

HIPERAMONEMIA E INSUFICIENCIA HEPÁTICA*

DR. GUILLERMO SOBERÓN**
QEB. GUSTAVO FLORES**
DR. ADOLFO ROSADO**
DR. JESÚS TORRES GALLARDO**
DR. JAIME MORA**
DR. RAFAEL MAGGIO**

AUNQUE NO SIEMPRE que existe insuficiencia hepática se produce hiperamonemia, es frecuente que una importante alteración funcional del órgano se asocie con elevada concentración de amoníaco*** en la sangre.¹ Esto ha llevado a considerar que este compuesto juega algún papel importante en la patogenia del coma hepático.² Sin embargo, en contra de esta afirmación, existe la evidencia de aquellos casos en los que, a pesar de no haber niveles aumentados del metabolito en sangre, se presentan los síntomas neurológicos característicos del coma hepático y del que algunos enfermos no se recuperan a pesar de que por alguna medida terapéutica se disminuya la amonemia a valores cercanos a lo normal.³

En cualquier forma es posible afirmar que, puesto que el hígado tiene un papel predominante en el metabolismo intermedio, la alteración del órgano se traduce en importantes perturbaciones, una de las cuales puede ser la incapacidad de la fijación de amoníaco, fundamentalmente en síntesis de glutamina y de urea. Por otra parte, existe evidencia clínica y experimental que indica que otros tejidos son capaces de contribuir de manera importante a la fijación del amoníaco.^{4, 5, 6}

El músculo tiene un papel relevante a este respecto. La captación por el cerebro es de importancia, ya que, como se ha explicado anteriormente, los síntomas característicos de la intoxicación amoniaca son de tipo neurológico.⁷

Cuando el hígado está afectado no se tolera la administración de amoníaco

* Leído en la sesión del 9 de mayo de 1962.

** Depto. de Bioquímica, Hospital de Enfermedades de la Nutrición, México, D. F.

*** En el presente trabajo amoníaco implica la suma de NH_4^+ y NH_3 .

o de otras sustancias nitrogenadas susceptibles de transformarse en dicho compuesto,^{8, 9} este conocimiento es la base de la prueba de la tolerancia al amoníaco como medida de la lesión hepática, sea que la carga se administre por vía intravenosa o por vía oral.^{10 a 13} Se ha explicado que en aquellos pacientes en los que hay un incremento anormal en la concentración de amoníaco después de una carga del metabolito, ello puede deberse a la alteración del hepatocito o bien a la existencia de comunicaciones directas entre los sistemas porta y suprahepáticas.¹⁰

Es fácil entender la posición relevante que ocupa el hígado en relación con la fijación del amoníaco, ya que el órgano contiene los elementos necesarios para la síntesis de carbamil fosfato, precursores de pirimidinas y de urea, para la síntesis de glutamina y para la reaminación reductiva del ácido acetoglutárico.¹⁴ Además, se han descrito otros procesos que fijan amoníaco y que existen en el hígado, aunque no de la misma trascendencia que los anteriores, como son la reaminación reductiva del ácido pirúvico,¹⁵ la síntesis de ácido acetyl aspártico,¹⁶ (probablemente como continuación de la reaminación reductiva del ácido alfaacetoglutárico con transaminación posterior del oxaloacético con el ácido glutámico resultante y acetilación del ácido aspártico formado) y, por último, la oxidación de amoníaco hasta hidroxilamina¹⁷ (que forma entonces la oxima correspondiente del ácido alfaacetoglutárico, el cual posteriormente puede convertirse en ácido glutámico).

Este trabajo fue hecho con el objeto de estudiar cuál es la distribución en el animal normal de una carga de amoníaco a fin de establecer la importancia relativa del hígado y de otros tejidos, principalmente cerebro y músculo en la afectan los sistemas enzimáticos presentes en hígado en situaciones experimentales que pueden ser comparadas a enfermedades que se presentan en el humano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon ratas machos de la cepa Wistar, alimentadas con una dieta comercial (Purina Chow); el peso de los animales varió de 200 a 240 g. (promedio 228 g.). Para el estudio de la distribución de amoníaco en los diferentes órganos se inyectó una carga de cloruro de amonio directamente en la porta y se hicieron determinaciones de amoníaco y glutamina en suprahepática, cerebro, hígado y músculo. Las ratas fueron anestesiadas con nembutal (inyección intraperitoneal de 0.1 mg. por kilo de peso corporal), se les hizo una laparatomía media y se rechazó el hígado hacia arriba para exponer el pedículo hepático. Para poder efectuar la inyección intraportal se hizo necesario emplear agujas BB No. 26, dobladas en un ángulo de 105°. La dosis varió de 125 a 2,000 micromolas de cloruro de amonio en forma de una solución 0.5 a 1 M., previamente ajustada a pH 7. A los tiempos indicados para

cada experimento se obtuvo sangre de la vena suprahepática; para este efecto el hígado se rechazó hacia abajo y se cortó el ligamento falciforme teniendo cuidado de no herir el diafragma, pues de ser este el caso la rata muere rápidamente por neumotórax. De esta manera se expone la suprahepática en su desembocadura en la cava inferior, inmediatamente por debajo del diafragma, en este sitio se puncionó con una aguja acodada en la forma indicada, teniendo la precaución de dirigir la punta hacia la arcada crural izquierda del animal a fin de tener la seguridad de que la sangre se toma de suprahepática y no de cava. Se extrajeron 0.5 ml. de sangre que se añadieron a un volumen igual de una solución al 10% de ácido tricloroacético.

Simultáneamente con la obtención de sangre se extirpó un fragmento de hígado y de músculo (cara posterior de muslo) y se extrajo el cerebro. Los tejidos mencionados se congelaron de inmediato en una mezcla de alcohol y CO_2 sólido; el tiempo necesario para efectuar la maniobra completa fue de unos cuantos segundos para el hígado de, aproximadamente, 30 segundos para el músculo y nunca excedió de 90 segundos en el caso del cerebro. Se homogeneizaron 1 a 2 g. de cada tejido en cloruro de potasio isotónico, la proporción de la homogeneización fue de 1 g. de tejido más 9 volúmenes de solución homogeneizante, se empleó un aparato del tipo Potter-Elvehjem en el caso de cerebro e hígado y una licuadora para el músculo. A 2 ml. de cada uno de estos homogeneizados se les añadió un volumen igual de ácido tricloroacético al 10%. La proteína precipitada fue separada por centrifugación y en el sobrenadante se midieron amoníaco y glutamina. Se determinó amoníaco por el método de Conway;¹⁸ puesto que la cantidad de amoníaco aumenta rápidamente en la sangre extraída, la difusión se inició en todos los casos dos minutos después de la extracción, y se prolongó por 20 minutos, tiempo en el que los resultados de recuperación fueron satisfactorios. La glutamina fue determinada midiendo el amoníaco liberado después de hidrólisis, calentando a 70°C y durante 75 minutos una mezcla a partes iguales de sangre y ácido tricloroacético al 20%, según se ha descrito anteriormente.¹⁹ En algunos grupos experimentales se hizo el estudio después de la ligadura del pedículo hepático. En estos casos la carga se administró en vena cava inferior y en el mismo sitio se tomó sangre.

