

# Biochemiczne podstawy encefalopatii wątrobowej

## Biochemical basis of hepatic encephalopathy

Małgorzata Knaś<sup>1</sup>, Ewa Dutkiewicz<sup>2</sup>, Małgorzata Borzym-Kluczyk<sup>1</sup>, Krzysztof Zwierz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna w Białymstoku

<sup>2</sup> Wojewódzki Szpital Zespolony, Oddział Obserwacyjno Zakaźny, Akademia Świetokrzyska, Wydział Nauk o Zdrowiu, Kielce

**Summary:** Hepatic encephalopathy is disturbance of brain function, caused by failure of hepatic clearance of gut-derived neurotoxins, false neurotransmitters and neuromodulators. In hepatic encephalopathy portal blood omits whole liver or only hepatocytes. Failure of hepatic clearance increases concentration in blood and cerebrospinal fluid: neurotoxins (mainly ammonia), amino acids (particularly aromatic: tyrosine, phenylalanine, tryptophan) which are substrates for true and false neurotransmitters, and modulatory peptides. However none of three main suspects (ammonia, aromatic amino acids, and peptides) can be condemned for solitary causing hepatic encephalopathy, as not all cases of hepatic encephalopathy proceeded with hyperammonemia, as well as increase in concentration of true and false neurotransmitters and modulators, in blood and cerebrospinal fluid.

**Słowa kluczowe:** wątroba • encefalopatia wątrobowa • amoniak

**Key words:** liver • hepatic encephalopathy • ammonia

**Adres do korespondencji:** Małgorzata Knaś, Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2a, 15-230 Białystok, Polska, e-mail: knass@amb.edu.pl

### Wstęp

Encefalopatia wątrobowa (Rycina 1) polega na uszkodzeniu funkcji mózgu przez neurotoksyny, neurotransmitery i neuromodulatory wytworzone w jelicie, których nie przetworzyła wątroba [1].

**Neurotoksyny** (trucizny układu nerwowego) to: amoniak, merkaptany i krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe [2].

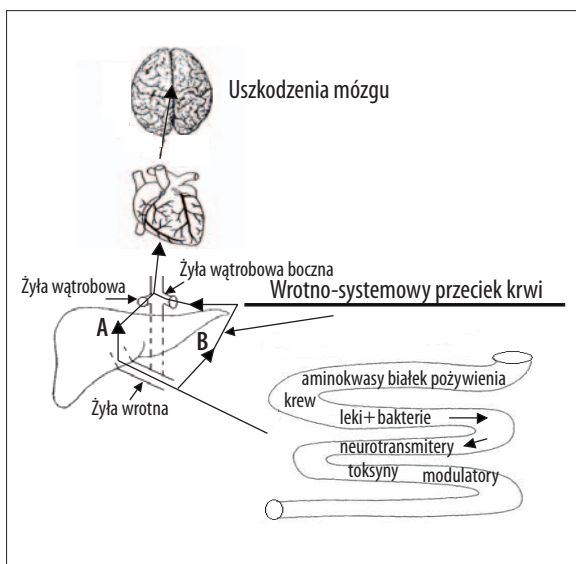
**Neurotransmitery** (łac. transmitto- przesyłać, przekazywać) to przekaźniki pobudzające (acetylocholina, dopamina, adrenalina, noradrenalina, histamina, glutaminian i asparaginian), lub hamujące (kwas gamma aminomasłowy = GABA i glicyna), przenoszenie impulsów w układzie nerwowym [2].

**Neuromodulatory** (łac. modulator – wymierzam, dostosuję) to hormony (np.: wazopresyna, oksycytyna, gastryna) i opioidy (np.: enkefaliny czy dynorfiny) dostosowujące siłę i długość trwania przewodzonych impulsów nerwowych do potrzeb organizmu [2].

