

Hepatic encephalopathy : a new perspective for therapy

Citation for published version (APA):

Soeters, P. B. (1979). *Hepatic encephalopathy : a new perspective for therapy*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19790403ps>

Document status and date:

Published: 01/01/1979

DOI:

[10.26481/dis.19790403ps](https://doi.org/10.26481/dis.19790403ps)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

In chapter 1, difficulties are described, encountered in studying "hepatic encephalopathy". An overview is given of current hypotheses and the problems involved in proving their validity. The "Amino acid-Neurotransmitter hypothesis is described in more detail because it served as the basis for the experiments that are described in this thesis. An outline is given of these experiments.

In chapter 2, experiments are described which were carried out to determine if infusion of glucose amino acid mixtures specifically designed to normalize pathologic plasma amino acid patterns in dogs with hepatic encephalopathy, allowed adequate protein feeding without deterioration of encephalopathy. Eight dogs developed hepatic encephalopathy after receiving a porta-caval shunt. They were infused in a randomized cross-over fashion with a glucose-amino acid mixture (4 g amino acids/kg/24 hrs) of a specific amino acid composition (F080), calculated to normalize the pathological plasma amino acid pattern encountered in hepatic encephalopathy, or a glucose-amino acid mixture with a reduced amino acid content (2 g amino acids/kg/24 hrs) of a conventional composition (Freamine II).

- A marked improvement in neurological state was observed in all dogs receiving F080, whereas dogs which received Freamine II did not improve significantly, or even deteriorated neurologically.
- The ratio between the sum of the plasma branched-chain amino acids and the sum of the aromatic amino acids tyrosine and phenylalanine, which has been claimed to be a sensitive indicator for hepatic encephalopathy, improved after infusion of F080 and did not improve with Freamine II.
- This ratio did not distinguish however between dogs subjected to porta-caval anastomosis with and without hepatic encephalopathy.
- Plasma ammonia levels tended to decrease after infusion of both types of solution.
- The addition of branched-chain amino acids and withdrawal of aromatic amino acids is crucial for the achievement of a beneficial effect on neurological status.

In chapter 3, experiments are described to shed light on the possible relationship between the pathological plasma amino acid pattern of liver disease and hepatic coma, and the plasma insulin- and glucagon levels. Plasma insulin- and glucagon levels and coinciding plasma amino acid patterns and glucose levels were determined in dogs before and after porta-caval anastomosis and when hepatic encephalopathy had developed. Arginine infusion tests were performed.

- A modest hyperinsulinemia was observed after porta-caval anastomosis. Plasma insulin levels tended to normalize when hepatic encephalopathy had developed.
- Modest hyperglucagonemia developed after porta-caval anastomosis.
- Hyperglucagonemia became marked in hepatic encephalopathy and

- coincided with a high catabolic rate.
- Hyperaminoacidemia was most pronounced in hepatic encephalopathy and a possible relationship with hyperglucagonemia and the catabolic state is discussed.
- An inverse temporary relationship between plasma branched-chain amino acid levels and plasma insulin levels was noted and a possible relationship is suggested.

To confirm the apparent good results reported in chapter 2, the use of F080 is studied in chapter 4 in an anecdotal group of eight patients with chronic cirrhosis and in 3 patients with fulminant hepatitis.

- Hyperaminoacidemia was most severe in fulminant hepatitis and involved all amino acids with the exception of the plasma branched-chain amino acids, which were within the normal range.
- Hepatic encephalopathy improved in all 8 patients with chronic cirrhosis and in only one patient with fulminant hepatitis.
- From this pilot study, it can be concluded that adequate amounts of amino acids can be fed to patients with hepatic encephalopathy, provided that a specific amino acid composition is employed.
- Various events precipitating hepatic encephalopathy coincide with the same plasma amino acid pattern.
- Dose-response curves were observed: when more F080 was infused, lower concentrations of plasma aromatic amino acids and ammonia were observed even though the solution contained some of these substances.

To study the role of anabolism, in chapter 5 the influence of exogenous enteral or parenteral intake was determined on plasma and brain concentrations of aromatic amino acids and octopamine, in rats subjected to sham-operation or to porta-caval shunt.

- In sham-operated animals, the composition of amino acids administered, appeared to have little effect on the plasma and brain aromatic amino acids and octopamine. After end-to-side porta-caval shunt, plasma and brain concentrations of aromatic amino acids were responsive to exogenous intake.
- In rats with end-to-side porta-caval shunts, graded increments of amino acids were given. When the animals achieved positive nitrogen balance, plasma and brain aromatic amino acid concentrations and - octopamine, decreased.
- The results suggest that in rats with end-to-side porta-caval shunts, exogenous intake and the level of catabolism influence plasma and brain aromatic amino acids.