Antes de la inyección en porta se efectuó la ligadura del pedículo renal a fin de eliminar la participación del riñón en la depuración, ya que este órgano juega importante papel a este respecto.^{20, 21}

Para el cálculo de la distribución de la carga se tomaron en cuenta los siguientes valores: hígado 9.4 g., cerebro 1.5 g., (obtenidos experimentalmente pesando estos órganos en un buen número de los animales procesados), músculo y espacio extracelular 50%²² y 20% del peso corporal respectivamente.

Los grupos experimentales escogidos para producir alteraciones semejantes a ciertas condiciones patológicas que se ven en el humano fueron las siguientes:

- a) Ratas alimentadas durante 20 días con una dieta que contenía zeína (deficiente en triptofano y lisina) como fuente de proteína.
Composición de la dieta: carbohidrato, 700 g.; zeína 170 g.; aceite de maíz, 50 g.; mezcla de sales IV, 40 g.; mezcla de vitaminas 3 g. (la mezcla de vitaminas contiene para 30 Kg. de dieta: colina, 30 g.; pantotenato de calcio, 0.600 g.; niacinamida 0.300 g.; menadiona 0.120 g.; riboflavina, 0.090 g.; tiamina, 0.180 g.; piridoxina, 0.075 g.; biotina cristalina, 0.003 g.; ácido fólico, 0.006 g.; dilución 1:10 de vitamina B₁₂ en sacarosa, 0.300 g.; sacarosa, 58,326 g.).
- b) Ratas en quienes se produjo cirrosis de tipo postnecrosis mediante la administración intraperitoneal de una solución de tetracloruro de carbono 1 a 2 en nujol (1.1 ml. por 100 g. de peso corporal. dos veces por semana).
- c) Ratas en las que se produjo una anemia de tal magnitud que el valor de hemoglobina se redujo aproximadamente al 40 ó 50% de lo normal (15 g. por 100 ml.). Esto se logró extrayendo 5 ml. de sangre 24 y 48 horas antes del estudio.
- d) Ratas en las que se indujo hipoxia al inyectarles una dosis mayor de nembutal (0.2 mg/Kg. peso corporal) y hacerles respirar en un matraz Erlenmeyer de 125 ml. Mediante estas maniobras se logró que la frecuencia respiratoria disminuyera hasta ser de 4 a 9 por minuto (normal para la rata 80).

El número de animales en cada grupo experimental varió de 10 a 20, la mitad de ellos fue usado para estudiar la depuración de una carga de amoníaco y la otra mitad para el estudio de las actividades enzimáticas.

Las enzimas que se determinaron fueron las siguientes:

Glutamina sintetasa mediante el procedimiento de Elliot.²³ Deshidrogenasa glutámica, según el método descrito por Strecker.²⁴ Carbamil fosfato sintetasa. ornitino trascarbamilasa, arginino sintetasa (enzima condensante y de escisión del sistema descrito por Ratner) y arginasa. Las últimas 4 enzimas se determinaron mediante el procedimiento descrito por Brown y Cohen.²⁵

A fin de estar razonablemente seguros de que las actividades determinadas eran función de la concentración de las proteínas específicas, se hicieron estudios cinéticos previos en los homogeneizados. Se investigó la influencia de pH, temperatura, concentración de substrato y cofactores, condiciones que es indispensable conocer a fin de poder interpretar correctamente los resultados, de acuerdo con el criterio establecido por Knox, referente a adaptación metabólica.²⁶

La concentración de trifosfato de adenosina (ATP) se determinó por dos procedimientos: en el primero se absorbieron los nucleótidos sobre carbón activado que después de ser levigados se separaron por cromatografía en resina Dowex 2 de intercambio iónico, según lo ha descrito Ondarza;²⁷ en el segundo se midió espectrofotométricamente la desaparición de adenina piridina dinucleótido reducido en un sistema que contenía ácido 3-fosfoglicérico quinasa, gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa y ácido 3-fosfoglicérico.²⁸ En ambos casos la determinación se hizo en el sobrenadante que se obtiene después de precipitar proteínas con ácido perclórico 0.5 M. y eliminación ulterior del exceso de perclorato ajustando con potasa y centrifugando en frío el perclorato de potasio formado.

RESULTADOS

La concentración normal en sangre de la vena porta es tres veces mayor que la de la vena suprahepática (7.7 ± 0.3 y 2.5 ± 0.3 ug NH_3 N/ml., respectivamente; la dispersión es dada en error estándar).

En la tabla 1, se presentan las concentraciones de amoníaco obtenidas en sangre de la vena suprahepática a los 2, 5, 10 y 20 minutos después de la

TABLA 1
CONCENTRACION DE AMONIACO EN VENA SUPRAHEPATICA DESPUES DE LA INYECCION INTRAPORTAL DE DIFERENTES DOSIS DE CLORURO DE AMONIO

<i>Cantidad inyectada</i>	<i>2 minutos</i>	<i>5 minutos</i>	<i>10 minutos</i>	<i>20 minutos</i>
250 micromoles	$7.5 \pm 0.3^*$	3.5 ± 1.3	4 ± 0.3	4 ± 0.2
500 micromoles	29 ± 2.0	20 ± 0.5	8 ± 0.6	4 ± 0.8
1,000 micromoles	60 ± 6.5	32 ± 1	18 ± 0.9	6 ± 0.5

Los valores se dan en NH_3 N/ml. El número de animales procesados varía de 6 a 8 para cada punto experimental.

* Error estándar del promedio.

administración de diferentes dosis de cloruro de amonio. Puede verse que la concentración máxima se encuentra a los 2 minutos, primera determinación que fue posible hacer después de la introducción de la solución amoniaca en la vena porta. A los 20 minutos el nivel ha vuelto prácticamente al normal aún con la dosis de 500 micromoles. El incremento inicial es muy ligero con la dosis de 250 micromoles. La administración de 125 micromoles no fue suficiente para causar ninguna alteración, en cambio, la mayor parte de los animales fallecieron en unos cuantos minutos con la dosis de 1,500 a 2,000 micromoles.

Las ratas inyectadas con 125, 250, 500 y 1,000 micromoles se recuperan satisfactoriamente.

En la tabla 2 se observa que una vez inyectadas 500 micromoles de cloruro

TABLA 2
DISTRIBUCION DE AMONIACO Y GLUTAMINA EN DIFERENTES TEJIDOS

Tejidos	0 minutos		2 minutos		10 minutos		20 minutos	
	Amo- niaco	Gluta- mina	Amo- niaco	Gluta- mina	Amo- niaco	Gluta- mina	Amo- niaco	Gluta- mina
Líquido extra- celular	3.5 157	10	24 (12.5*)	(7.9)	4 (0.3)	10 (—)	3 (—)	10 (—)
Músculo	11	62	59 (61.5)	58 (—)	50 (50)	(—)	38 (34.7)	33 (—37)
Hígado	22	57	41 (2.5)	75 (2.4)	23 (—)	65 (1.1)	16 (—)	58 (—)
Cerebro	8.5	82	30 (0.5)	72 (—)	7 (—)	122 (0.9)	3.5	83 (—)
Totales			(77%)	(10.3)	(50.3)	(2.0)	(34.7)	(1—37)
			(87.3)		(52.3)		(—2.3)	

* Los números en paréntesis indican el porciento de la cantidad administrada presente en el tejido.

Los resultados se dan como NH_2N o amida glutamina N por ml. de sangre o por g. de tejido.

