

## Glutaminasa intestinal y encefalopatía hepática

MARÍA JOVER Y MANUEL ROMERO

Unidad de Hepatología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

La hiperamoniemia es un factor fundamental de la patogenia de la encefalopatía hepática (EH). La glutaminasa activada por fosfato cataliza la hidrólisis de la glutamina para dar glutamato, energía, síntesis de nucleótidos y amonio. Hay dos isoformas principales de la glutaminasa: K y L. La isoforma K se encuentra en el riñón, el cerebro y las vellosidades intestinales, mientras que la isoforma L únicamente se halla en el hígado.

Durante la segunda mitad del siglo pasado se consideró que la principal fuente de amonio en el paciente con cirrosis era el metabolismo de los productos nitrogenados por las bacterias intestinales del colon<sup>1</sup>. No obstante, hay pruebas

que avalan el papel del intestino delgado en la producción de amonio: *a)* el desarrollo de hiperamoniemia y encefalopatía en ratas sometidas a derivación portocava es similar en ratas en las que se eliminó la flora bacteriana con antibióticos y en ratas con flora preservada<sup>2,3</sup>; *b)* se ha demostrado un rápido aumento del amonio en sangre después de un aporte oral de glutamina que no se puede explicar por la acción de las bacterias ni su metabolismo en el colon<sup>4,5</sup>; *c)* en pacientes cirróticos con derivación intrahepática portosistémica, la producción de amonio en el intestino delgado constituye la mayor fuente para la hiperamoniemia sistémica y el amonio deriva básicamente del metabolismo de la glutamina<sup>6</sup>.

### Puntos clave

- La glutaminasa activada por fosfato cataliza la hidrólisis de la glutamina para dar glutamato, energía, síntesis de nucleótidos y amonio.
- La producción de amonio en el intestino delgado a partir del metabolismo de la glutamina contribuye de manera preferente al desarrollo de la hiperamoniemia sistémica en pacientes con cirrosis.
- La actividad de la glutaminasa intestinal se correlaciona con las alteraciones típicas de la encefalopatía hepática mínima, tanto neuropsicológicas (pruebas psicométricas) como en la resonancia magnética espectroscópica (descenso de los valores de colina y aumento de los de glutamina).
- La producción de amonio en el intestino delgado y la actividad glutaminasa están reguladas por factores asociados a la hipertensión portal (óxido nítrico) y factores implicados en la inflamación sistémica (factor de necrosis tumoral).
- La glutaminasa intestinal representa una nueva diana terapéutica para evitar la aparición de hiperamoniemia en el paciente con cirrosis. La prueba de la sobrecarga oral de glutamina podría utilizarse en el seguimiento de la eficacia de estos fármacos.

### Distribución de la actividad de la glutaminasa en el tracto gastrointestinal

En personas sanas, la mayor actividad de la glutaminasa a lo largo del tracto gastrointestinal se encuentra en el duodeno (53 nmol glutamato min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup>), de forma que aproximadamente un total del 84% de la actividad de la glutaminasa se encuentra en el intestino delgado. En el intestino grueso (20 nmol glutamato min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup>), se concentra un 15% de la actividad total de la glutaminasa, mientras que en el esófago y el estómago se detecta una actividad residual o nula<sup>7</sup>. Estos datos coinciden con los descritos en ratas, en las que la distribución de la actividad de la glutaminasa a lo largo del tracto intestinal es superponible a la comunicada en humanos<sup>8</sup>.

### Papel de la glutaminasa en el intestino delgado

La deamidación de la glutamina por la glutaminasa intestinal produce energía, aminoácidos que se pueden utilizar para la síntesis de proteínas, amonio y sustratos para la síntesis *de novo* de ácidos nucleicos, lo que permite mantener el continuo recambio celular en las vellosidades y evita la aparición de atrofia intestinal. Además, la glutamina y la actividad de la glutaminasa linfocitaria tienen un importante papel en el mantenimiento de la respuesta inmune frente a patógenos intestinales<sup>9</sup>.

Este artículo está financiado, en parte, por la Red Nacional de Encefalopatía Hepática (G03/155-2002). Proyecto FIS (PI040384).