Chapter 6 comprises experiments, devised to elucidate possible mechanisms involved in the genesis of the decrease in plasma branched-chain amino acid levels in rats subjected to porta-caval shunt.

The fate of labelled leucine was determined in *in vitro* incubations of pieces of tissue obtained from rats subjected to sham-operation or to porta-caval shunt.

Incorporation of leucine into protein and fat, combustion to CO₂, and free leucine pools were determined. No significant differences were observed for diaphragm and kidney between rats with porta-caval shunts or control rats. A significant increase in the incorporation of leucine derived carbon into fatty acid in adipose tissue was observed in rats with porta-caval shunts. It is suggested that adipose tissue may be involved in the regulation of plasma leucine levels.

In chapter 7, a comprehensive interpretation is given of the data presented in chapters 2-6. It should be realized that conclusive evidence in this area of research is difficult to achieve. Therefore, it is attempted to separate facts from tentative conclusions and suggestions.

Metabolic abnormalities in hepatic encephalopathy.

- It is suggested from the data presented in chapter 2, 3 and 4 and from the literature, that decreased plasma branched-chain amino acid levels may have positive prognostic significance.
- In chapter 3, an inverse relationship is demonstrated between plasma branched-chain amino acid levels and insulin levels, suggesting and confirming suggestions from the literature, that hyperinsulinism encountered in dogs with porta-caval shunts may cause decreased branched-chain amino acid levels.
- Hyperglucagonism is most extreme in encephalopathy, suggesting that porta-caval shunt per se only moderately increases glucagon levels, but that liver failure elicits hypersecretion of glucagon.
- It is speculated that the hypernitrogenous state in hepatic encephalopathy may cause hypersecretion of glucagon.
- The $\frac{\text{valine} + \text{isoleucine} + \text{leucine}}{\text{tyrosine} + \text{phenylalanine}}$ ratio is uniformly decreased after porta-caval shunt in dogs but does not distinguish between dogs with porta-caval shunt with and without hepatic encephalopathy.
- It is speculated that the direct incorporation of leucine carbon into fatty acid in adipose tissue may contribute to decreased leucine levels in liver disease.

Amino acid - glucose infusions

- F080 can be administered in dogs in hepatic encephalopathy (chapter 2) in sufficient amounts to cover protein requirements, at the same time achieving improvement in neurological status. This was equally observed in a small anecdotal study in man (chapter 4) with hepatic encephalopathy due to cirrhosis. No toxic side-effects were noted at any time.
- The addition of branched-chain amino acids and withdrawal of the largest part of aromatic amino acids, compared to conventional solutions, seems crucial. The mechanism may involve three different aspects:
 1. The glucose-amino acid mixture may have a hepatotropic effect.
 2. The solution achieves a "normalization" of the plasma neutral amino acid pattern influencing the pattern of uptake into the brain.
 3. Anabolism is achieved, normalizing amino acid patterns, amino acid pools and relieving hyperaminoacidemia.

- An important common denominator in several factors precipitating hepatic encephalopathy may be catabolism.
- The data presented in this thesis are in agreement with the amino acid-neurotransmitter hypothesis. They do not exclude other theories however. The merit of the amino acid-neurotransmitter hypothesis in our opinion, is that it focuses on disturbances in physiological neurotransmitter metabolism and interference with normal neurological state. We do not pinpoint aromatic amino acids as the only culprits in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. They are part of the hypernitrogenous state including many other nitrogen containing molecules like glutamine, NH_3 and methionine, all of which may be related to hepatic encephalopathy.

Samenvatting

In hoofdstuk 1 worden de moeilijkheden beschreven die rijzen bij onderzoek naar het levercoma.

Na een overzicht te hebben gegeven van de bestaande hypothesen over de etiologie en van de problemen die zich voordoen bij pogingen om deze hypothesen te rechtvaardigen, volgt een uitvoerige beschrijving van de "aminozuur-neurotransmitter hypothese", die als uitgangspunt diende voor het experimenteel werk, dat in dit proefschrift beschreven wordt.

In hoofdstuk 2 worden experimenten beschreven, uitgevoerd om het effect te bestuderen van het infunderen van specifieke aminozuur-glucose mengsels bij honden in levercoma. Dit mengsel werd samengesteld met als doel het pathologische aminozuurspectrum, dat optreedt in levercoma, te corrigeren. Het materiaal bestond uit acht comateuze honden na een porta-cavale shunt operatie. Zij kregen een infuus bestaande uit, hetzij het specifiek aminozuur - glucose mengsel (F080; 4 g aminozuren/kg/24 uur), hetzij een aminozuur - glucose mengsel van conventionele samenstelling (Freamine II; 2 g aminozuren/kg/24 uur). Na verloop van 12 dagen werd de reciproke voedingsoplossing geïnfundeed bij de nog in leven zijnde honden.