Para cada tiempo indicado se sacrificaron tres animales. En todos ellos se ligó el pedículo renal. A las ratas usadas para el tiempo cero se les inyectaron 500 micromoles de cloruro de sodio por vía intraportal e inmediatamente se tomaron: sangre de suprahepáticas, fragmentos de hígado y músculo (cara posterior del muslo) y se extrajo el cerebro. La sangre (0.5 ml.) se añadió a un volumen igual de ácido tricloroacético al 10% y los otros tejidos se congelaron en una mezcla de alcohol etílico y CO_2 sólido, hasta que fueron homogeneizados en KCl isotónico. A los otros animales se les administraron 500 micromoles de cloruro de amonio por vía intraportal y se procedió en la misma forma a los tiempos indicados. Los tejidos y la sangre de cada grupo se procesaron en conjunto.

de amonio, la mayor parte del metabolito se localiza en tejido muscular, existe también una cantidad importante en el espacio extracelular, y solamente una pequeña fracción del total administrado permanece en el hígado (2.5%) y en el cerebro (0.5%). Cabe hacer notar, sin embargo, que aunque en estos dos últimos órganos se localiza sólo una pequeña parte de la carga administrada ésto se debe a que su masa es relativamente pequeña en comparación con la del músculo y la del líquido extracelular, puesto que en hígado la concentración de amoniaco se elevó al doble de la normalmente presente y en cerebro el

incremento fue de 4 veces el original. Desde los 2 minutos, parte del nitrógeno administrado se encuentra presente en forma de glutamina, 8% en el espacio extracelular y 2.5% en hígado. A los 10 minutos se ve que la mayor parte de la carga administrada permanece todavía en músculo, solamente una pequeña parte se localiza en el espacio extracelular, donde todavía existe una pequeña elevación de glutamina y aparece también un pequeño incremento en cerebro. A los 20 minutos solamente el músculo retiene parte del amoníaco introducido. La suma de amoníaco y glutamina en los diferentes tejidos analizados representa el 88% de la carga administrada a los 2 minutos, el 52% a los 10 minutos y el 35% a los 20 minutos. La parte restante no encontrada se debe a fijación en otros tejidos y a la fracción canalizada hacia la síntesis de urea por el hígado; efectivamente, experimentos preliminares indican que en las condiciones experimentales señaladas, la urea empieza a elevarse 10 minutos después de la administración de la carga.

Si se liga el pedículo hepático la situación es completamente diferente (Tabla 3). Por una parte estos animales no toleran la dosis de 500 micromoles y mueren entre 10 y 20 minutos. La introducción de 250 micromoles enseña que

TABLA 3
DISTRIBUCION DE AMONIACO Y GLUTAMINA EN DIFERENTES TEJIDOS DE ANIMALES CON PEDICULO HEPATICO LIGADO

Tejidos	0 minutos		2 minutos		5 minutos	
	Amoniaco	Glutamina	Amoniaco	Glutamina	Amoniaco	Glutamina
Líquido extracelular	4	10	28 (31)*	11 (—)	86 (29.4)	12 (—)
Músculo	11	68	31 (51.5)	69 (—)	44 (85)	68 (—)
Cerebro	8	85	18 (0.5)	95 (0.51)	22 (0.6)	94 (0.5)
TOTALES			(83)	(0.5)	(115)	(0.5)
			(83.5)		(115.5)	

* Los números en paréntesis indican el porcentaje de la cantidad administrada presente en el tejido.

Tres animales se sacrificaron para cada tiempo indicado. En todos se ligó pedículo hepático. Las condiciones experimentales son las mismas que las señaladas en el experimento de la tabla 2, excepto que la administración de las soluciones, y la toma de sangre se hicieron en vena cava inferior.

a los dos minutos una parte del amoníaco se ha fijado en músculo, pero también gran proporción del metabolito permanece en el espacio extracelular, también hay un incremento en cerebro y la glutamina se eleva en este último órgano. A los 15 minutos la concentración en el espacio extracelular permanece elevada y en músculo todavía aumenta más. En el cerebro se ve aproximadamente lo mismo que se ha descrito anteriormente. Es de hacerse notar que en este último tiempo la suma de los compuestos analizados es más que la cantidad esperada por la dosis administrada, lo que se debe a que en estas condiciones probablemente hay liberación de amoníaco proveniente de proteínas y de otras sustancias nitrogenadas.²⁹ La administración de una dosis suficiente para matar al animal en unos cuantos minutos (Tabla 4), muestra que cuando el pe-

TABLA 4

CONCENTRACION DE AMONIACO Y GLUTAMINA EN DIFERENTES TEJIDOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE UNA DOSIS LETAL

Tejidos	<i>Pedículo hepático libre</i>		<i>Pedículo hepático ligado</i>	
	<i>Amoniaco</i>	<i>Glutamina</i>	<i>Amoniaco</i>	<i>Glutamina</i>
Espacio extra-celular	220 (42.5)	400 (61)	420 (130)	20 (0.6)
Músculo	100 (32.8)	210 (54.)	85 (6.3)	115 (4.1)
Hígado	270 (8.1)	390 (11)	—	—
Cerebro	80 (0.4)	110 (0.6)	50 (0.4)	80 (0)
TOTALES	(83.8)	(126.8)	(136.7)	(4.7)
		(210.6)		(141.4)

Se inyectaron 2,000 micromoles a los animales con pedículo hepático libre y 1,000 micromoles a los que se les ligó el pedículo hepático. Se procesaron 3 ratas en cada punto experimental. Otras indicaciones y condiciones experimentales son las mismas que las de las tablas 2 y 3.

dículo hepático está libre, existe una gran proporción de la carga y la formación de glutamina, lo cual es indicador de la rápida síntesis de este compuesto, el nitrógeno inyectado está localizado en gran proporción tanto en el espacio extracelular como en músculo, en cerebro y en hígado. En estas condiciones hay también liberación de amoníaco a partir de sustancias nitrogenadas, puesto que los aumentos observados en los tejidos estudiados representan mucho más

de lo que pudiese ser explicado por la dosis administrada. Cuando se inyecta una dosis letal en animales a quienes se ha ligado el pedículo hepático (es suficiente la mitad de la dosis necesaria para matar los animales con pedículo hepático libre) la mayor parte del amoníaco permanece como tal en el espacio extracelular y en estas condiciones no penetra en músculo en la proporción que se ha visto anteriormente. En esta situación también hay producción de amoníaco a partir de sustancias endógenas. Con la inyección de la dosis letal los animales murieron en 3 a 4 minutos. Al principio la respiración se hizo más acelerada, pero en poco tiempo se instaló bradipnea. Pronto se instalaron convulsiones clónicas generalizadas e inmediatamente antes de la muerte apareció una contractura tónica.