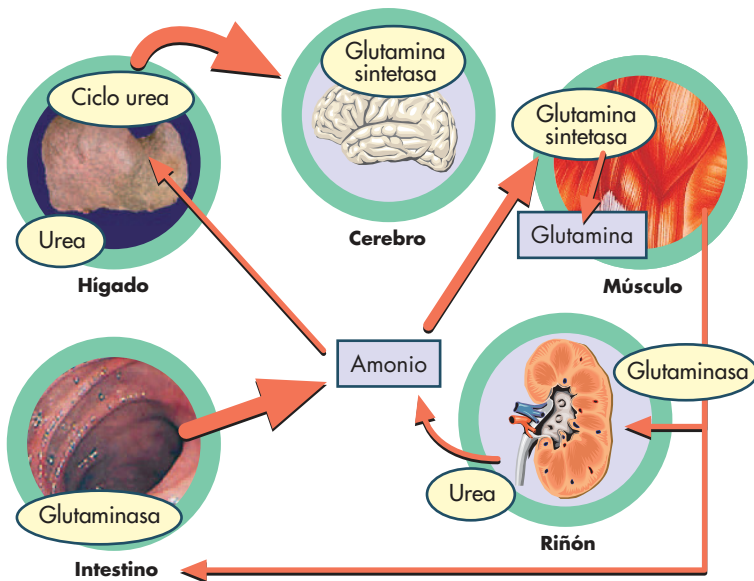


Figura 1. Posible intercambio de amonio entre los distintos órganos.

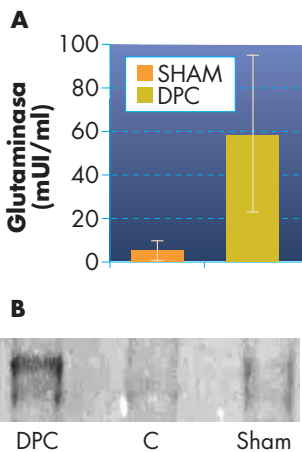


Figura 2. A) Actividad de la glutaminasa intestinal en 8 ratas sometidas a derivación portocava (DPC) y 8 animales sometidos a operación simulada (SHAM). B) Western-blot en el que se muestra una mayor cantidad de glutaminasa en ratas operadas con DPC, tanto respecto a ratas control (C) como ratas con operación simulada (SHAM).

## Glutaminasa intestinal en la encefalopatía hepática

La actividad de la glutaminasa intestinal está elevada casi cuatro veces en pacientes con cirrosis respecto a controles sanos<sup>10</sup>. Así también, la actividad glutaminasa está íntimamente relacionada con la encefalopatía hepática mínima (EHM). La actividad de la glutaminasa está especialmente elevada en el grupo de pacientes con EHM y que presentan una prueba de sobrecarga oral de glutamina (SOG) alterada, que, de hecho, son sujetos que pertenecen al grupo de pacientes con mayor riesgo para el desarrollo de EH y menor supervivencia<sup>11</sup>. Además, la actividad de la glutaminasa se correlaciona con las alteraciones típicas de la EHM en la resonancia magnética espectroscópica, como son el descenso de la colina y el aumento de la glutamina intracerebral. Dado que la hiperamonemia sistémica depende fundamentalmente de la producción intestinal de amonio, y ésta a su vez deriva de la deamidación de la glutamina, la glutaminasa intestinal sería la enzima reguladora de la producción intestinal de amonio y, por ende, de la hiperamonemia sistémica. En condiciones normales, el hígado elimina el amonio a través del ciclo de la urea, pero en la cirrosis hepática, la detoxi-

ficación del amonio tiene lugar en el músculo a partir de la síntesis de glutamina por la enzima glutaminasintetasa (fig. 1). Además, en ratas sometidas a derivación portocava, un modelo de hiperamonemia crónica, la actividad de la glutaminasa está también elevada en el intestino delgado en comparación con ratas control sometidas a una operación simulada<sup>12</sup> (fig. 2).

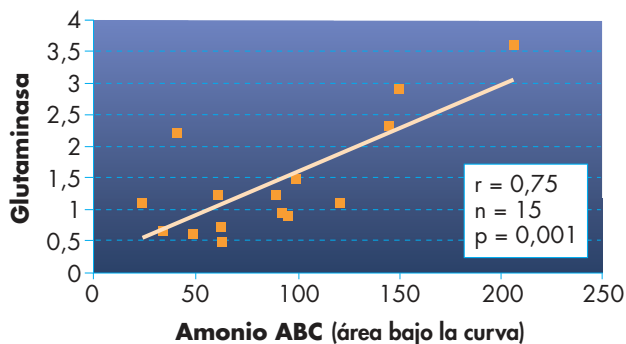
La SOG podría ser una medida indirecta de la actividad glutaminasa intestinal, aunque también está influida por el grado de comunicaciones portosistémicas y la disfunción hepática (fig. 3A). La SOG es una prueba segura, sin efectos adversos reseñables cuando se utilizan 10 g de L-glutamina. Tras la ingesta de glutamina se produce un ascenso de la amonemia sistémica que alcanza su acmé a los 60 minutos, declinando posteriormente (fig. 3B). Por tanto, la inhibición de la actividad glutaminasa intestinal puede ser una diana terapéutica en el futuro y la prueba de la SOG podría permitir el control de la utilidad de estos fármacos. La neomicina ha demostrado capacidad para inhibir la actividad glutaminasa en ratas sometidas a derivación portocava, de forma que

este mecanismo de acción podría explicar sus efectos beneficiosos en el tratamiento de la EH<sup>12</sup>.

