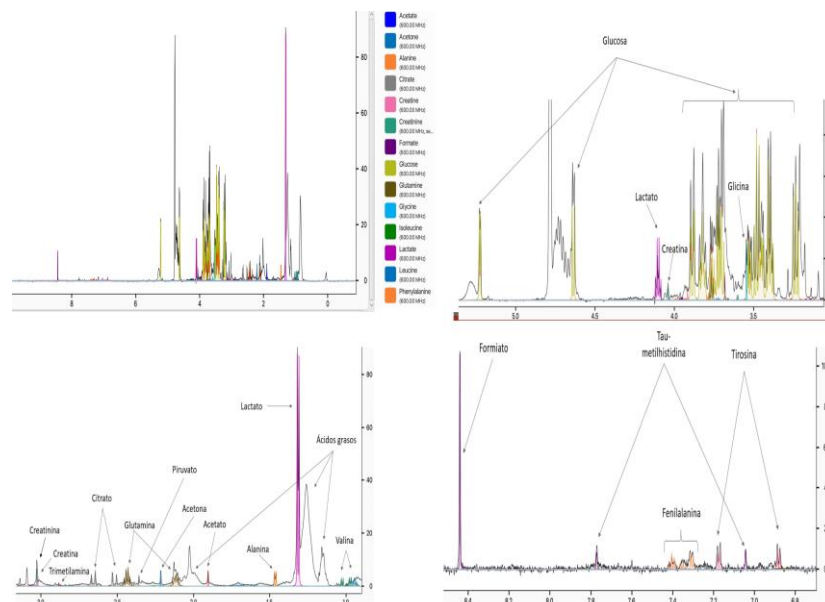
En la química sanguínea, se observaron diferencias significativas entre los grupos en la creatinina, BUN y ácido úrico con diferencia importante entre todos los grupos.

En cuanto a las pruebas de función hepática, se observaron diferencias significativas entre los grupos de los niveles de AST, BT y albúmina principalmente entre el grupo sin encefalopatía y EH WHIII.

Los pacientes sin encefalopatía hepática mostraron diferencias significativas en el resultado de MELD comparándose con los pacientes con diagnóstico de EH en estadios III y IV.

### 7.3 Perfil metabolómico e identificación del metabolito

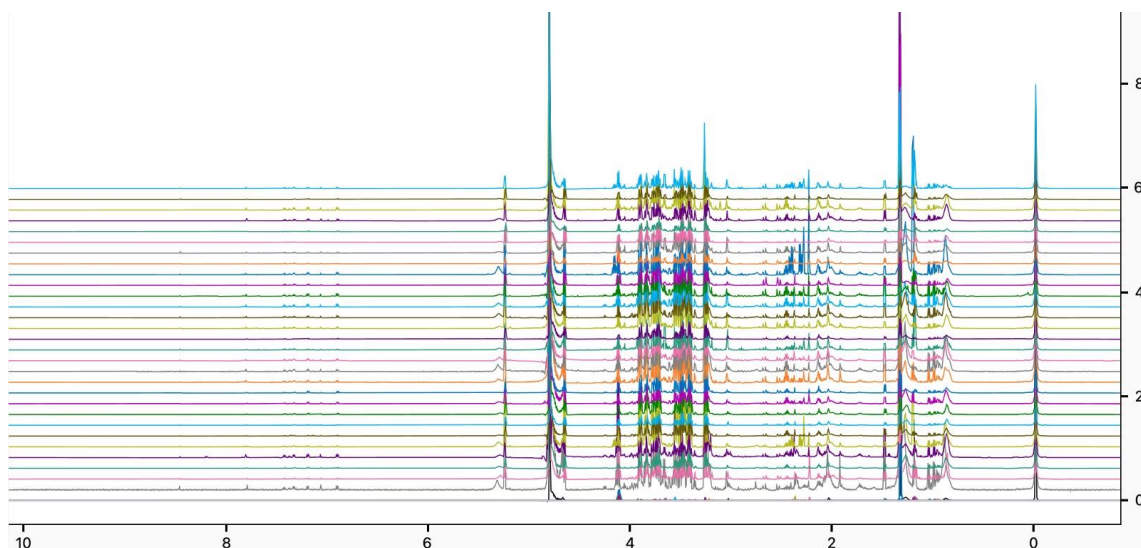
El análisis de espectros y su interpretación puede verse ejemplificado en la **Figura 4**, donde se observa el espectro de un paciente con EH WH III con el señalamiento respectivo de cada metabolito según la señal obtenida.



*Figura 4. Espectro de 1H-RMN de suero de un paciente con EH WH III (600 MHz, 10% D<sub>2</sub>O), en donde se observan las señales características de los metabolitos séricos con diferentes acercamientos por secciones del perfil para la visualización completa de los metabolitos.*

Se analizaron y compararon los espectros de los grupos de pacientes de manera macroscópica utilizando gráficos donde se pudo observar un aumento en las intensidades de las señales de ciertos metabolitos como lo fueron el

lactato, glucosa y etanol a través de todos los espectros, así como una disminución generalizada en la señal de los demás metabolitos (**Figura 4**). Se analizaron y compararon por grupos las señales del perfil metabolómico demostrando una disminución progresiva de ciertos metabolitos (**Figura 5**).