Los animales en los que se ha lesionado el hígado por diferentes medios no depuran una carga de amoníaco de la misma manera que lo hace el animal normal (Tabla 5). Esto es aparente en aquellas ratas en las que se ha ocasio-

TABLA 5

CONCENTRACION DE AMONIACO EN VENAS SUPRAHEPATICAS DESPUES DE LA INYECCION INTRAPORTAL DE CLORURO DE AMONIO A RATAS SOMETIDAS A DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES

Grupo	Dosis en micromolas	2 minutos	5 minutos	10 minutos	20 minutos
Normal	1000	60 ± 6*	32 ± 0.5	18 ± 0.5	5 ± 1.5
Normal	500	29 ± 3	20 ± 0.5	8 ± 2	4 ± 0.5
Intoxicación crónica con CC ₁₄	500	67.5 ± 13	50 ± 3	40.5 ± 4	48 ± 0.5
Alimentadas en zeina	500	52 ± 2	34 ± 2	20 ± 1	14 ± 0.5
48 hs. después de hepatectomía parcial	500	60 ± 0.5	30 ± 3	25 ± 4	12 ± 3
Anemia	1000	66 ± 0.5	46 ± 4	37 ± 2	38 ± 2
Anemia	500	24 ± 1.5	14 ± 1	7 ± 0.5	3 ± 1
Hipoxia inducida	500	30 ± 8	25 ± 2	23 ± 4	—

* Las condiciones en las que se trabajó cada grupo se describen en el texto. Otras indicaciones son las mismas que las de la tabla 1.

± Error estándar del promedio.

nado cirrosis de tipo postnecrosis mediante la administración crónica de tetracloruro de carbono, en aquellos alimentados con zeina y en los que la masa hepática se ha restringido por la hepatectomía parcial. Durante el curso de

la investigación fue aparente que aquellos animales que por algún motivo desarrollaban hipoxia eran incapaces de depurar el amoníaco administrado, esto hizo incluir en la investigación el grupo experimental de animales con hipoxia ben controlada, los cuales no depuran el metabolito y generalmente mueren en un corto plazo. Esta observación indujo también a estudiar animales anémicos, en estos últimos se ve que son capaces de depurar una dosis de 500 micromoles, pero no lo pueden hacer con una dosis de 1,000 micromoles.

El estudio de las actividades enzimáticas en estos grupos experimentales muestra que aquellos alimentados con zeína, en los que se ocasionó cirrosis de tipo postnecrosis y en los que se quitó un fragmento de hígado tienen menor actividad que el normal (Tabla 6). Esta disminución es muy notable sobre

TABLA 6
ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS
EXPERIMENTALES

Grupo	Enzimas					
	CPS	OTC	AS	ARG	G. D. H.	G. S.
Normal (21)	6.3 ± 4.5*	3000 ± 175	11.5 ± 0.625	2575 ± 150	24 ± 3.5	21 ± 1
Intoxicación crónica con CC ₁₄ (8)	5.7 ± 2.3	90 ± 5	5.5 ± 0.3	470 ± 21	16 ± 2.3	1.5 ± 0.3
48 hs. después de hepatectomía parcial (9)	24 ± 1.5	570 ± 33	6.3 ± 0.4	1420 ± 83	7.2 ± 1.1	5.5 ± 0.3
Alimentadas con zeína (8)	24 ± 1.7	1185 ± 54	3.1 ± 0.2	990 ± 38	7.0 ± 0.9	5.7 ± 0.2
Anemia (7)	50 ± 3.7	3100 ± 182	14 ± 0.9	2450 ± 140	20 ± 3.2	14 ± 0.8

* Error estándar del promedio.

El número entre paréntesis indica el número de animales estudiados. Los valores se dan en unidades por hígado total. Las unidades se definen como micromoles de producto formadas en un minuto.

Carbamil fosfato sintetasa CPS, Ornitino transcarnilasa OCT, Arginino sintetasa

AS, Arginasa ARG, Deshidrogenasa glutámica GDH, Glutamina sintetasa GS. todo en el caso de las ratas en las que se les administró en forma crónica tetracloruro de carbono. Los animales anémicos enseñan solamente discreta disminución en algunas de las enzimas como la carbamil fosfato sintetasa, la deshidrogenasa glutámico y la glutamina sintetasa y sorprendentemente otras enzimas muestran una actividad mayor de la normal.

Ya que la incapacidad de la depuración de amoníaco en los animales hipóxicos es manifiesta de inmediato, se pensó que este efecto no podría ser ocasionado por un cambio en las enzimas correspondientes, es por ello que no fueron analizadas y puesto que también en las ratas anémicas no se demostró disminución importante en las actividades enzimáticas, se pensó en investigar cofactores de las reacciones enzimáticas que podrían ser limitantes. El ATP es necesario para la fijación de amoníaco, puesto que tanto la síntesis de glutamina como la síntesis de urea son procesos endergónicos; asimismo la reaminación reductiva del ácido cetoglutárico requiere la inversión de una molécula de niacina adenina dinucleótido reducido (DPNH) que, por lo tanto, no está en disponibilidad para fosforilación oxidativa. Los resultados obtenidos por el método enzimático indican que la hipoxia durante 7 minutos baja el nivel de ATP aproximadamente a la mitad y si este período de hipoxia se prolonga durante 20 minutos, baja hasta el 7%. En los animales anémicos se ven un descenso de ATP hasta el 30% de lo normal. El método cromatográfico enseñó una mancha apenas perceptible en el animal anóxico, ligeramente aparente en el anémico en control con la mancha bien contractada de los controles normales.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos señalan diariamente el papel trascendente del hígado en la depuración de amoníaco. En efecto, la concentración del amoníaco en la sangre es tres veces mayor que la que se encuentra en venas suprahepáticas, lo cual significa que en condiciones normales el hígado es capaz de depurar dos terceras partes del amoníaco que le llega por la porta; los animales en los que se produjo cirrosis hepática tuvieron gran dificultad en la depuración de una carga de amoníaco; lo mismo se observó en aquellas ratas en las que se les quitó parte del hígado y en aquellas que fueron sometidas a una dieta que contenía zeína proteína de bajo valor biológico, situación que ocasiona alteración de algunas enzimas del órgano.³⁰

Esto pudo ser corroborado, puesto que en los grupos experimentales mencionados se encontró una disminución de las actividades enzimáticas involucradas en la fijación de amoníaco, tanto en la síntesis de glutamina como en la reaminación reductiva del ácido glutámico y en la síntesis de urea. A este respecto es importante mencionar que se ha calculado que la capacidad del hígado de rata para fijación de amoníaco es más baja que la del humano.³¹ En todos estos grupos está disminuida la actividad de la enzima arginino sintetasa, que es el que marca paso en el ciclo de Krebs-Henseleit de síntesis de urea y también la glutamina sintetasa; estas dos enzimas juegan un papel importante, puesto que los estudios de Duda y Handler³² con el uso de amoníaco marcado con N15, han puesto en claro que el metabolito se fija rápidamente mediante la síntesis de glutamina y que posteriormente se liberado lentamente

y fijado en forma de urea. La distribución de la carga administrada a los 2, 10 y 20 minutos es compatible con esta observación, puesto que se vio que el porcentaje de nitrógeno no encontrado por el análisis de amoníaco y glutamina en sangre, hígado, músculo y cerebro aumenta a medida que transcurre el tiempo, lo que probablemente se debe en parte a que el amoníaco que penetra en los tejidos y se fija en forma de glutamina es movilizado paulatinamente hacia la síntesis de urea.