- Bij alle honden die F080 kregen, trad een duidelijke verbetering op in het sensorium, terwijl dit onveranderd bleef of verslechterde na infusie van Freamine II.
- De ratio tussen de som van de vertakte keten aminozuren en de som van de aromatische aminozuren: tyrosine en phenylalanine - die een gevoelige parameter zou zijn voor levercoma - verbeterde na infusie van F080, doch niet na infusie van Freamine II.
- Deze ratio liet echter geen onderscheid zien tussen honden met een porto-cavale shunt, met en zonder encephalopathie.
- Plasma ammoniakspiegels vertoonden een neiging tot dalen na infusie van beide oplossingen.
- De toevoeging van vertakte keten aminozuren en het weglaten van aromatische aminozuren bleek essentieel voor het bereiken van een gunstig effect op het levercoma.

De experimenten beschreven in hoofdstuk 3 trachten een inzicht te geven omtrent het mogelijke verband tussen het afwijkende plasma aminozuurpatroon, dat optreedt bij leverziekten en levercoma, en plasma insuline- en glucagonspiegels.

Plasma insuline- en glucagonspiegels, het plasma aminozuurspectrum en de plasma glucosespiegels werden bepaald bij honden vóór en na het aanleggen van een porto-cavale shunt, en na het optreden van encephalopathie.

- Plasma insulinespiegels waren licht verhoogd na het aanbrengen van een porto-cavale shunt, maar bereikten normale waarden na het optreden van encephalopathie.
- Plasma glucagonspiegels waren eveneens licht verhoogd na het aanleggen van een porto-cavale shunt, maar stegen significant toen de proefdieren

tekenen van encephalopathie vertoonden. Tevens bleken deze honden ook katabool te zijn.

- Het verband tussen de hoge plasma glucagonspiegels en het katabolisme wordt besproken.
- De verhoging van aminozuurspiegels in het plasma was het meest uitgesproken bij encephalopathie.
- Er lijkt een omgekeerde correlatie te bestaan tussen verlaagde plasma vertakte keten aminozuurspiegels en plasma insulinespiegels. Mede op basis van de literatuurgegevens wordt het mogelijk geacht, dat er een causaal verband bestaat tussen deze gegevens.

De goede resultaten met F080, vermeld in hoofdstuk 2, vormden de basis voor het gebruik van F080 in een kleine, geselecteerde groep patiënten. Deze groep bestond uit 8 patiënten met levercirrhose en 3 patiënten met hepatitis. De ervaringen opgedaan bij deze patiënten, worden beschreven in hoofdstuk 4.

- Plasma aminozuurspiegels waren het sterkst verhoogd bij patiënten met een foudroyant verlopende hepatitis. Deze verhoging betrof alle aminozuren, met uitzondering van de vertakte keten aminozuren die normale concentraties hadden.
- Een verbetering van de encephalopathie werd bereikt bij alle 8 patiënten met cirrhosis en slechts bij 1 patiënt met acute hepatitis.
- Er trad steeds hetzelfde plasma aminozuurpatroon op, ongeacht de aard van de metabole verstoring die aanleiding had gegeven tot het ontstaan van encephalopathie.
- Er bestond een relatie tussen het bereikte effect en de hoeveelheid toegediende F080. Wanneer meer F080 werd geïnfundeed, daalden de aromatische aminozuur- en ammoniakconcentraties ondanks het feit dat deze oplossingen aromatische aminozuren bevatten.
- De resultaten van deze studie tonen aan dat patiënten in levercoma gevoed kunnen worden met aminozuur bevattende oplossingen, mits deze een speciale aminozuursamenstelling hebben.

Teneinde de rol van anabolisme te bestuderen, wordt in hoofdstuk 5 de invloed nagegaan van enterale en parenterale voeding op aromatische aminozuren- en octopamine- concentraties in het plasma en in de hersenen bij ratten met en zonder porto-cavale shunt.

- De samenstelling van de toegediende aminozuren had bij controleratten weinig invloed op de aromatische aminozuren- en octopamine- concentraties in het plasma en de hersenen. Na een porto-cavale shunt operatie waren de concentraties van de aromatische aminozuren in het plasma en in de hersenen afhankelijk van de voedselopname.
- Aan ratten met porto-cavale shunts, werden geleidelijk toenemende hoeveelheden aminozuren parenteraal toegediend. Naarmate de stikstofbalans duidelijker positief werd, daalden de concentraties van de aromatische aminozuren en octopamine in het plasma en in de hersenen.
- De resultaten suggereren dat de hoeveelheid toegediende F080 en de stikstofbalans, de concentratie van de aromatische aminozuren in het plasma en in de hersenen kunnen beïnvloeden.