### Przyczyny encefalopatii wątrobowej

Encefalopatia wątrobowa powstaje w wyniku ominięcia przez krew wrotną całej wątroby (Rycina 1B) lub tylko hepatocytów

(Rycina 1A) [3,4]. Jedną z przyczyn ominięcia całej wątroby przez krew płynącą żyłą wrotną, czyli powstawania "pozawątrobowego bloku odpływu" krwi z wątroby, jest zespół Budd-Chiari (Rycina 1B), wywołany niedrożnością zarówno żył wątrobowych jak i podprzeponowego odcinka żyły głównej dolnej [5]. Powodem ominięcia tylko hepatocytów przez neurotoksyny, neurotransmitery i neuromodulatory płynące żyłą wrotną (Rycina 1A), może być ostre uszkodzenie hepatocytów np.: ostra niewydolność wątroby (trwająca krócej niż 26 tygodni) przebiegająca z encefalopatią i zaburzeniami krzepnięcia krwi, ale bez marskości [6]. W sytuacji, gdy wątroba jest uszkodzona przewlekłe, to niszczone hepatocyty mają tendencję do regeneracji. Jeżeli regeneracja wątroby przebiega nieprawidłowo, to powstają guzki regeneracyjne utrudniające przepływ krwi przez wątrobę. Wewnątrz wątroby powstają połączenia między krążeniem wrotnym a systemowym (Rycina 1A). W uszkodzonej wątrobie toksyny i neurotransmitery, które docierają do wątroby, omijają hepatocyty (przepliwają przez wątrobę, ale nie kontaktują się z komórkami wątrobowymi lub kontaktują się z hepatocytami, ale nie wnikają do wnętrza) [7]. Jeżeli krew wrotna omija całą wątrobę (Rycina 1B) lub tylko hepatocyty (Rycina 1A) to we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym wzrasta stężenie neurotoksyn (głównie amoniaku), aminokwasów – szczególnie aromatycznych (tyrozyna, fenylalanina, tryptofan), z których powstają prawdziwe i fałszywe neurotransmitery, i modulatoryjnych peptydów [3].



Rycina 1. Patogeneza encefalopatii wątrobowej.

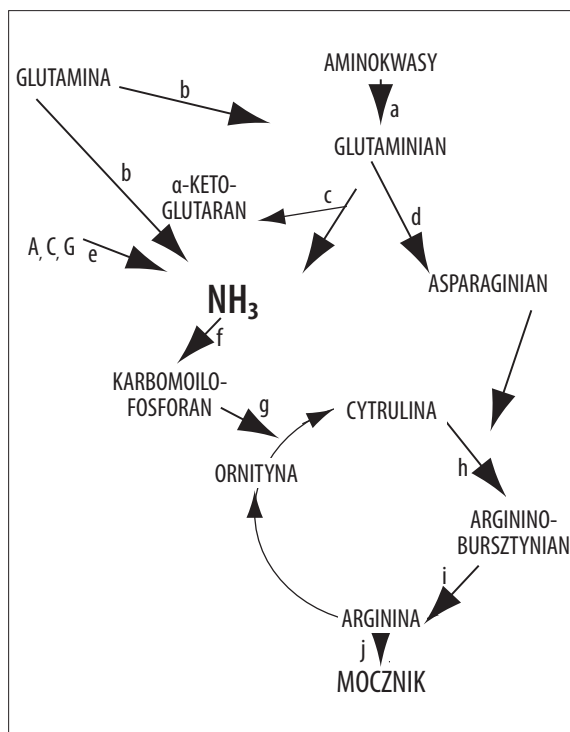
### Neurotoksyny w encefalopatii wątrobowej