Otros datos experimentales también afirman de manera clara la importante participación del hígado en la fijación de amoníaco; Drapanas³³ encontró que en perros en los que se administraba amoníaco por la porta, la concentración en suprahepática aumentó hasta que el nivel en porta se elevó a 5 veces el valor inicial; este mismo investigador relata que en los perros en los que se administraba tetracloruro de carbono en forma repetida hasta causarles seria alteración hepática, la capacidad de depuración del hígado estaba disminuida en un 38% y a la mitad en los animales en los que se quitaba el 70% del órgano por hepatectomía parcial, hallazgos que concuerdan con los experimentos relatados en el presente trabajo, efectuados con ratas en condiciones experimentales similares. Por otra parte, se ha visto que en aquellos perros en los cuales se hace una fístula de Eck y que, por tanto, no toleran la administración de una carga de amoníaco en porta, la intoxicación se evita si antes se hace pasar el líquido de infusión por un hígado donador extraído de otro animal.³⁴

En cuanto a observaciones clínicas, existen numerosos informes en los cuales se ha visto que la hiperamonemia guarda cierta relación con el grado de suficiencia hepática;¹⁻¹³ en un estudio reciente, efectuado en nuestro medio con material del Hospital de Enfermedades de la Nutrición, Gutiérrez Sacasa³⁵ encuentra una correlación directa entre la hiperamonemia, el grado de insuficiencia hepática, las alteraciones electroencefalográficas y el estado de la conciencia.

Por lo demás, no cabe duda que los tejidos periféricos son capaces de fijar amoníaco. A este respecto parece ser que la participación del músculo es la de más trascendencia, debido a la gran masa de este tejido. Efectivamente, en nuestros estudios se ha visto que en músculo es donde se fija con mucho, la mayor parte del metabolito administrado. Basados en las diferencias de concentración de arterias y venas que van hacia territorio muscular se han descrito que el músculo es capaz de fijar del 40% del amoníaco que le llega.⁶ Además, se ha visto que en el animal completamente eviscerado el amoníaco administrado en arteria desciende con cierta rapidez, lo cual implica que los tejidos no extirpados son capaces de fijarlo en alguna forma.³⁶

Parece ser, no obstante, que aún en lo que respecta a la capacidad de fijación de amoníaco por tejidos extrahepáticos el hígado tiene una influencia definitiva.³⁷⁻³⁸ En efecto, la ligadura del pedículo hepático, en experimentos a

tan corto plazo como los realizados en este trabajo indica que en estas condiciones el animal es menos tolerante a la dosis administrada y a pesar de que la concentración sanguínea se eleva aún más que cuando el pedículo está libre la cantidad de amoníaco que el músculo retiene es menor. Esto es sobre todo notable en experimentos en los que se administraron dosis letales, cuando el pedículo hepático se mantiene libre el amoníaco se distribuye como tal y en forma de glutamina, tanto en sangre como en músculo, hígado y cerebro; en cambio, cuando el pedículo hepático está ligado, la mayor parte del amoníaco permanece en la circulación.

Cualquiera que sea el mecanismo fundamental que opera en la captación de amoníaco, se satura con la administración de la carga, ya que necesita transcurrir cierto tiempo para que se pueda disponer de una segunda carga.^{36, 39}

Dos territorios no explorados en este trabajo intervienen preponderantemente en el metabolismo del amoníaco. La mayor parte del amoníaco que llega al hígado proviene del intestino, en donde la flora microbiana es muy activa en la desaminación oxidativa de los aminoácidos.⁴⁰ Se ha demostrado también que hasta el 20% de la urea pasa al intestino, donde da origen a amoníaco al ser hidrolizada por la ureasa intestinal.⁴¹ En condiciones normales el riñón contribuye a la amonemia, puesto que la concentración del metabolito es mayor en la vena renal que en la arteria que llega al órgano.²¹ Cuando existe hiperamonemia esta relación se invierte de modo que el riñón activamente depura parte del amoníaco circulante y deja de secretar hacia vena renal para derivar el metabolito a la orina independientemente del pH de la sangre arterial.⁴²

Se ha descrito que el pH sanguíneo juega un papel importante en la regulación del paso de amoníaco a través de membranas, principalmente a través de la barrera hematoencefálica. Efectivamente Warren ha señalado que las sales más tóxicas de amonio son aquellas de tipo alcalino como el hidróxido o el carbonato;⁴³ esta observación condujo al mismo autor a la administración de infusiones ácidas y alcalinas en pacientes hepáticos con el fin de modificar la relación de las concentraciones en líquido cefalorraquídeo y en arteria, ciertamente hubo un aumento de esta relación en estados de alcalosis y una disminución cuando se produjo acidosis;⁴⁴ sin embargo, debe hacerse constar que paradójicamente Eiseman observó que el pH arterial no tenía alguna relación con el paso de amoníaco a través de la barrera hematoencefálica.³⁸ Este problema parece no estar completamente aclarado.

Por demás interesante es la observación que se informa en el presente trabajo, que la deficiente depuración de amoníaco observada en los grupos experimentales en los que se indujo hipoxia o anemia, puede explicarse más bien por la baja concentración de ATP que se produce en estas condiciones. Efectivamente la actividad de las enzimas en el grupo de anemia no es muy diferente

de la que se observa en el animal normal y puesto que, como se ha dicho anteriormente, la deficiente depuración encontrada en los animales hipóxicos es inmediata, no es de esperarse ningún cambio en las proteínas específicas encargadas de la fijación de amoníaco. Ya que, como se ha mencionado antes, la reacción de amoníaco con ácido glutámico para formar glutamina requiere una molécula de ATP y la síntesis de urea requiere 3, el proceso de fijación de amoníaco es altamente endergónico, además, la reaminación reductiva del ácido cetoglutárico requiere una molécula de niacina adenina dinucleótido reducido y, por lo tanto, no está en disponibilidad para que se genere ATP por el proceso de fosforilación oxidativa. A mayor abundamiento, se ha descrito que la anoxia produce una deficiente eliminación de la fluoresceína por el hígado colorante que es excretado activamente en bilis; además, se ha visto que rebanadas de hígado sometidas a anoxia tienen un deficiente consumo de oxígeno en presencia de diferentes substratos y que este consumo de oxígeno se restaura cuando los tejidos son incubados en presencia de ATP, pero dicha recuperación se ve más comprometida a medida que el tiempo de anoxia es más prolongado.⁴⁶ De esta manera, la interpretación que hace Drapanas³³ de que la anoxia no tiene ningún efecto porque los animales en los que ligó la arteria hepática no tuvieron una deficiente depuración de amoníaco, parece no tener bases firmes para ser sustentada.

La anoxia también causa un descenso drástico en el contenido de ATP cerebral^{47, 48} y se ha descrito, asimismo, que la anoxia causa una potenciación de la toxicidad del amoníaco.⁴⁹ De esta manera puede afirmarse que la limitación de oxígeno causa un efecto similar en el contenido de ATP del cerebro, observación relatada anteriormente, y del hígado, hallazgo que se informa ahora. La fijación de amoníaco en glutamina ocurre tanto en cerebro como en hígado, su incorporación a urea solamente en este último; por tanto, es lógico suponer que cuando hay anoxia el amoníaco no puede ser fijado en ninguno de los dos órganos y manifiesta más su acción tóxica directa.