**Figura 5.** Espectro de  $1H$ -RMN de suero de un paciente con EH III y IV así como sin encefalopatía (600 MHz, 10%  $D_2O$ ), en donde se observaron las señales características de los metabolitos séricos con diferentes acercamientos por secciones del perfil para la visualización completa de los metabolitos.

## 7.4 Cuantificación de los metabolitos y análisis multivariado

El análisis de la cuantificación de los metabolitos se llevó a cabo a través del programa Chemomx con el cual obtuvimos las concentraciones de 43 metabolitos: 3-Hidroxi butirato, 3-Hidroxiisobutirato, Acetato, Acetoacetato, Acetona, Alanina, Arginina, Betaína, Carnitina, Colina, Citrato, Creatina, Etanol, Fosfato de Creatina, Creatinina, Cisteína, Dimetilsulfona, Formato, Glucosa, Glutamato, Glutamina, Glicerol, Glicina, Histidina, Isoleucina, Lactato, Leucina, Lisina, Manosa, Metanol, Metionina, N-acetilglutamina, Ornitina, Fenilalanina, Prolina, Propilenglicol, Piruvato, Serina, Treonina, Óxido de Trimetilamina N, Tirosina, Valina y Tau-Metilhistidina. Después de esto se decidió realizar un

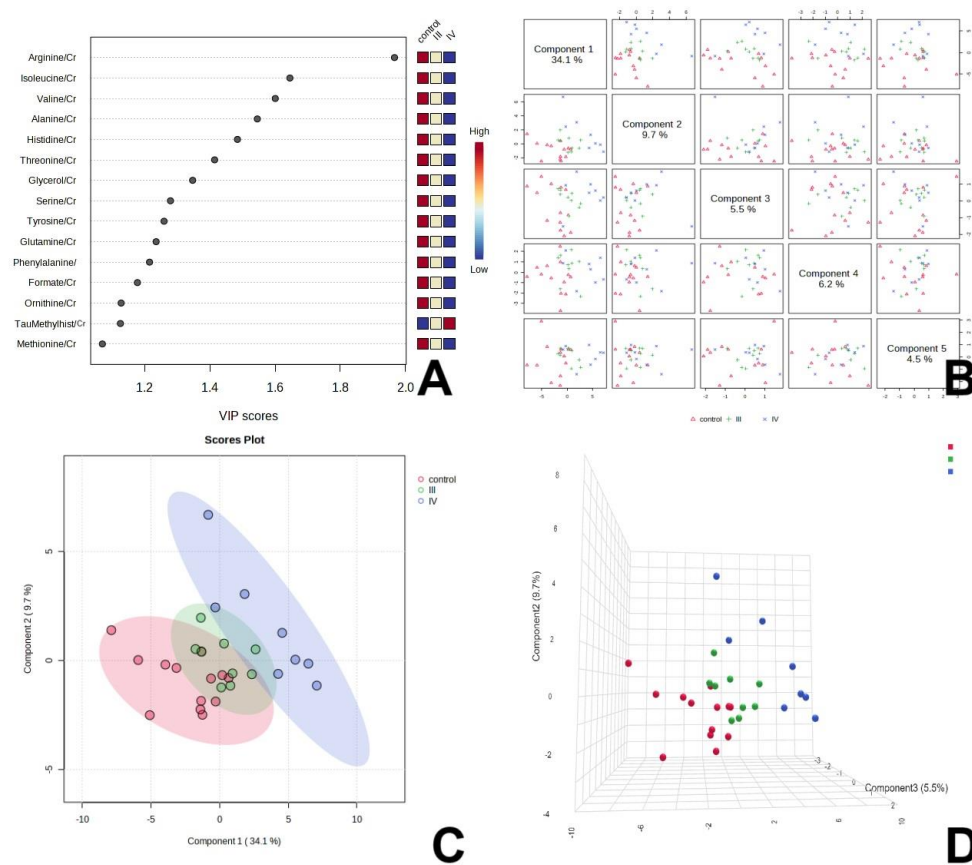
ajuste a cada uno de estos metabolitos respecto a la creatinina obtenida de la misma forma finalmente contando con las diferentes concentraciones del metabolito por paciente (**Figura 6**).

Identificador de la muestra	Patient ID	Grupo de estudio	Encefalopatía 3_Hydroxybut 3_Hydroxyiso Acetate	Acetoacetate Acetone	Alanine			
	SIMG_003	control	1.829	0.421	1.523	0.489	1.695	11.723
	LMVM_004	control	2.892	0.318	1.037	0.37	1.66	8.391
	BAAH_008	control	3.895	0.453	1.711	0.527	1.594	16.094
	MAL_009	control	0.494	0.473	6.381	0.132	0.514	9.97
	LDGS_011	control	2.496	0.241	2.953	0.166	1.723	5.622
	EJH_012	control	1.733	0.244	3.615	0.112	0.551	9.389
	IGO_017	control	4.61	0.961	2.171	1.075	14.455	9.771
	SMR_035	control	0.825	0.366	1.07	0.368	1.31	9.802
	BEGC_036	control	39.407	0.363	1.775	19.053	3.847	4.177
	BCMM_038	control	5.693	0.506	1.233	1.429	1.722	10.281
	BFCR_040	control	1.603	0.486	1.835	0.775	0.689	4.162
	MECA_042	control	1.083	0.488	1.058	0.613	0.664	6.694
	ISC_025	control	9.292	0.243	0.483	3.331	3.367	5.468
	ESC_026	control	0.737	0.268	0.8	0.237	1.054	7.744
	WHIII_01	III	3.383	0.167	1.069	0.173	1.214	5.059
	WHIII_04	III	0.87	0.672	0.934	0.338	0.547	1.379
	WHIII_05	III	2.833	0.404	2.651	0.417	2.18	7.797