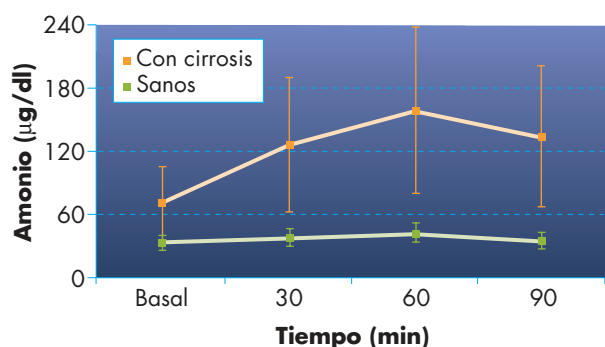
## Regulación de la actividad de la glutaminasa

No se conoce el mecanismo por el cual la actividad de la glutaminasa está incrementada en pacientes con cirrosis. La glutaminasa se activa por glucagón y angiotensina II<sup>13</sup>. Por ello, la hiper glucagonemia que se ha observado frecuentemente en pacientes con cirrosis podría ser la causante, en parte, del aumento de la actividad enzimática. En pacientes con cirrosis y derivación esplenorrenal, los valores de glucagón se incrementan después de la inyección de L-arginina<sup>14</sup>. Este aspecto apoya la conexión entre la liberación de óxido nítrico en el área esplácnica, la hiper glucagonemia y el incremento de la actividad de la glutaminasa. Por otro lado, la circulación hiperdinámica en pacientes con cirrosis conlleva el incremento de concentraciones de las hormonas vasoconstrictoras que podrían estimular la expresión de la glutaminasa. Por último, las adaptaciones en la glutaminasa L están mediadas por cambios en la velocidad de transcripción, mientras que la glutaminasa tipo K tiene una regulación postranscripcional<sup>15</sup>.

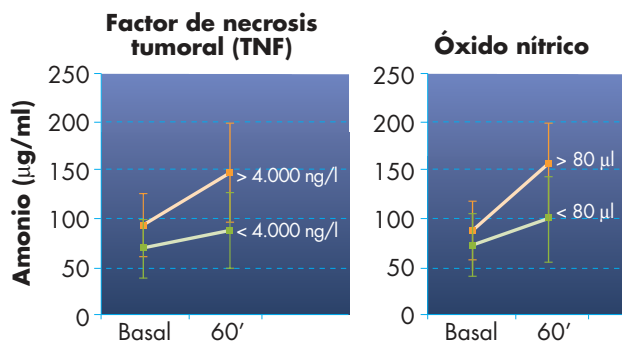
Por una parte, en pacientes con cirrosis, las concentraciones séricas de óxido nítrico y de factor de necrosis tumoral (TNF) influyen en la actividad glutaminasa y la respuesta a la sobrecarga de glutamina. El incremento de amonio después de una ingesta de glutamina es significativamente mayor en pacientes con valores basales elevados de óxido nítrico o de TNF (fig. 4). Todos estos datos sustentan la hipótesis de que la producción intestinal de amonio está modulada tanto por el síndrome de hipertensión portal (valores de óxido nítrico) como por el síndrome de respuesta inflamatoria (valores de TNF), ambos síndromes podrían proporcionar una nueva diana terapéutica para futuros enfoques de tratamiento de la EH. Por otra parte, se ha comunicado la presencia de varios polimorfismos en el promotor del gen de la glutaminasa que pueden modular la actividad proteica, en ambos sentidos, aumentar o disminuir la actividad de la glutaminasa<sup>16</sup>.



**Figura 3A.** Relación entre la producción de amonio después de una sobrecarga de glutamina y la actividad de la glutaminasa intestinal.



**Figura 3B.** Sobrecarga de glutamina oral en pacientes con cirrosis y en controles sanos.



**Figura 4.** Evolución de la amoniemia tras la ingesta de 10 g de L-glutamina en pacientes con cirrosis según los valores basales de factor de necrosis tumoral y óxido nítrico.

## Conclusiones

En pacientes con cirrosis se detecta un aumento de la actividad de la glutaminasa. Este incremento está estrechamente relacionado con la EHM y modulado tanto por factores relacionados con la hipertensión portal como por factores que regulan la inflamación sistémica. Este aumento de actividad enzimática sería la causante, en gran medida, de la hiperamoniemia sistémica, y su inhibición representa un gran reto para la mejora del tratamiento de la encefalopatía hepática.