Se ha emitido la hipótesis de que la toxicidad del amoníaco se debe a que en el cerebro el ácido acetoglutárico es desviada del ciclo de Krebs y, por tanto, disminuye el consumo de oxígeno y no es posible que se sintetice ATP.^{6, 50} Esto también explicaría el aumento en la concentración de ácido pirúvico que se observa en caso de intoxicación amoniacal⁵² y en la insuficiencia hepática severa.³⁷ No obstante, esta hipótesis que tuvo gran auge en el pasado y que es por demás atractiva, encuentra la objeción de que si bien en la intoxicación por amoníaco se ve un aumento considerable de glutamina, este incremento no corresponde al descenso esperado de ácido acetoglutárico y de ácido glutámico.⁵¹ Esto parece indicar que el aumento de concentración de glutamina en el encéfalo podría ser ocasionado por glutamina exógena, es decir, producida en otros territorios, por ejemplo en hígado, la glutamina atraviesa fácil-

mente la barrera hematoencefálica. El cerebro es, sin duda, capaz de sintetizar glutamina, puesto que contiene la enzima glutamina sintetasa y además la inyección intracerebral de ácido glutámico radioactivo marcado con C_{14} produce glutamina de la misma actividad específica.⁵² El enigma parece haber sido aclarado en fecha reciente, puesto que Welsch⁵³ ha encontrado que la inyección de amoniaco marcado con N_{15} produce glutamina que contiene el isótopo pesado, tanto en el grupo alfa-amino como el grupo amidico; la concentración isotópica en cada uno de estos grupos indica que el ácido glutámico precursor de la glutamina se encuentra en un compartimiento particular dentro de la célula cerebral o bien que el esqueleto hidrocarbonado de la glutamina es sintetizado *de novo* en el momento en que se produce este metabolito.

En cualquier forma, se ha demostrado que el amoniaco tiene una acción directa que impide que se realice la descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico y probablemente también del ácido acetoglutárico.⁵⁴ Esta perturbación, por supuesto ocasionaría también un defecto en el funcionamiento del ciclo de Krebs y, por tanto, no se formaría el ATP necesario para procesos biosintéticos. La reacción enzimática mencionada requiere de una coenzima que es el pirofosfato de lipotiamida, de modo que esto podría proporcionar una base firme para los que tratan del coma hepático con la administración de cocarboxilasa. No obstante, en los mismos experimentos mencionados, se refiere que al añadir esta coenzima no se evitó el bloqueo descrito.

Otro punto de interés, que vale la pena señalar, es el hecho de que el músculo retiene en forma aparentemente activa el amoniaco que ha fijado, puesto que a pesar de que 10 minutos después de la administración de una carga la concentración en el espacio extracelular ha regresado a lo normal, en el tejido muscular aún existe una concentración aumentada. Es de suponerse que si la entrada de amoniaco se hizo en forma de amonio, deba salir un catión y seguramente el que lo haría sería el potasio. Experimentos preliminares efectuados en este laboratorio no permitieron probar esta hipótesis, sin embargo, serán repetidos en el futuro en condiciones más críticas. Lo que sí es un hecho es que los aminoácidos básicos, principalmente lisina, penetran a la célula muscular mucho más fácilmente en animales previamente depletados de potasio por medios dietéticos.⁵⁵ Se ha demostrado también que la corteza cerebral puede intercambiar activamente amoniaco por potasio.⁵⁶ Esto daría base a la tendencia que existe en la actualidad de tratar el coma hepático con la administración de grandes cantidades de potasio.

Muchos enfermos cirróticos que tienen hipertensión portal y, por tanto, vrices esofágicas sangran, y ésta es una de las causas más frecuentes de que entren en coma. Se ha invocado que en estos casos la sangre vertida en el interior del intestino es hidrolizada por la flora intestinal produciéndose gran cantidad de amoniaco libre que es absorbido y causa los síntomas neurológicos característicos.

A la luz de nuestros resultados podemos pensar que un factor importante para que estos enfermos entren en coma es la hipoxia consecutiva a la hemorragia que, como se ha visto, causa un descenso en la cantidad de ATP tanto en hígado como en cerebro. Si se toma en cuenta que muchos de estos enfermos presentan ascitis a tensión y por tanto condiciones de hipoventilación pulmonar, creemos que se justifica en estos casos la administración inmediata de oxígeno.

RESUMEN

Se han estudiado en ratas los cambios de concentración de amoníaco y glutamina en cerebro, hígado, músculo y sangre después de la administración intraportal de una carga de cloruro de amonio. Esto ha sido efectuado en animales normales con o sin ligadura del pedículo hepático.

También se ha estudiado la depuración de la carga de amoníaco en ratas en las que se ha producido una cirrosis de tipo postnecrosis mediante la administración crónica de tetracloruro de carbono, en animales sometidos a hepatectomía parcial, en otros alimentados con dieta cuya fuente de proteína es zeína, deficiente en triptofano y lisina. En estos animales se estudió la actividad de las enzimas que participan en la fijación de amoníaco, en la síntesis de glutamina, en la reaminación reductiva del ácido alfaacetoglutarico y en la síntesis de urea.

También se investigó la depuración en animales anémicos y en otros sometidos a hipoxia, en quienes se determinó además la concentración de ATP del hígado.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se ha hecho una valoración de la participación del hígado y de los tejidos periféricos para la fijación de amoníaco. Se ha visto cómo la baja actividad de las enzimas estudiadas explica la depuración deficiente en ciertos grupos experimentales. En los animales anémicos e hipóxicos, la depuración disminuida se explica por el descenso en la concentración de ATP. Se discuten los hallazgos anteriores en relación con observaciones de otros autores y se hacen algunas implicaciones clínicas.

REFERENCIAS

1. Sullivan, J. F.; Linder, H.; Holdener, P., y Ortmeier, L.: *Blood Ammonia in Cerebral Dysfunction*. Am. J. of Medicine 30: 893, 1961.
2. McDermott, W. V., Jr.; Adams, R. D., y Ridell, A. G.: *Ammonia Metabolism in Man*. Annals of Surgery 140: 539, 1954.
3. Sherlock, S.: *Hepatic coma*. Gastroenterology 41: 1, 1961.
4. Webster, L. T., Jr., y Gabuzda, G. J.: *Ammonia uptake by the extremities and brain in Hepatic coma*. J. Clin. Invest. 37: 414, 1958.
5. Tyor, M. P.; Owen, E. E.; Barry, J. N., y Flanagan, J. F.: *The Relative Role of Extremity, liver and Kidney as ammonia receivers and donors in patients with liver disease*. Gastroenterology 39: 420, 1960.
6. Bessman, S. P., y Brady, J. E.: *Uptake of ammonia by muscle, its implication in ammoniogenic coma*. New Engl. J. of Med. 253: 1143, 1955.
7. McDermott, W. V., y Adams, R. D.: *Episodic Stupor associated with an Eck fistula*