**Figura 6:** Base de datos mostrando distribución de cocientes de metabolitos/ creatinina por paciente.

Después de esto se llevó a cabo el análisis multivariado de PLS-DA (**Figura 7**). Se demostró una diferencia significativa entre los tres grupos estudiados en cuanto a concentración de metabolitos. Se encontró una disminución progresiva de los metabolitos arginina, isoleucina, valina, alanina, histidina, treonina, glicerol, serina, tirosina, glutamina, fenilalanina, formiato, ornitina y metionina conforme aumenta la severidad de encefalopatía hepática encontrándose mayores concentraciones en pacientes con hepatopatía crónica sin encefalopatía, después los pacientes con EH WH IV y finalmente los que correspondían al grupo de EH WH IV. Al contrario de los metabolitos previamente mencionados, se encontró una relación a la inversa con el aminoácido tau-metilhistidina el cual aumento en concentración conforme aumentaba la encefalopatía hepática (**Figura 7A**). La **Figura 7B** muestra diferencias importantes entre los grupos por gráficos de componentes. Se

obtuvieron dos gráficos que señalan la diferencia en metabolitos entre grupo a través de gráficos 2D y 3D (**Figura 7C y D**).

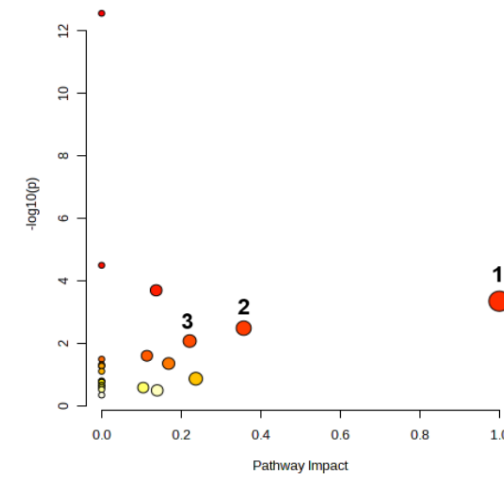


**Figura 7.** Resultado de análisis multivariado metabolómico con PLS-DA, **A.** Mediciones de importancia donde se observa concentraciones relativas de metabolito dependiendo del grupo al que pertenecen. **B.** Varianza explicada para componente. **C.** Gráfico de contribuciones (scores) de modelo de PLS-DA en 2D que muestra diferencias por grupo de estudio **D.** Gráfico de contribuciones (scores) en 3D que muestra diferencias por grupo de estudio.

## 7.5 Vías metabólicas

Utilizamos la plataforma MetaboAnalyst 5.0 para la identificación de las vías metabólicas relacionadas a los metabolitos identificados como significativos. Se identificaron tres vías metabólicas significativas y con impacto las cuales fueron la vía del metabolismo de la fenilalanina, tirosina y biosíntesis de triptófano,

metabolismo de fenilalanina y el metabolismo de histidina (**Figura 8**). La **Tabla 6** muestra un análisis de las vías metabólicas implicadas con sus valores de impacto, significancia etc.



**Figura 8.** Gráficos de correlación de significancia en la afectación de la ruta metabólica [Impacto en la ruta vs.  $-\log(p)$ ] obtenidos con el módulo Pathway Analysis del programa MetaboAnalyst 5.0. (1) Metabolismo de la fenilalanina, tirosina y biosíntesis de triptófano (2) Metabolismo de fenilalanina (3) Metabolismo histidina.

**Tabla 6.** Análisis de las vías metabólicas significativas

Ruta metabólica	URL <sup>a</sup>	Número de metabolitos implicados	$p^b$	$-\log(p)^c$	Holm $p^d$	FDR <sup>e</sup>	Impacto
Fenilalanina, tirosina biosíntesis de triptófano.	<a href="https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00400">https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00400</a>	2/4	4.5013E-4	3.3467	.036461	.0094528	1
Metabolismo de fenilalanina	<a href="https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00360">https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00360</a>	2/10	.0032727	2.4851	.26182	.054982	0.35714
Metabolismo de histidina	<a href="https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00340">https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa00340</a>	2/16	.0084606	2.0726	.66839	0.11845	0.22131

a) Para cada ruta metabólica se indica el código de registro en la base de datos KEGG junto con la URL correspondiente.

- b) El valor  $p$  calculado para el análisis de la ruta metabólica refleja la probabilidad de obtener una diferencia igual o mayor que la observada cuando la hipótesis nula es cierta.
- c) Un valor  $-\log(p)$  alto se correlaciona con un mayor impacto en el flujo metabólico.
- d) Holm  $p$  es el valor de la significación dependiente del número de comparaciones ajustadas al valor  $p$  mediante el método de Holm Bonferroni; esta prueba estadística es utilizada en comparaciones múltiples para controlar errores tipo I asociados con el nivel de alfa.
- e) FDR (False Discovery Rate) es la probabilidad de que una hipótesis nula sea cierta habiendo sido rechazada por la prueba estadística; es utilizada como herramienta estadística en correlaciones múltiples para identificar errores tipo I. En el análisis global de los datos, valores incrementados (próximos a 1) tanto de Holm  $p$  como de FDR podrían indicar un falso positivo.