Główną neurotoksyną posądzaną o wywoływanie encefalopatii wątrobowej jest amoniak. Amoniak powstaje: w jelicie grubym wskutek deaminacji aminokwasów i zasad azotowych, przez bakterie jelitowe (Rycina 2b,c,e); w jelicie cienkim wskutek hydrolizy glutaminy będącej głównym źródłem energii komórek błony śluzowej jelit (Rycina 2b), w wątrobie wskutek deaminacji aminokwasów (Rycina 2b,c), oraz w mięśniach wskutek deaminacji aminokwasów (Rycina 2b,c) w zależności od intensywności wysiłku fizycznego. Zdrowa wątroba wychwytuje nadmiar amoniaku z krwi wrotnej wytwarzając mocznik i glutaminian (Rycina 2). Mocznik tworzą enzymy (Rycina 2a-j) przy pomocy ATP pochodzącego z cyklu Krebsa. Wątroba może wiązać neurotoksyczny amoniak z kwasem  $\alpha$ -ketoglutarynowym, wytwarzając glutaminian (Rycina 3). Mięśnie i mózg mogą także wiązać amoniak z kwasem  $\alpha$ -ketoglutarynowym (Rycina 3), ale są to zwykle znacznie mniejsze ilości amoniaku niż wytwarzane w przewodzie pokarmowym. Mózg może usuwać neurotoksyczny amoniak poprzez tworzenie amidu z grupą  $\delta$  karboksylową glutaminy, czyli syntezę glutaminy (Rycina 3) [2]. Jeżeli wątroba nie usunie nadmiaru amoniaku z krwi wrotnej to powoduje on uszkodzenia mózgu objawiające się zaburzeniami świadomości, zaburzeniami koordynacji psychomotorycznej, niedowładami, porażeniami, a w końcu śpiączką [8,9].

Neurotoksyczne merkaptany (merkaptany to tioalkohole czyli alkohole, które mają siarkę zamiast tlenu) mogą powstawać w jelitach z cysteiny białek pokarmowych, a krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe mogą pochodzić z tłuszczów pokarmowych, lub przemiany długo- i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Wątroba metabolizuje neurotoksyczne merkaptany i spala neurotoksyczne krótko- i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe, lub przerabia je na ciała ketonowe [2].

### Neurotransmitery w encefalopatii wątrobowej

Prawdziwe neurotransmitery to aminokwasy (glutaminian, asparaginian, glicyna) lub ich pochodne np.: metabolity tyrozyny tj dopamina, noradrenalina i adrenalina (Rycina 4), tryptofanu (se-

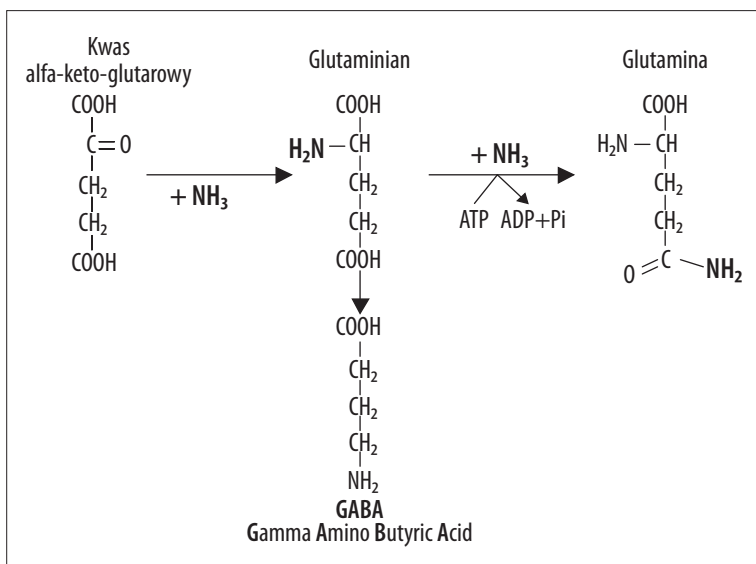


Rycina 2. Metabolizm azotu w wątrobie. a – aminotransferaza glutaminianowa; b – glutaminaza; c – dehydrogenaza glutaminianowa; d – aminotransferaza asparaginianowa; e – deaminazy: adeniny (A), cytozyny (C), guaniny (G); f – synteza karbomoilo-fosforanowa; g – karbomoilotransferaza ornitynowa; h – syntetaza arginino-bursztynianowa; i – liaza arginino-bursztynianowa; j – arginaza.