- in the Human with particular reference to the Metabolism of Ammonia. J. Clin. Invest. 33: 1, 1954.
8. Fahey, J. L.: Toxicity and Blood Ammonia Rise resulting from intravenous amino acid administration in man; the protective effect of L-Arginine. J. Clin. Invest. 36: 1641, 1957.
 9. Webster, L. T., Jr., y Gabuzda, G. J.: Effect on portal blood ammonium concentration of administering methionine to patients with Hepatic cirrhosis. J. of Lab. and Clin. Med. 50: 426, 1957.
 10. White, L. P.; Phear, E. A.; Summerskill, W. H. S.; Sherlock, S.: Ammonium tolerance in liver disease: Observations based on catheterization of the hepatic veins. J. Clin. Invest. 34: 158, 1955.
 11. Stahl, J.; Bockel, R., e Imler, M.: Signification de l'ammoniémie provoquée par l'administration intraveineuse de chlorure d'ammonium dans la cirrhose. Revue française d'études clin. et biol. 4: 1002, 1959.
 12. Conn, H. O.: Ammonia Tolerance in Liver Disease. J. Lab. and Clin. Med. 55: 855, 1960.
 13. Egense, J.: Ammonium Tolerance test. A diagnostic aid in liver diseases. Acta Med. Scand. 167: 53, 1960.
 14. Cohen, P. P., y Brown, G. W., Jr: en Comparative Biochemistry. Volumen II, editado por M. Florin y H. S. Mason, Nueva York, Academic Press, pág. 161, 1960.
 15. Kaplanskii, S. Ia., y Berezovskaia, N. N.: The synthesis of alanine from pyruvic acid and ammonia by a purified enzyme preparation from the mitochondria of rat liver. Biochemistry USSR 23: 628, 1958.
 16. Du Ruisseau, J. P.: Acetil aspartic acid and ammonia poisoning. Canadian J. of Biochem. and Physiol. 38: 763, 1960.
 17. Yamafuji, K., Osajima, Y., y Omura, H.: Enzymatic Cycle of Inorganic Nitrogen in Animal Tissues. Nature 185: 162, 1960.
 18. Conway, E. S.: Microdiffusion Analysis and volumetric error. D. Van Nostrand Co. Princeton N. J. p. 321, 1940.
 19. Harris, M. M.: Studies regarding a glutamine-like substance in blood and spinal fluid, including a method for its quantitative determination. J. Clin. Invest. 22: 569, 1943.
 20. Richter, D., y Dawson, R. M. C.: The ammonia and glutamine content of the brain. J. Biol. Chem. 176: 1199, 1945.
 21. Owen, E. E.; Tyor, M. P.; Flanagan, J. F., y Berry, J. N.: The kidney as a source of blood ammonia in patients with liver disease. The effect of acetazolamide. J. Clin. Invest. 39: 288, 1960.
 22. Dalglish, C. E., y Tabechian, H.: Comparison of the metabolism of uniformly C¹⁴-labelled, L-phenylalanine, L-tyrosine and L-tryptophan in the rat. Biochem. J. 62: 625, 1956.
 23. W. H. Elliot en: Methods of Enzymology. Volumen II, edited by S. P. Colowick y N. O. Kaplan. Nueva York, Academic Press, p. 337, 1955.
 24. Strecker, H. J. en: Methods of Enzymology. Volumen II, edited by S. P. Colowick y N. O. Kaplan. Nueva York, Academic Press, p. 220, 1955.
 25. Brown, G. W., y Cohen, P. P.: Comparative Biochem of urea synthesis. I. Methods for the quantitative assay of urea cycle enzymes in liver. J. Biol. Chem. 234: 1769, 1959.
 26. Knox, W. E. y Auerbach, V. N.: Metabolic Adaptation. Physiol. Revs. 36: 164, 1956.
 27. Ondarza, R. N.: Acta Physiol. Lat. Amer. 7: 147, 1957.
 28. Bucher, T.: Probleme des energie transports innerhalb lebender zellen. Adv. in Enzymology 14: 1, 1953.
 29. Weil-Malherbe, H. y Drysdale, A. G.: Ammonia formation in brain. III The role of the protein amide groups and of hexosamines. J. Neurochem. 1: 250, 1957.
 30. Sánchez, Q. E.; Soberón, G.; Palacios, O.; Lee, E., y Kuri, M.: Changes in Effective Enzyme Concentration in the Growing Rat Liver II. Liver Regeneration after partial hepatectomy. J. Biol. Chem. 236: 1607, 1961.
 31. Kennan, A. L., y Cohen, P. P.: Ammonia detoxication in liver from humans. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 106: 170, 1961.
 32. Duda, G. D., y Handler, P.: Kinetics of Ammonia Metabolism in vivo. J. Biol. Chem. 232: 303, 1958.

33. Drapanas, T.; Kluge, D. N.; Schreiber, M., y Stewart, J. D.: *The direct removal of portal blood ammonia by the liver*. Surg. Gyn. Obst. 111: 58, 1960.
34. Otto, J. J.; Pender, J. C.; Cleary, J. H.; Sensenig, D. M., y Welch, C. S.: *The use of a donor liver in experimental animals with elevated blood ammonia*. Surgery, 43: 301, 1958.
35. Gutiérrez Sacasa, J. I.: *Alteraciones electroencefalográficas en los enfermos con cirrosis del hígado*. Tesis para la obtención de grado académico (Gastroenterología) U.N.A.M., 1961.
36. Artz, C. P.; Stanley, T. V.; Eure, W. R.; Langford, H. G., y Snively, J. P.: *In flow and outflow changes in ammonia concentration of liver, muscle and brain*. Surgery 44: 22, 1958.
37. Summerskill, W. H.; Wolfe, J. J., y Davidson, C. S.: *The metabolism of ammonia and ketoacids in liver disease and hepatic coma*. J. Clin. Invest. 36: 361, 1957.
38. Eiseman, B., y Clark, G. M.: *Studies in ammonia metabolism. III The experimental production of coma by carotid arterial infusion of ammonium salts*. Surgery 43: 476, 1958.
39. Rosado, A.; Flores, G.; Mora, J., y Soberón, G.: *Distribution of an ammonia load in the normal rat*. Am. J. of Physiol. 203: 37, 1962.
40. Webster, L. T. Jr., y Gabuzda, G. J.: *Relation of azotemia to blood Ammonium in patients with hepatic cirrhosis*. Arch. Int. Med. 103: 15, 1959.
41. Walsler, M., y Bodenlos, L. J.: *Urea Metabolism in Man*. J. Clin. Invest. 38: 1617, 1959.
42. Owen, E. E.; Johnson, J. H., y Tyor, M. P.: *The effect of induced hyperammonemia on renal ammonia metabolism*. J. Clin. Invest. 40: 215, 1961.
43. Warren, K. S.: *The differential toxicity of ammonium salts*. J. Clin. Invest. 37: 497, 1958.
44. Warren, K. S.; Iber, F. L.; Dölle, W. y Sherlock, S.: *Effect of alterations in blood pH on distribution of Ammonia from blood to cerebro spinal fluid in patients in hepatic coma*. J. Lab. and Clin. Med. 56: 687, 1960.
45. Reese, A. J. M.: *The effect of hypoxia on liver secretion studied by intravital fluorescence microscopy*. British, J. Expt. Path. 41: 527, 1960.
46. Hannon, J. P.; Cook, S. F. y Leon, H. A.: *Oxidative and Phosphorylative Metabolism of Rat Liver Tissue Following in situ anoxia*. Am. J. Physiol. 191: 81, 1957.
47. Thorn, W.; Scholl, H.; Pfeleiderer, G., y Mueldener, B.: *Stoffwechselvorgänge im Gehirn bei normaler und Herabgesetzter körpertemperatur unter ischämischer und anoxischer belastung*. J. Neurochem. 2: 150, 1958.
48. Samson, F. E.; Balfour, W. M., y Dahl, N. A.: *Cerebral free energy and viability: ATP in rats under nitrogen and iodoacetate with the effects of temperature*. Am. J. of Physiol. 199: 1105, 1960.
49. Bessman, S. P., y Bessman, A. N.: *The cerebral and peripheral uptake of ammonia in liver disease with an hypothesis for the mechanism of hepatic coma*. J. Clin. Invest. 34: 622, 1955.
50. Clark, G. M., y Eiseman, B.: *Studies in ammonia metabolism. IV Biochemical changes in brain tissue of dogs during ammonia induced coma*. N. Engl. J. Med. 259: 178, 1958.
51. Roberts, E.; Rothstein, M., y Baxter, C. F.: *Some metabolic studies of aminobutyric acid*. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 97: 796, 1958.
52. Takagaki, G.; Berl, S.; Clarke, D. D.; Purpura, D. P., y Waelsch, H.: *Glutamic acid metabolism in brain and liver during infusion with ammonia labelled with nitrogen-15*. Nature. 189: 326, 1961.
53. McKhann, G. M., y Tower, D. B.: *Ammonia Toxicity and Cerebral Oxidative Metabolism*. Am. J. Physiol. 200: 420, 1961.
54. Eckel, R. E.; Pope, C. E., y Norris, J. E. C.: *Influence of lysine and NH₄Cl Feeding in the Electrolytes of Normal and K-Deficient Rats*. Am. J. Physiol. 193: 653, 1958.
55. Tower, D. B.; Wherret, J. R. y McKhan, G. M.: *In Regional Chemistry of the Nervous System*. Edited by S. S. Kety, Oxford Pergamon, p. 65, 1961.