## 7.6 Análisis secundario de los metabolitos

El análisis secundario de los datos, se encontraron significancias importantes entre algunos metabolitos y los grupos, siendo estos: Acetato, dimetil-sulfona, fenilalanina, glicerol, glicina, glutamina, histidina, isoleucina y tau-metilhistidina. Se encontraron diferencias importantes entre los grupos III y IV en las concentraciones de los metabolitos dimetil-sulfona, glicerol y glutamina; Se encontraron diferencias importantes entre el grupo IV y el grupo sin encefalopatía en estos metabolitos: acetato, fenilalanina, glicerol, glicina, glutamina, histidina, isoleucina y tau-metilhistidina. La **Tabla 7** muestra estos resultados y su comparación en concentraciones entre los grupos.

**Tabla 7. Análisis secundario de los metabolitos estadísticamente significativos y su comparación entre los grupos.**

	SE n=13	WH III n=9 mM	WH IV n=8 mM	Significancia
Acetato/Cr	1.5 (RIC 1-2.3)*	1.07(RIC .88-1.6)	.79(±.37) *	$p=.025$
Dimetil-sulfona/Cr	.16 (RIC .08-.29)	.26(±.15) *	.09(±.048) *	$p=.008$
Fenilalanina/Cr	2.18 (RIC 1.8-2.5)*	1.7 (±.51)	1.25(±.98)*	$p=.008$
Glicerol/Cr	3.1(±1)*	3 (±.85)*	1.5(±1.13)**	$p=.015$
Glicina/Cr	8.6 (RIC 6.4-10.8)*	7 (RIC 6.6-11.9)	4.8(±2.8)*	$p=.022$
Glutamina/Cr	14.4(±10.2)*	12.2 (±4.3)*	4.6 (RIC 3.8-6.8)**	$p=.012$
Histidina/Cr	2.3 (1.7-2.9)*	1.8 (RIC 1.58-2.1)	1.12(±.56)*	$p=.002$
Isoleucina/Cr	1.6(±.57)*	1.07(±.42)	.68(±.5)*	$p=.002$
Tau-metilhistidina/Cr	.16(±.11)*	.16(±.07)	.23 (RIC .18-.70)*	$p=.032$

EH WH III, SE (Sin encefalopatía), EH WH IV, Cr (Creatinina) RIC (Rango Inter cuartil) \*Indica elemento que presenta diferencia significativa respecto al otro elemento con esta marca en la misma fila\*\* Diferencia con ambos grupos respecto a esa variable. Kruskal Wallis para todos los metabolitos excepto glicerol en donde se utilizó ANOVA de un factor.

Se decidieron realizar curvas ROC en relación a los metabolitos encontrados como significativos para encontrar un punto de corte en el cual se pudiera predecir el hallazgo de EH WH III y IV, obteniendo como único resultado valioso lo mostrado en la **Tabla 8**, donde solo se encontró una relación importante de los metabolitos en relación con la EH WH IV; el metabolito dimetil-sulfona fue el único metabolito predictor débil de encefalopatía grado III con una sensibilidad de 78%, especificidad de 76% AUC=.759 (.54).

**Tabla 8. Datos de las curvas ROC realizadas en los diferentes puntos de corte significativos en relación con la encefalopatía WH IV.**

	WH IV
Acetato/Cr	<.95mM/Cr mM S: 75% E: 82% AUC: .801 (.56)
Dimetil-sulfona/Cr	<.105mM/Cr mM S: 75 E: 77% AUC: .847 (.52)
Fenilalanina/Cr	<.1.8 mM/Cr mM S: 87 E: 68% AUC: .801 (.55)
Glicerol/Cr	<1.9mM/Cr mM S: 75% E:100% AUC: .852 (.75)
Glicina/Cr	<6.3mM/Cr mM S: 75% E:82% AUC: .852 (.57)
Glutamina/Cr	<7.3mM/Cr mM S: 87% E:87% AUC: .858 (.74)
Histidina/Cr	<.1.3mM/Cr mM S: 75% E: 100% AUC: .892 (.75)
Isoleucina/Cr*	<.1.3mM/Cr mM S: 75% E: 91% AUC: .849 (.66)
Tau-metilhistidina/Cr*	>.165mM/Cr mM S: 100% E: 63% AUC: .818 (.63)

WH IV (West Haven IV), Cr (Creatinina), Mm (miliMoles), S (Sensibilidad), E (Especificidad), AUC (Área debajo de la Curva por sus siglas en inglés), Índice de Youden entre los paréntesis.



## CAPÍTULO VIII

### DISCUSIÓN

La encefalopatía hepática representa en sus etapas tempranas y tardías un reto clínico. Las herramientas pato clínicas disponibles fallan a la hora de la búsqueda de parámetros confiables y objetivos que puedan reflejar el estado del paciente. El amonio en sangre no es útil como prueba de tamizaje en los pacientes con encefalopatía hepática(33); esto ha generado la necesidad de buscar marcadores que pudieran predecir el estado del paciente. En este momento es donde la metabolómica entra a nuestro contexto e intenta revolucionar este campo. Pelle *et al.* cita muchos de los hallazgos en la actualidad respecto a la metabolómica y la EH(34).