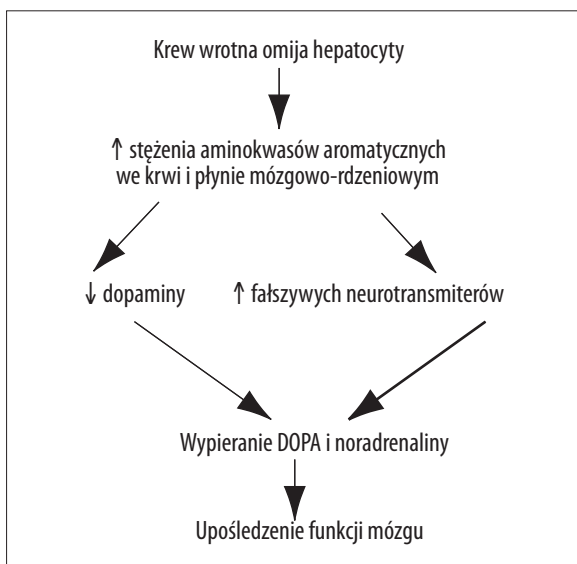
rotonina), histydny (histamina) i glutaminianu (GABA) (Rycina 3). Falszywe neurotransmitery to głównie produkty przemian aminokwasów aromatycznych (Rycina 4). Zarówno prawdziwe (np.: noradrenalina i adrenalina), jak i fałszywe (np.: oktopamina) neurotransmitery mogą powstawać w jelicie z białek i aminokwasów pochodzących z pokarmu lub bakterii jelitowych. Prawdziwe neurotransmitery zwykle powstają w układzie nerwowym i działają w synapsach (gr. synopsis = połączenie) (Rycina 5) to szczelina na styku między dwoma komórkami (presynaptyczną i postsynaptyczną), przez którą następuje przekazywanie impulsów nerwowych. Zazwyczaj jedną z komórek jest komórka nerwowa, a drugą może być komórka receptorowa, mięśniowa, gruczołowa, lub inna komórka nerwowa. Neurotransmitter uwolniony jest z komórki presynaptycznej do szczeliny synaptycznej. Receptory jonotropowe (wrażliwe na jony; gr. tropos-zwrot, obrócenie), będące częścią kanału jonowego znajdującego się w błonie postsynaptycznej, wiążą cząsteczki neurotransmitera, co powoduje otwarcie odpowiednich kanałów jonowych w błonie postsynaptycznej. Dochodzi do powstawania potencjału pobudzającego dodatniego (poprzez napływ  $\text{Na}^+$ ) lub hamującego ujemnego (poprzez napływ  $\text{Cl}^-$ ) (Rycina 5). Do neurotransmiterów otwierających kanały sodowe i pobudzających neuron postsynaptyczny zaliczamy acetylocholinę, dopaminę, adrenalinę, noradrenalinę, serotoninę, histaminę, glutaminian i asparaginian [2].

Jednym z najważniejszych neurotransmiterów pobudzających jest glutaminian. Po uwolnieniu glutaminianu z neuronu presynaptycznego do szczeliny synaptycznej, wolny glutaminian pobudza pompę sodową, a następnie jest wychwytywany przez