COMENTARIO AL TRABAJO
"HIPERAMONEMIA E INSUFICIENCIA HEPÁTICA"*

DR. JORGE FLORES ESPINOSA

ME ES PARTICULARMENTE GRATO comentar este trabajo, por su excelente calidad y por el interés que he tenido en los problemas que estudia en forma experimental el Dr. Soberón.

De sus investigaciones se desprende que, en efecto, hay una relación directa entre la insuficiencia hepática y el aumento de amonio en los tejidos particularmente: cerebro, hígado y músculos.

A este aumento de amonio se ha atribuido la producción de coma, problema de sumo interés en las hepatopatías, especialmente en cirrosis. Personalmente he estudiado con detenimiento el coma y, en dos publicaciones,^{1, 2} he reportado mis observaciones clínicas y la seguridad de que el coma hepático es producido por múltiples causas que, incluso, pueden variar de un paciente a otro. Entre todas ellas: hipoxia, acidosis o alcalosis, perturbaciones de electrolitos, aumento de amonio, aumento de ácido pirúvico, anemia posthemorrágica e incluso problemas asociados como: infecciones, insuficiencia renal por nefrosis colémica demostrada en 3 casos en autopsia y en uno más por punción biopsia de riñón^{3, 4} en 70 casos de cirrosis del hígado, estudiados el año de 1961 en el Pabellón No. 20 del Hospital General. También cisticercos cerebrales y hemorragias intracraneanas actuaron en algún caso. Es seguro que el amonio desempeña un papel dominante en algunos casos, como cuando se ha practicado derivación portocava y la sangre del intestino pasa directamente a la circulación general. Uno de nuestros casos, operado por E. Flores Espinosa con anastomosis portocava latero-lateral, murió un mes después de la intervención en coma, coincidente con elevación notable de amonio en la sangre. En la autopsia no se demostró que hubiera ningún otro problema y la anastomosis estaba perfecta.

De particular interés me parecen las investigaciones del Dr. Soberón y sus colaboradores en relación con la anoxia y la explicación de que ésta actúa al

* Leído el 9 de mayo de 1962.

través de la baja concentración de ATP, del mismo modo que lo haría la anemia. Estos dos elementos: disminución de oxígeno y baja del volumen sanguíneo son, en la clínica humana, problemas muy frecuentes dada la facilidad con que se producen hemorragias en los enfermos hepáticos. Esto no sólo tiene interés académico sino también práctico, pues la administración de sangre en transfusión y de oxígeno deben formar parte habitual del tratamiento del coma.

Otro punto que desea destacar es el referente al aumento del ácido pirúvico en sangre y líquido cefalorraquídeo, como lo demostramos en las investigaciones realizadas por Irma Gutiérrez⁵ en su tesis recepcional. Por ello he recomendado que en el tratamiento del coma se incluyan diversas enzimas. Desde luego, la cocarboxilasa, como el Dr. Soberón lo indica, pero además ácido lipóico necesario para que se forme pirofosfato de lipotiamida y también coenzima A, con lo cual se administran los sistemas enzimáticos en cadena. Los resultados obtenidos por nosotros justifican, por lo menos, la utilización de estas enzimas. Es frecuente ahora en nuestro Servicio del Hospital General, observar recuperación de enfermos que duran en coma hasta 4 días.

Esto no quiere decir que la mortalidad se haya modificado, pues la mayoría vuelve a tener hemorragias y de nuevo coma. No ha sido raro el caso en que hemos asistido a verdaderas resurrecciones en dos o tres ocasiones para ver morir a nuestro enfermo en un cuarto ataque. Por ello he pensado que el tratamiento lógico sería prolongar la administración de las enzimas durante un tiempo muy prolongado y no sólo para sacarlo del coma. Desgraciadamente no he podido contar con una dotación suficiente de los medicamentos que me permitiera sostener el tratamiento por varias semanas o, incluso, por meses y no puedo informar nada al respecto.

También encuentro en el trabajo del Dr. Soberón justificación para el uso de ATP en el tratamiento del coma hepático, pero desgraciadamente los resultados que hemos obtenido son muy difíciles de valorar, dado que siempre usamos diversos métodos en una lucha desesperada por salvar a los enfermos y, en consecuencia, no podría sólo usar uno o dos recursos terapéuticos, sino todos los que el caso va aconsejando.

La explicación que el Dr. Soberón da de la patogenia de coma, después de hemorragia gastrointestinal, parece muy bien pensada y aceptable; es decir, no sólo la posibilidad de que en el tubo digestivo se forme una cantidad elevada de amoníaco derivado de la putrefacción de la sangre, sino la importantísima condición de la hipoxia o anoxia con baja de ATP y ruptura del ciclo de Krebs a nivel de ácido pirúvico. Resulta imposible decir cuál factor será el dominante, pero desde luego me inclino a pensar que la anoxia es de mayor interés.

He tenido la suerte de obtener información complementaria del trabajo del Dr. Soberón en la tesis recepcional de R. Maggio Couturier,⁶ en la cual se

describen en detalle los exactos y laboriosos métodos que se siguieron en la investigación.

Es muy agradable saber que en nuestra patria existen grupos de trabajo tan estimables como los Bioquímicos, que ahora nos han traído el fruto de sus esfuerzos.

REFERENCIAS

1. Flores Espinosa, J.: *Coma en un hepático*. Rev. Méd. Hosp. Gral. Méx. XX. 7, 517. Jul., 1957.
2. Flores Espinosa, J.; Monroy, O., y Maya, F.: *Coma hepático. Patogenia y tratamiento*. Rev. Gastroent. Méx. XXIV. 142. 235: 252. Jul-Ag. 1959.
3. Olivo, Laura Eugenia: *Punción Biopsia de Riñón*. Tesis Recepcional. U.N.A.M., 1962.
4. García, Rosa Raquel: *Mortalidad en Cirrosis del Hígado*. Tesis Recepcional. U. N. A. M., 1962.
5. Gutiérrez Zúñiga, Irma. *Coma Hepático y Acido Pirúvico*. Tesis Recepcional. U. N. A. M., 1959.