La metabolómica se ha descrito con detalle en los párrafos previos, pero es importante recordar que se ha utilizado desde hace mucho para intentar encontrar el perfil metabolómico de patologías relacionadas al hígado incluyendo carcinoma hepatocelular, predicción temprana, de lesión hepática en pacientes con consumo excesivo de paracetamol, diferencia entre el perfil en pacientes cirróticos por consumo de alcohol e infección por hepatitis B, hepatitis alcohólica, patología crónica agudizada del paciente con hepatopatía crónica y las diferencias entre los pacientes cirróticos compensados y descompensados(35–40)

Jiménez *et al.* en el año 2010, fueron los primeros en intentar encontrar un perfil metabolómico utilizando RMN en el paciente con diagnóstico de EHM, donde incluyó 62 pacientes con cirrosis sin EHM y 39 pacientes con EHM; lograron encontrar una disminución en los lípidos, alanina, colina, isoleucina, leucina, valina, glicoproteínas acetiladas, acetoacetato, glicina, grasas insaturadas y un aumento importante en N-óxido trietilamina, lactato, metionina y glicerol (30) nuestros resultados al contrario de estos hallazgos, encontramos que conforme aumentaba la severidad de la encefalopatía, existió una disminución de algunos de estos metabolitos incluyendo la alanina, isoleucina, valina, lactato, metionina

y glicerol(30). Bajaj *et al.* utilizaron la EM y cromatografía líquida/gaseosa para reportar diferencias en los pacientes después del tratamiento con rifaximina y observaron un aumento en ácidos grasos saturados e insaturados (41), en nuestro estudio observamos en la caracterización macroscópica un aumento global de los ácidos grasos.

Dabos *et al.* en el año 2015 caracterizaron el perfil entre pacientes sanos, cirróticos y cirróticos con EH (con exclusión de grados III y IV) y a comparación de los otros grupos, encontraron un aumento en aminoácidos (acetoacetato, leucina, isoleucina, tirosina), un resultado intermedio en los productos de glicolisis, productos de gluconeogénesis e intermediarios en el ciclo de la urea (lactato, piruvato, alanina, glicina, treonina, glutamina, glutamato, histidina, arginina y aspartato (42); al compararlo con nuestros resultados encontramos una disminución global del paciente con EH grave en los aminoácidos arginina, isoleucina, histidina, treonina, tirosina y glutamina.

Weiss *et al.* en el año 2016 demostraron a través de EM/Cromatografía líquida en líquido cefalorraquídeo, un aumento en la glutamina y ácido glutámico los cuales reflejaron alteraciones a nivel de la vía metabólica relacionada con la detoxificación cerebral del amonio, aumento importante en metabolitos relacionados con la obtención de energía como lo es la carnitina y disminución de creatinina; aumento global en componentes acetilados con disminución de sus contrapartes; aumento en la fenilalanina, tirosina, triptófano y 5 de los metabolitos de sus vías metabólicas y otros dos metabolitos de fenilalanina; aumento en metabolitos del ciclo de metilación (metionina, metionina de sulfóxido, n-formilmetionina)(43).

Mc Phail *et al.* evaluaron metabolitos de muestras de orina a través de RMN y pudieron caracterizar un perfil diferente entre los pacientes sin EH y con ella, pero no pudo encontrar una diferencia importante entre los pacientes con diferentes grados; es importante mencionar que dentro de sus criterios de exclusión se tomó la decisión de descartar muestras con picos de glucosa y etanol (44) a diferencia de nuestro estudio donde si se tomaron en si se logró

encontrar una diferencia entre el perfil de 13 metabolitos en los diversos grupos de estudio analizados que permitieron diferenciar a estos grupos.

Nuestro estudio es el primero en buscar intencionadamente la caracterización de un perfil metabólico entre los pacientes con EH grados III y IV y de esta forma evidenciar la repercusión real que tienen estas clasificaciones clínicas sobre las diferentes vías metabólicas. A diferencia de los diferentes estudios encontrados en la literatura, los metabolitos encontrados como importantes para la diferenciación en los perfiles en nuestra población mostró la disminución de la mayoría exceptuando la tau-metilhistidina la cual claramente aumentaba conforme aumentaba el grado de encefalopatía. Al encontrar un aumento en severidad de la clínica se podría esperar encontrar una disminución progresiva de arginina, isoleucina, valina, alanina, histidina, treonina, glicerol, serina, tirosina, glutamina, fenilalanina, formiato, ornitina y metionina.

Las vías metabólicas de la fenilalanina, tirosina y triptófano, fenilalanina e histidina, se han descrito en otros estudios como se mencionó en los párrafos previos lo cual aporta impacto mayor a nuestros hallazgos. Es interesante notar la predominancia de afección a nivel de aminoácidos a comparación de otros metabolitos.

## CAPÍTULO IX

### CONCLUSIONES

Se obtuvo perfil metabolómico de los tres grupos de estudio identificándose 45 metabolitos y cuantificándose solo 43. Posteriormente, se obtuvieron los cocientes de concentración metabolito/ creatinina. De estos solo 15 metabolitos son los que hacen una distinción específica en el espectro de EH fueron los cocientes de y arginina, isoleucina, valina, alanina, histidina, treonina, glicerol, serina, tirosina, glutamina, fenilalanina, formiato, ornitina, metionina y tau-metilhistidina.