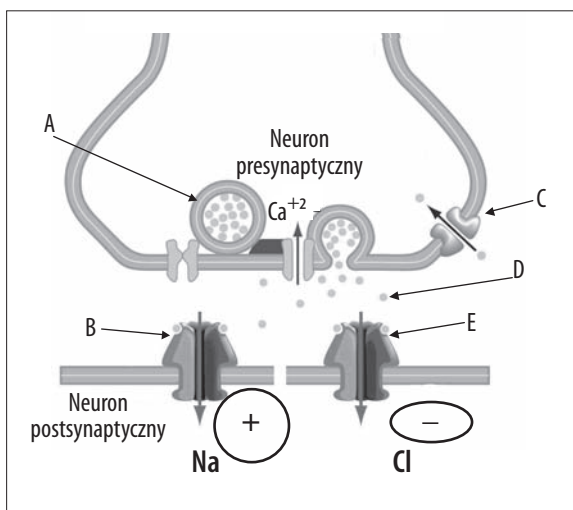




**Rycina 3.** Metabolizm kwasu glutaminowego w mózgu.



**Rycina 4.** Neurotransmitery w encefalopatii wątrobowej.



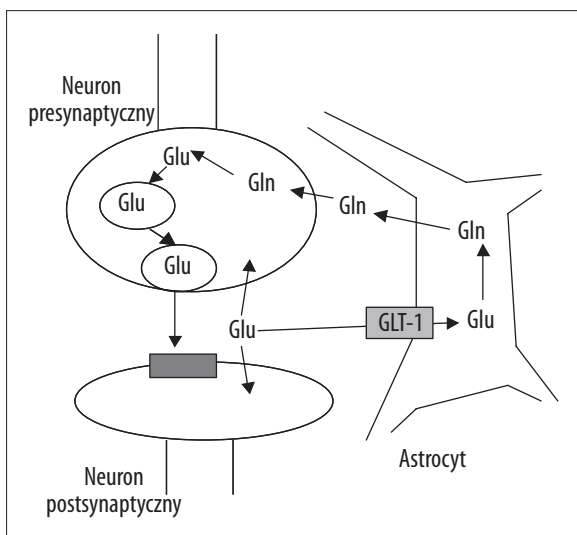
**Rycina 5.** Synapsa. A - Pęcherzyk synaptyczny z neurotransmiterem, B- Receptor pobudzający, C- Pompa wychwytu zwrotnego neurotransmitera, D- neurotransmiter, E- Receptor hamujący.

neurony presynaptyczne i astrocycy (Rycina 6). W astrocytach następuje zamiana glutaminianu w glutaminę. Glutamina jest transportowana z astrocytów do neuronów presynaptycznych, gdzie jest przekształcana w glutaminian. Przy nadmiarze amoniaku w układzie nerwowym tworzy się nadmiar glutaminy i glutaminianu co leży u podstaw zaburzeń w przewodnictwie nerwowym i obrzęku mózgu [10]. Wzrost stężenia glutaminy w astrocytach podnosi ciśnienie osmotyczne i zwiększa napływ wody do komórki nerwowej. Taki sam efekt powoduje hamowanie przez amoniak Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPazy. Zahamowanie Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPazy, czyli pompy wypompowującej z komórki kationy sodowe i wprowadzające na ich miejsce kationy potasowe [11], powoduje zatrzymanie w komórce kationów sodu wraz z nimi i wody. Dochodzi do obrzęku astrocytów i obrzęku mózgu [1]. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPazę hamują amoniak, merkaptany i krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe [12].

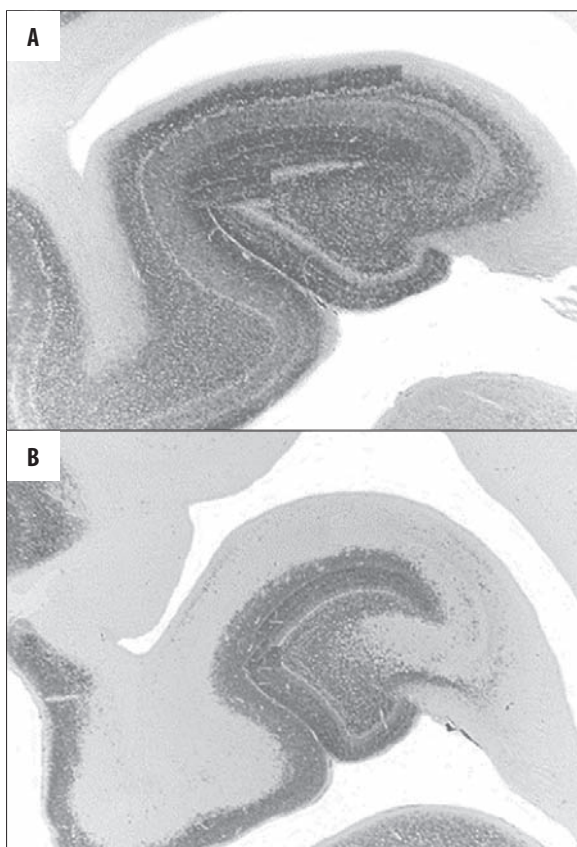
Kwas glutaminowy znajdujący się w synapsie otwiera pompy sodowe (Rycina 5) poprzez receptory jonotropowe wrażliwe również na N-metylo-D-asparaginian (N-Methyl-D-Aspartate