## Bibliografía

● Importante ●● Muy importante

1. Sherlock S. Chronic portal-systemic encephalopathy: update 1987. *Gut*. 1987; 28:1043-8.
2. Nance FC, Kline DG. Eck's fistula encephalopathy in germ-free dogs. *Ann Surg*. 1971;174:856-61.
3. Warren KS, Newton WL. Portal and peripheral blood Ammonia concentrations in germ-free and conventional guinea pigs. *Am J Physiol*. 1959;197:717-20.
4. Oppong KN, Al-Mardini H, Thick M, Record CO. Oral glutamine challenge in cirrhotics pre- and post-liver transplantation: a psychometric and analysed EEG study. *Hepatology*. 1007;26:870-6.
5. ● Romero-Gómez M, Grande L, Camacho I, Benítez S, Irlés JA, Castro M. Altered response to oral glutamine challenge as prognostic factor for overt episodes in patients with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2002;85:871-7.
6. ●● Olde Damink SW, Jalan R, Redhead DN, Hayes PC, Deutz NE, Soeters PB. Interorgan ammonia and amino acid metabolism in metabolically stable patients with cirrhosis and a TIPSS. *Hepatology*. 2002;36:1163-71.
7. ● James LA, Lunn PG, Middleton S, Elia M. Distribution of glutaminase and glutamine synthetase activities in the human gastrointestinal tract. *Clin Sci*. 1998;94:313-9.
8. James LA, Lunn PG, Elia M. Glutamine metabolism in the gastrointestinal tract of the rat assessed by the relative activity of glutaminase (EC 3.5.1.2) and glutamine synthetase (EC 6.3.1.2). *Br J Nutrition*. 1988;79:365-72.
9. ● McCauley R, Kong SE, Heel K, Hall JC. The role of glutaminase in the small intestine. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999;31:405-13.
10. ●● M, Ramos-Guerrero R, Grande L, de Teran LC, Corpas R, Camacho I, et al. Intestinal glutaminase activity is increased in liver cirrhosis and correlates with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2004;41:49-54.
11. ●● Romero-Gómez M, Grande L, Camacho I. Prognostic value of altered oral glutamine challenge in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 2004;39:939-43.
12. ●● Hawkins RA, Jessy J, Mans AM, Chedid A, DeJoseph MR. Neomycin reduces the intestinal production of ammonia from glutamine. *Adv Exp Med Biol*. 1994;368:125-34.
13. Corvera S, García-Sainz JA. Hormonal stimulation of mitochondrial glutaminase. Effects of vasopressin, angiotensin II, adrenaline and glucagons. *Biochem J*. 1983;210:957-60.
14. Hashimoto N, Ashida H, Kotoura Y, Nishioka A, Nishiwaki M, Utsunomiya J. Analysis of hepatic encephalopathy after distal splenoportal shunt-PTP image and pancreatic hormone kinetics. *Hepato-gastroenterology*. 1993;40:360-4.
15. Curthoys NP, Watford M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu Rev Nutr*. 1995;15:133-59.
16. ● Taylor L, Liu X, Newsome W, Shapiro RA, Srinivasan M, Curthoys NP. Isolation and characterization of the promoter region of the rat kidney-type glutaminase gene. *Biochem Biophys Acta*. 2001;1518:132-6.

## Bibliografía recomendada

Olde Damink SW, Jalan R, Redhead DN, Hayes PC, Deutz NE, Soeters PB. Interorgan ammonia and amino acid metabolism in metabolically stable patients with cirrhosis and a TIPSS. *Hepatology*. 2002;36:1163-71.

*Estudio que establece la importancia de la producción de amonio en el intestino delgado y avala el papel de la glutamina como principal fuente para la producción de amonio en pacientes con cirrosis.*

James LA, Lunn PG, Middleton S, Elia M. Distribution of glutaminase and glutamine synthetase activities in the human gastrointestinal tract. *Clin Sci*. 1998;94:313-9.

*Estudio que describe la distribución de la actividad de la glutaminasa por todo el tracto intestinal. El 84% de la actividad de esta enzima se concentra en el intestino delgado y el 15% en el colon.*

Hawkins RA, Jessy J, Mans AM, Chedid A, DeJoseph MR. Neomycin reduces the intestinal production of ammonia from glutamine. *Adv Exp Med Biol*. 1994;368:125-34.

*Estudio que demuestra un aumento de la actividad de la glutaminasa intestinal en ratas sometidas a derivación portocava y preconiza su inhibición como uno de los mecanismos de acción de la neomicina en el tratamiento de la encefalopatía hepática.*

Romero-Gómez M, Ramos-Guerrero R, Grande L, de Teran LC, Corpas R, Camacho I, et al. Intestinal glutaminase activity is increased in liver cirrhosis and correlates with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2004;41:49-54.

*Estudio que demuestra el aumento de actividad de la glutaminasa intestinal en pacientes con cirrosis y su estrecha relación con la presencia de encefalopatía hepática mínima.*