Mediante el análisis de PLS DA se logró diferenciar un perfil metabólico específico de cada grupo de estudio, así como la implicación de las vías metabólicas de la fenilalanina/ tirosina/ triptófano, fenilalanina e histidina.

# CAPÍTULO X

## ANEXOS



Formato protocolo: "Caracterización del perfil metabólico sérico de pacientes con de Encefalopatía Hepática Grados III y IV"  
Dra. en C. Paula Cordero, investigadora principal  
Dr. Luis Gonzalez, tesista

Nombre: \_\_\_\_\_  
Edad: \_\_\_\_\_ Registro: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

### Historia Clínica

Hepatopatía Crónica: si \_\_\_\_ no \_\_\_\_

Tiempo de evolución: \_\_\_\_\_

Diagnóstico etiológico: alcohol \_\_\_\_ viral \_\_\_\_ NASH \_\_\_\_ autoinmune \_\_\_\_ DILI \_\_\_\_ en abordaje \_\_\_\_ desconocida \_\_\_\_ otros \_\_\_\_ en caso de otros, ¿Cuál? \_\_\_\_\_

### Ha tenido o consumido...

Consumo de alcohol: si \_\_\_\_ inactivo \_\_\_\_; cantidad de consumo (gr/sem.): \_\_\_\_\_; si inactivo, cuando suspende: \_\_\_\_\_, Tabaquismo: \_\_\_\_ Marihuana: \_\_\_\_ Cocaína: \_\_\_\_ Anfetaminas: \_\_\_\_ Inhalantes: \_\_\_\_ Otras drogas: \_\_\_\_ Suplementos: \_\_\_\_\_

### Antecedentes de:

STDA: \_\_\_\_; si: \_\_\_\_ no: \_\_\_\_ desconoce: \_\_\_\_ Colonoscopia previa: \_\_\_\_\_

Ascitis clínica: si: \_\_\_\_ no: \_\_\_\_ desconoce: \_\_\_\_\_

PBE: si: \_\_\_\_ primer episodio?: \_\_\_\_ no: \_\_\_\_ desconoce: \_\_\_\_\_

Encefalopatía hepática: si: \_\_\_\_ no: \_\_\_\_ desconoce: \_\_\_\_\_

Sd. Hepatorrenal: si: \_\_\_\_ no: \_\_\_\_ desconoce: \_\_\_\_\_

Sd. Hepatopulmonar: si: \_\_\_\_ no: \_\_\_\_ desconoce: \_\_\_\_\_

¿Utiliza algún medicamento?

Lactulosa: \_\_\_\_ Rifaximina: \_\_\_\_ Propanolol: \_\_\_\_ Furosemida: \_\_\_\_  
Espironolactona: \_\_\_\_ Ornitina: \_\_\_\_\_

### Comorbilidades

DM2: \_\_\_\_ HAS: \_\_\_\_ IAM: \_\_\_\_ ICC: \_\_\_\_ ERC: \_\_\_\_ LRA: \_\_\_\_ EVC: \_\_\_\_\_

HIC: \_\_\_\_ CA hígado: \_\_\_\_ CA otras: \_\_\_\_ Depresión: \_\_\_\_ Autoinmune: \_\_\_\_\_

Motivo de consulta actual:

West Haven: Escala de

GRADO	MANIFESTACIONES
<b>MÍNIMA</b>	Alteración en las proyecciones o neuropsicológicas <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumor</li> </ul>
<b>GRADO I</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atención disminuida</li> <li>• Alteración en el ritmo del sueño</li> <li>• Deterioro en la capacidad de sumar y restar</li> </ul>
<b>GRADO II</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Atetosis o Flapping</b></li> <li>• Letargo</li> <li>• Desorientación</li> <li>• Cambios en la personalidad</li> <li>• Dislexia</li> </ul>
<b>GRADO III</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Somnolencia o semiconciencia</li> <li>• Letargo</li> <li>• Desorientación grave</li> <li>• Comportamiento bizarro</li> </ul>
<b>GRADO IV</b>	Coma

*¿Presenta alguna de las siguientes características?*

Sepsis: \_\_\_ STDA: \_\_\_ STDB: \_\_\_ PBE: \_\_\_ Ascitis: \_\_\_ Hiponatremia: \_\_\_  
 Hipercalcemia: \_\_\_ Otros trastornos electrolíticos: \_\_\_ TCE leve: \_\_\_ TCE severo: \_\_\_  
 Hematoma intracraneal: \_\_\_ Meningitis definitiva: \_\_\_ Meningitis probable: \_\_\_  
 Uremia(según BUN): \_\_\_ EVC: \_\_\_

**Laboratorios:**

Hb \_\_\_ Leu \_\_\_ Neu \_\_\_ Otros, línea blanca \_\_\_ Plt \_\_\_ Glu \_\_\_ Cr \_\_\_ BUN \_\_\_  
 Na \_\_\_ Cl \_\_\_ K \_\_\_ Ca \_\_\_ Mg \_\_\_ P \_\_\_ AU \_\_\_  
 PH \_\_\_ CO<sub>2</sub> \_\_\_ PO<sub>2</sub> \_\_\_ Lactato \_\_\_ HCO<sub>3</sub> \_\_\_  
 AST \_\_\_ ALT \_\_\_ ALP \_\_\_ BT \_\_\_ BI \_\_\_ BD \_\_\_ TP \_\_\_ INR \_\_\_ TTP \_\_\_  
 Niveles de amonio \_\_\_