= NMDA), kwas kainowy (KA) i kwas alfa-amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksyzoloPropionianowy (alfa-Amino-3-hydroksy-5-Metylo-4-izoksyzoloPropionic Acid = AMPA) [13,14]. W encefalopatii wątrobowej dochodzi do zmniejszenia ilości receptorów wrażliwych na AMPA i KA, przy stałej ilości receptorów wrażliwych na NMDA. Wzrost stężenia glutaminy w szczelinie synaptycznej powoduje nadpobudliwość neuronalną ze strony receptorów wrażliwych na NMDA. Ponadto pobudzenie receptorów wrażliwych na NMDA przez amoniak prowadzi do napływu do neuronów jonów wapniowych i sodowych. Napływający wapń powoduje powstawanie rodników nadtlenkowych niszczących struktury astrocytów [3]. Za wychwyt zwrotny glutaminianu ze szczeliny synaptycznej do astrocytów (Rycina 6) odpowiedzialne są transportery GLT-1. Hiperamonemia powoduje spadek ilości transporterów GLT-1 hamując wychwyt neuroprzebieźnika i zwiększając tym samym jego stężenie w szczelinie (Rycina 7) [15–17].

Do neurotransmiterów otwierających kanał chlorkowy (Rycina 5) czyli hamujących neuron postsynaptyczny zaliczamy kwas

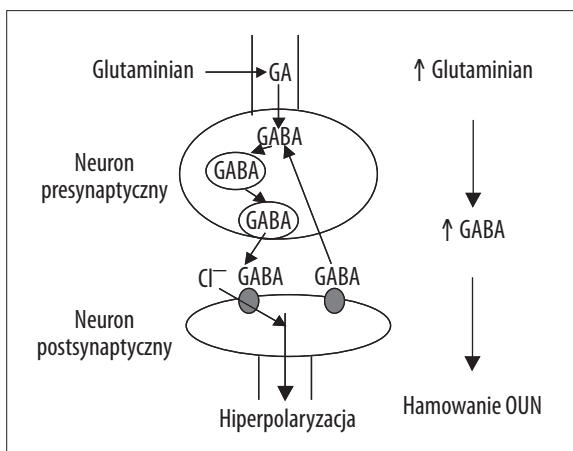


**Rycina 6.** Transport glutaminianu i glutaminy w astrocytach i neuronach presynaptycznych. Glu – glutaminian, Gln – glutamina.

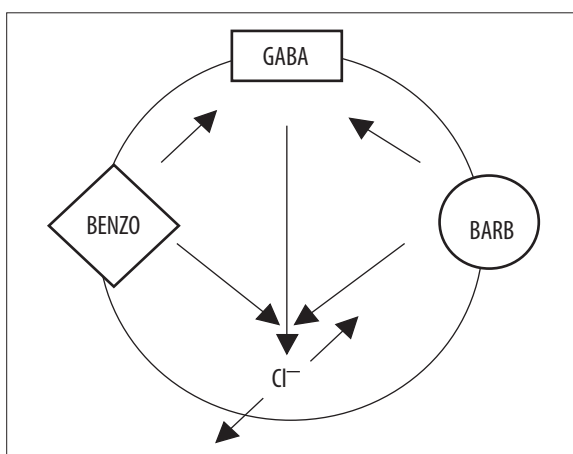


**Rycina 7.** Zagęszczenie transporterów GLT-1 w zdrowym hipokampie (A) oraz rozrzedzenie w encefalopatii wątrobowej (EW) (B).

gamma-aminomasłowy (GABA) (Rycina 3) i glicynę [2]. Głównym neuroprzekaznikiem hamującym w OUN jest GABA (Rycina 8). GABA powstaje z glutaminianu (Rycina 3 i 8) w komórkach presynaptycznych, jest magazynowany w ich pęcherzykach i uwalniany do światła szczeliny synaptycznej. GABA wiąże się w błonie komórki postsynaptycznej ze swoistym receptorem GABA/BZ (BZ-benzodiazepiny) na powierzchni pompy chlorkowej (Rycina 5 i 8) powodując napływ anionów