Hoofdstuk 6 beschrijft de experimentele benadering van het mechanisme, dat ten grondslag ligt aan de daling van de vertakte keten aminozuren concentratie in het plasma, die optreedt na het aanleggen van een porto-cavale shunt in de rat. Hiertoe werd het metabolisme van leucine bestudeerd middels in vitro incubaties van weefselstukjes afkomstig van controleratten en van ratten die een porto-cavale shunt operatie ondergingen. De inbouw van leucine en spiereiwit, niereiwit en vet, de verbranding van leucine tot CO₂ en van leucine in de vrije vet-"pool" werden bepaald. In weefselfragmenten afkomstig van diafragma en nier konden geen significante verschillen worden aangetoond tussen ratten met en zonder porto-cavale shunt. Er trad een significante toename van de inbouw van van leucine afkomstige koolstofatomen in vetzuren in het vetweefsel op in ratten met een porto-cavale shunt. Dit suggereert dat vetweefsel een rol speelt bij de regulatie van plasma leucinespiegels.

In hoofdstuk 7 worden de resultaten, vermeld in hoofdstuk 2 t/m 6, geïnterpreteerd en waar mogelijk conclusies getrokken.

Metabole afwijkingen die optreden bij levercoma.

- Op grond van gegevens, vermeld in de hoofdstukken 2, 3 en 4 en in de literatuur, wordt de suggestie gewekt dat verlaagde plasma vertakte keten aminozuurspiegels een gunstige prognostische betekenis hebben.
- In hoofdstuk 3 wordt een omgekeerde relatie aangetoond tussen plasma vertakte keten aminozuurspiegels en insulinespiegels. Dit bevestigt aanwijzingen uit de literatuur, dat verhoogde insulinespiegels bij honden met porto-cavale shunts verantwoordelijk zijn voor lage vertakte keten aminozuurspiegels.
- Verhoogde plasma glucagonspiegels zijn het meest uitgesproken bij encephalopathie. Dit wijst er op, dat vooral de leverinsufficiënte en niet de porto-cavale shunt verantwoordelijk is voor een hypersecretie van glucagon.
- Het is mogelijk dat een verhoging van de plasma aminozuurconcentraties tijdens levercoma een hypersecretie van glucagon induceert.
- De $\frac{\text{valine} + \text{isoleucine} + \text{leucine}}{\text{tyrosine} + \text{phenylalanine}}$ ratio is verlaagd na het aanleggen van een porto-cavale shunt bij honden. Deze ratio daalt echter niet verder als zich het levercoma ontwikkelt.
- Het is mogelijk dat de directe inbouw van van leucine afkomstige koolstofatomen in vetzuren in vet bijdraagt tot een daling van plasma leucinespiegels bij patienten en proefdieren met leverinsufficiëntie.

Aminozuur-glucose infusies

- F080 kon bij honden met levercoma (hoofdstuk 2) in voldoende hoeveelheden worden toegediend om de eiwitbehoefte te dekken. Tegelijkertijd werd een verbetering van het sensorium bereikt. Dit kon ook bereikt worden in een kleine, geselecteerde groep patienten met levercoma op basis van levercirrhose (hoofdstuk 4). Er werden geen toxische neveneffecten waargenomen.

- Het toevoegen van vertakte keten aminozuren en het achterwege laten van het grootste deel van de aromatische aminozuren, vergeleken met conventionele aminozuuroplossingen lijkt essentieel voor het bereiken van het gesignaleerde effect.

Het mechanisme dat aan dit effect ten grondslag ligt, heeft drie mogelijke aspecten:

1. Het glucose - aminozuur mengsel kan een hepatotroop effect hebben.
 2. De oplossing "normaliseert" het plasmapatroon van de neutrale aminozuren waardoor normalisatie optreedt van het neutrale aminozuurpatroon, opgenomen in de hersenen.
 3. Door het bereiken van anabolisme wordt het plasma aminozuurpatroon genormaliseerd, en treedt er een daling op van de hoge plasma aminozuurspiegels.
- Een belangrijk gemeenschappelijk kenmerk van de verschillende factoren die levercoma doen ontstaan, is katabolisme.
 - De gegevens vermeld in dit proefschrift zijn in overeenstemming met de "aminozuur - neurotransmitter hypothese". Zij sluiten andere hypothesen echter niet uit. De verdienste van de "aminozuur - neurotransmitter hypothese" is, naar onze mening, dat deze zich bezighoudt met verstoringen in het fysiologische neurotransmitter metabolisme en met stoornissen in het normale bewustzijn. Het ligt geenszins in onze bedoeling de aromatische aminozuren als de enige verantwoordelijke factoren aan te wijzen bij het ontstaan van encephalopathie. Zij zijn onderdeel van een toenemen van vele stikstof bevattende moleculen, zoals o.a. glutamine, NH_3 en methionine, die eveneens van betekenis kunnen zijn bij het ontstaan van een hepatische encephalopathie.