# CAPÍTULO XI

## BIBLIOGRAFÍA

1. Weissenborn K. Hepatic Encephalopathy: Definition, Clinical Grading and Diagnostic Principles. *Drugs*. 2019;79(s1):5–9.
2. González-Regueiro JA, Higuera-de la Tijera MF, Moreno-Alcántar R, Torre A. Pathophysiology of hepatic encephalopathy and future treatment options. *Rev Gastroenterol Mex*. 2019;84(2):195–203.
3. Butterworth RF. Neurosteroids in hepatic encephalopathy: Novel insights and new therapeutic opportunities. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2016;160:94–7.
4. Butterworth RF, Spahr L, Fontaine S, Layrargues GP. Manganese toxicity, dopaminergic dysfunction and hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 1995;10(4):259–67.
5. Wijdicks EFM, TI. Hepatic Encephalopathy. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(17):1660–70.
6. Rikkers L, Jenko P, Rudman D, Freides D. Subclinical hepatic encephalopathy: Detection, prevalence, and relationship to nitrogen metabolism. *Gastroenterology*. 1978;75(3):462–9.
7. Blei AT, Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K. Hepatic encephalopathy - Definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: Final report of the Working Party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology*. 2002;35(3):716–21.
8. Karanfilian BV, Park T, Senatore F. Minimal Hepatic Encephalopathy. *Clin Liver Dis*. 2020;24(2):209–18.
9. Rózanowski K, Lewandowski J, Sondej T. Mobile device for the measurement of threshold perception frequency of the flickering source of visible light. *Biocybern Biomed Eng*. 2015;35(3):147–56.

10. Weissenborn K, Ennen JC, Schomerus H, Rückert N, Hecker H. Neuropsychological characterization of hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2001;34(5):768–73.
11. Riggio O, Ridola L, Pasquale C, Pentassuglio I, Nardelli S, Moscucci F, et al. A Simplified Psychometric Evaluation for the Diagnosis of Minimal Hepatic Encephalopathy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2011;9(7):613-616.e1.
12. Marchetti P, D'Avanzo C, Orsato R, Montagnese S, Schiff S, Kaplan PW, et al. Electroencephalography in patients with cirrhosis. *Gastroenterology.* 2011;141(5):1680-1689.e2.
13. Olesen SS, Gram M, Jackson CD, Halliday E, Sandberg TH, Drewes AM, et al. Electroencephalogram variability in patients with cirrhosis associates with the presence and severity of hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2016;65(3):517–23.
14. Yeung PK. Metabolomics and biomarkers for drug discovery. *Metabolites.* 2018;8(1):10–2.
15. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, et al. HMDB: The human metabolome database. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(SUPPL. 1):521–6.
16. Weitzel K michael, Chemie F, Rev MS, Introduction I, Reference C. Bond-Dissociation Energies of Cations — Pushing the. *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.* 2011;(i):221–35.
17. Gowda GAN, Zhang S, Gu H, Asiago V, Shanaiah N, Raftery D. Metabolomics-based methods for early disease diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2008;8(5):617–33.
18. Sussulini A. *Metabolomics: From Fundamentals to Clinical Applications.* Sussulini A, editor. Cham: Springer International Publishing; 2017. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 965).
19. Richards et al. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol Behav.* 2018;176(5):139–48.



20. Kumar A, Misra BB. Challenges and Opportunities in Cancer Metabolomics. *Proteomics*. 2019;19(21–22).
21. Winnike JH, Li Z, Wright FA, MacDonald JM, O'Connell TM, Watkins PB. Use of pharmaco-metabonomics for early prediction of acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;88(1):45–51.
22. Qi SW, Tu ZG, Peng WJ, Wang LX, Ou-Yang X, Cai AJ, et al. H NMR-based serum metabolic profiling in compensated and decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2012;18(3):285–90.
23. Qi S, Tu Z, Ouyang X, Wang L, Peng W, Cai A, et al. Comparison of the metabolic profiling of hepatitis B virus-infected cirrhosis and alcoholic cirrhosis patients by using <sup>1</sup>H NMR-based metabonomics. *Hepatology Research*. 2012;42(7):677–85.
24. Rachakonda V, Gabbert C, Raina A, Bell LN, Cooper S, Malik S, et al. Serum metabolomic profiling in acute alcoholic hepatitis identifies multiple dysregulated pathways. *PLoS One*. 2014;9(12):1–24.
25. Ascha M, Wang Z, Ascha MS, Dweik R, Zein NN, Grove D, et al. Metabolomics studies identify novel diagnostic and prognostic indicators in patients with alcoholic hepatitis. *World J Hepatol*. 2016;8(10):499–508.
26. Yang Y, Li C, Nie X, Feng X, Chen W, Yue Y, et al. Metabonomic studies of human hepatocellular carcinoma using high-resolution magic-angle spinning <sup>1</sup>H NMR spectroscopy in conjunction with multivariate data analysis. *J Proteome Res*. 2007;6(7):2605–14.
27. Putluri N, Ph D, Devaraj S, Ph D, Sheikh-hamad D, Vierling JM, et al. HHS Public Access Dysfunction and Mortality in Cirrhosis. 2019;25–47.
28. McPhail MJW, Shawcross DL, Lewis MR, Coltart I, Want EJ, Antoniades CG, et al. Multivariate metabotyping of plasma predicts survival in patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2016;64(5):1058–67.
29. Amathieu R, Triba MN, Nahon P, Bouchemal N, Kamoun W, Haouache H, et al. Serum <sup>1</sup>H-NMR metabolomic fingerprints of acute-on-chronic liver