**Rycina 8.** Mechanizm hamowania OUN przez GABA.

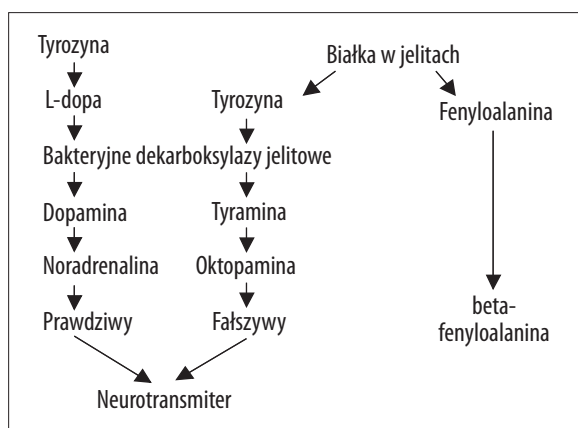


**Rycina 9.** Budowa receptora GABA/BZ na powierzchni kanału chlorkowego neuronu postsynaptycznego.

chlorkowych do komórki postsynaptycznej i hiperpolaryzacji jej błony. Wzrost stężenia glutaminianu w komórce presynaptycznej powoduje wzrost stężenia GABA w pęcherzykach komórki presynaptycznej i szczeliny synaptycznej. Wzrost stężenia GABA w szczeliny synaptycznej powoduje pobudzenie receptorów GABA/BZ i pobudzenia układu GABA-ergicznego [18,19], i co za tym idzie hamowaniu OUN. Receptor GABA/BZ na powierzchni neuronu postsynaptycznego posiada miejsce wiązania benzodiazepin i barbituranów, będących agonistami GABA/BZ (Rycina 9). U chorych z encefalopatią wątrobową stwierdzono obecność endogennych benzodiazepin, które hamują czynność neuronów. GABA i substancje podobne do benzodiazepin powstają w jelicie grubym i w warunkach fizjologicznych są inaktywowane w wątrobie. W encefalopatii wątrobowej wyłączona jest wątroba, stężenie GABA i endogennych benzodiazepin we krwi wzrasta, GABA i endogenne benzodiazepiny przechodzą barierę krew-mózg i gromadzą się w OUN upośledzając jego funkcje [17].

W encefalopatii wątrobowej oprócz prawdziwych neurotransmiterów powstają fałszywe neurotransmitery (beta-fenyloetanolamina, tyramina i oktopamina) (Rycina 10) z aminokwasów aromatycznych (fenyloalanina, tyrozyn i tryptofan) przy udziale bakterii jelitowych [7]. W encefalopatii wątrobowej wzrost stężenia aminokwasów aromatycznych w suro-





Rycina 10. Powstawanie fałszywych neurotransmiterów.

wicy krwi powoduje wzrost stężenia aminokwasów aromatycznych w OUN. Wzrost stężenia aminokwasów aromatycznych w OUN powoduje wzrost stężenia prawdziwych i fałszywych neurotransmiterów (Rycina 4 i 10). Fałszywe neurotransmitery wypierają w synapsach układu sympatycznego fizjologiczne neuroprzebieżniki – dopaminę i noradrenalinę, powodując upośledzenie funkcji mózgu (Rycina 4) [20].

### Neuromodulatory w encefalopatii wątrobowej

Niektóre peptydy modulują działanie neurotransmiterów i kontrolują ekspresję genów kodujących powstawanie neu-

rotransmiterów i modulatorów [7]. Do modulatorów przewodzenia impulsów nerwowych zaliczamy hormony (np.: wazopresynę, oksytocynę czy gastrynę) i opioidy (np.: enkefaliny czy dynorfiny) [2]. Czy i które peptydy powstałe w jelitach w czasie trawienia pokarmu jelitowe są przekształcane w fałszywe modulatory nie zostało ostatecznie stwierdzone.

### Podsumowanie

Wiadomo na pewno, że nadmiar neurotoksyn, neurotransmiterów i neuromodulatorów nie zagospodarowanych przez wątrobę, leży u podstaw encefalopatii, czyli rozregulowania przewodzenia impulsów nerwowych. Jednakże żadnemu z trzech najbardziej podejrzanych (amoniakowi, aminokwasom aromatycznym i peptydom) nie udało się udowodnić 100% winy za rozregulowanie przewodzenia impulsów nerwowych między innymi dlatego, że nie wszystkie przypadki encefalopatii wątrobowej przebiegają z podwyższeniem poziomu amoniaku, prawdziwych i fałszywych transmiterów oraz modulatorów we krwi. Należy wziąć również pod uwagę fakt, że w wywoływaniu encefalopatii wątrobowej mogą również mieć udział neurotoksyczne merkaptany, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe czy beta-hydroksylowane aminy biogenne.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że mnogość substancji płynących z krwią wrotną, która omija wątrobę i zachodzące na siebie zakresy ich działania, utrudniają znalezienie skutecznych leków do zastosowania w encefalopatii wątrobowej.