- failure in intensive care unit patients with alcoholic cirrhosis. *PLoS One*. 2014;9(2).
30. Jiménez B, Montoliu C, MacIntyre DA, Serra MA, Wassel A, Jover M, et al. Serum metabolic signature of minimal hepatic encephalopathy by <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance. *J Proteome Res*. 2010;9(10):5180–7.
  31. Weiss N, Barbier Saint Hilaire P, Colsch B, Isnard F, Attala S, Schaefer A, et al. Cerebrospinal fluid metabolomics highlights dysregulation of energy metabolism in overt hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2016;65(6):1120–30.
  32. Bajaj JS, Heuman DM, Sanyal AJ, Hylemon PB, Sterling RK, Stravitz RT, et al. Modulation of the Metabiome by Rifaximin in Patients with Cirrhosis and Minimal Hepatic Encephalopathy. *PLoS One*. 2013 Apr 2;8(4):e60042.
  33. STAHL J. Studies of the Blood Ammonia in Liver Disease. *Ann Intern Med*. 1963 Jan 1;58(1):1.
  34. Pelle J, Castelli FA, Rudler M, Alioua I, Colsch B, Fenaille F, et al. Metabolomics in the understanding and management of hepatic encephalopathy. *Anal Biochem*. 2022 Jan;636:114477.
  35. Qi S, Tu Z, Ouyang X, Wang L, Peng W, Cai A, et al. Comparison of the metabolic profiling of hepatitis B virus-infected cirrhosis and alcoholic cirrhosis patients by using <sup>1</sup>H NMR-based metabonomics. *Hepatology Research*. 2012 Jul 8;42(7):677–85.
  36. Winnike JH, Li Z, Wright FA, Macdonald JM, O'Connell TM, Watkins PB. Use of Pharmaco-Metabonomics for Early Prediction of Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Humans. *Clin Pharmacol Ther*. 2010 Jul 24;88(1):45–51.
  37. Rachakonda V, Gabbert C, Raina A, Bell LN, Cooper S, Malik S, et al. Serum Metabolomic Profiling in Acute Alcoholic Hepatitis Identifies Multiple Dysregulated Pathways. *PLoS One*. 2014 Dec 2;9(12):e113860.
  38. Amathieu R, Triba MN, Nahon P, Bouchemal N, Kamoun W, Haouache H, et al. Serum <sup>1</sup>H-NMR Metabolomic Fingerprints of Acute-On-Chronic Liver

- Failure in Intensive Care Unit Patients with Alcoholic Cirrhosis. *PLoS One*. 2014 Feb 19;9(2):e89230.
39. McPhail MJW, Shawcross DL, Lewis MR, Coltart I, Want EJ, Antoniadou CG, et al. Multivariate metabotyping of plasma predicts survival in patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2016 May;64(5):1058–67.
  40. Yang Y, Li C, Nie X, Feng X, Chen W, Yue Y, et al. Metabonomic Studies of Human Hepatocellular Carcinoma Using High-Resolution Magic-Angle Spinning <sup>1</sup> H NMR Spectroscopy in Conjunction with Multivariate Data Analysis. *J Proteome Res*. 2007 Jul 1;6(7):2605–14.
  41. Bajaj JS, Heuman DM, Sanyal AJ, Hylemon PB, Sterling RK, Stravitz RT, et al. Modulation of the Metabiome by Rifaximin in Patients with Cirrhosis and Minimal Hepatic Encephalopathy. *PLoS One*. 2013;8(4).
  42. Dabos KJ. <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy-based metabonomic study in patients with cirrhosis and hepatic encephalopathy. *World J Hepatol*. 2015;7(12):1701.
  43. Weiss N, Barbier Saint Hilaire P, Colsch B, Isnard F, Attala S, Schaefer A, et al. Cerebrospinal fluid metabolomics highlights dysregulation of energy metabolism in overt hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2016 Dec;65(6):1120–30.
  44. McPhail MJW, Montagnese S, Villanova M, El Hadi H, Amodio P, Crossey MME, et al. Urinary metabolic profiling by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy in patients with cirrhosis may discriminate overt but not covert hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2017 Apr 17;32(2):331–41.

## CAPÍTULO XII

### RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Luis Andrés González Torres

Candidato para el Grado de  
Especialista en Medicina Interna

**Tesis:** CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL METABOLÓMICO SÉRICO DE  
PACIENTES CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA GRADOS III Y IV

**Campo de estudio:** Ciencias de la Salud

Biografía:

**Datos personales:** Nacido en la ciudad de Monterrey, Nuevo León, el 12 de agosto de 1994, hijo de José Luis González Vela y San Juana Torres García.

**Educación:** En agosto 2012 inicia la Licenciatura de Médico Cirujano y Partero en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León finalizando en julio del 2018.

En agosto del 2018 realizó su servicio social en el Servicio de Hematología con la Dra. Luz del Carmen Tarín Arzaga.

En marzo del 2020 inició sus estudios de posgrado en el programa de Especialización en Medicina Interna del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.