### Piśmiennictwo:

1. Ferenci P: Hepatic encephalopathy. In: Falk Symposium. New trends in hepatology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London, 1996; 179–94
2. Traczyk WZ: Fizjologia człowieka w zarysie. PZWL, Warszawa, 1992; 359–64
3. Butterworth R: Hepatic encephalopathy. In: Arias IM i wsp: The liver: biology and pathobiology. Third edition, Raven Press, New York, 1994; 1193–206
4. Raghavan M, Marik PE: Therapy of intracranial hypertension in patients with fulminant hepatic failure. Neurocrit Care, 2006; 4(2): 179–89
5. Małkowski P, Pawlak J, Michałowicz B: Zakrzepica żyły wrotnej i żył wątrobowych. Med Sci Rev Hepatologia, 2003; 13–19
6. Flisiak R: Ostra niewydolność wątroby u dorosłych. Med Sci Rev Hepatologia, 2006; 31–33
7. Summerskill WHJ, Davidson EA, Sherlock S et al: The neuropsychiatric syndrome associated with hepatic cirrhosis and an extensive portal collateral circulation. Q J Med, 1956; 25: 245
8. Jalan R, Shawcross D, Davies N: The molecular pathogenesis of hepatic encephalopathy. Int J Biochem Cell B, 2003; 35: 1175–81
9. Mas A: Hepatic encephalopathy: from pathophysiology to treatment. Digestion, 2006; 73(Suppl.1): 86–93
10. Felipo V, Butterworth RF: Neurobiology of ammonia. Prog Neurobiol, 2002; 67: 259–79
11. Zwierz K, Wielgat P, Borzym-Kluczyk M: Molekularne mechanizmy regulacji transportu substancji drobnocząsteczkowych w obrębie hepatocyta. Postępy Hig Med Dośw, 2003, 53(1): 91–116
12. Brzozowski R: Choroby wątroby i dróg żółciowych. Warszawa, PZWL, 1998; 25–34
13. Salonen V, Kallinen S, Lopez-Picon FR i wsp: AMPA/kainate receptor-mediated up-regulation of GABA receptor delta subunit mRNA expression in cultured rat cerebellar granule cells is dependent on NMDA receptor activation. Brain Res, 2006; 1087(1): 33–40
14. Chen LW, Tse YC, Li C et al: Differential expression of NMDA and AMPA/KA receptor subunits in the inferior olive of postnatal rats. Brain Res, 2006; 1067(1): 103–14
15. Tanaka K, Watase K, Manabe T et al: Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. Science, 1997; 276: 1699–702
16. Selkirk JV, Nottebaum LM, Vana AM i wsp: Role of the GLT-1 subtype of glutamate transporter in glutamate homeostasis: the GLT-1-preferring inhibitor WAY-855 produces marginal neurotoxicity in the rat hippocampus. Eur J Neurosci, 2005; 21(12): 3217–28
17. Jacobsson J, Persson M, Hansson E i wsp: Corticosterone inhibits expression of the microglial glutamate transporter GLT-1 *in vitro*. Neuroscience, 2006; 139(2): 475–83
18. McLeod M, Pralong D, Copolov D i wsp: The heterogeneity of central benzodiazepine receptor subtypes in the human hippocampal formation, frontal cortex and cerebellum using [3H]flumazenil and zolpidem. Brain Res Mol Brain Res, 2002; 104(2): 203–9
19. Helewski K, Kowalczyk-Ziomek G, Konecki J: Ammonia and GABA-ergic neurotransmission in pathogenesis of hepatic encephalopathy. Wiad Lek, 2003; 56: 560–63
20. Als-Nielsen B, Gluud LL, Gluud C: Dopaminergic agonists for hepatic encephalopathy. Cochrane Database Syst Rev, 2004; 4: CD003047