

VNIVERSITAT ID VALÈNCIA

Fundación Investigación Clínico de Valencia-INCLIVA

Programa de doctorado en Neurociencias



Mecanismos cerebrales de las alteraciones neurológicas en pacientes con encefalopatía hepática mínima. Efectos del tratamiento con rifaximina

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Franc Casanova Ferrer

Directores:

Carmina Montoliu Félix

Amparo Urios Lluch

Director académico:

Carmina Montoliu Félix

València, Julio 2024



INCLIVA | VLC
Instituto de Investigación Sanitaria



**VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA**

La **Dra. Carmina Montoliu Félix**, investigadora de la FIHCV-INCLIVA y Profesora Titular del Departamento de Patología de la Universidad de Valencia,

La **Dra. Amparo Urios Lluch**, investigadora de la FIHCV-INCLIVA,

Certifican:

Que la memoria de Tesis Doctoral realizada por **Franc Casanova Ferrer**, titulada “Mecanismos cerebrales de las alteraciones neurológicas en pacientes con encefalopatía hepática mínima. Efectos del tratamiento con rifaximina”, ha sido realizada bajo su dirección y reúne todos los requisitos necesarios para su juicio y calificación.

MARIA DEL
CARMEN|
MONTOLIU
|FELIX

Firmado digitalmente por
MARIA DEL
CARMEN|
MONTOLIU|FELIX
Fecha: 2024.07.09
10:50:33 +02'00'

Carmina Montoliu Félix

MARIA
AMPARO
|URIOS|
LLUCH

Firmado digitalmente
por MARIA
AMPARO|URIOS|
LLUCH
Fecha:
2024.07.09
10:36:56 +02'00'

Amparo Urios Lluch

En València, Julio de 2024

Agradecimientos

Quiero dedicar las primeras palabras de esta tesis para agradecer su inestimable labor a mis directoras de tesis, Carmina y Amparo. Hace ya varios años, antes de que el término coronavirus fuese conocido por el público general, me ofrecieron una oportunidad inigualable cuando llegué al laboratorio de deterioro neurológico. En los periodos de mayor incertidumbre siempre he podido reencontrar el rumbo gracias a ellas; y sólo gracias a su apoyo, su guía, y su paciencia a lo largo de todo este tiempo he podido completar este proyecto, y este capítulo de mi vida.

Mi agradecimiento va también dirigido a mis compañeros de laboratorio, especialmente Alessandra y Juanjo, con quienes he compartido algunas penas y muchas alegrías durante nuestro tiempo trabajando juntos y apoyándonos. Alessandra, desde el primer momento has sido todo un ejemplo de dedicación abnegada, y la prueba de que con esfuerzo es posible sobreponerse a cualquier obstáculo. Juanjo, cuando llegué por primera vez al laboratorio te convertiste también en un mentor y un guía, siempre con los pies en la tierra, y gracias a ti he podido ampliar mis horizontes y conocer nuevas perspectivas dentro de nuestra profesión.

Este agradecimiento se extiende también, por supuesto, a los profesionales médicos de los Servicios de Medicina Digestiva del Hospital Clínico y del Hospital Arnau de Vilanova de València; así como a los trabajadores del Grupo Biomédico Ascires y de la empresa AURA Innovative Robotics. La cantidad de profesionales de todos los campos cuya participación ha sido necesaria para que este proyecto sea posible es la mayor demostración de cómo la ciencia y el progreso son el resultado de un esfuerzo común de toda la sociedad.

Un segundo agradecimiento va dirigido también al conjunto de los profesionales médicos de nuestro sistema público de salud, y su incansable trabajo durante la mayor crisis sanitaria del último siglo, que azotó al mundo entero cuando esta tesis estaba dando sus primeros pasos.

Quiero agradecer también a la doctora Silvia Pineda que me acogiera durante mi estancia en la Universidad Complutense de Madrid. Sus enseñanzas y su forma de ser hicieron mucho más positiva y enriquecedora una etapa de mi doctorado en la que me tuve que enfrentar a nuevos retos en un contexto extraño.

A un nivel más personal, quiero extender mi agradecimiento también a mis amigos más cercanos, quienes han sido mi mayor apoyo a lo largo de esta travesía. Al grupo de desquiciados con el que me junté por poco menos que una casualidad a través de la red de redes, y con quienes comparto conversaciones quilométricas que, en contadas ocasiones, tienen algún sentido. A los amigos y amigas que he hecho desde que empecé mis estudios universitarios hace ya más de 10 años, y cuyo cariño siempre está presente, aunque nuestros caminos profesionales empezasen a diferir hace ya tiempo. Y, por supuesto, a Héctor, Carlos, Alex, Mael y Alberto; mi pandilla de poco ortodoxos personajes, mi pequeña mafia del alfabeto. Sin su amistad no sé dónde estaría hoy. Podría añadir aún más nombres a la lista, pero esta tesis ya es lo suficientemente larga.

Por último, quiero extender mi agradecimiento a mis familiares, pero especialmente a mi madre. Con un esfuerzo inimaginable, y que jamás podré agradecer lo suficiente, ha sido capaz de criarme y guiarme por su cuenta durante todos estos años, incentivando siempre mi curiosidad y mi pasión por aprender. Todo lo que soy se lo debo a ella, incluida esta tesis.

Como nota final, quiero agradecerle a Franc Casanova Ferrer su esfuerzo durante estos años de doctorado. El hombre que sale de esta etapa no es el mismo que entró, pero, a pesar de todo, sigues siendo tú. Espero que estés orgulloso de haber logrado culminar uno de tus sueños.

"There are more things on heaven and earth, Horatio, than are dreamt of in your philosophy"

Hamlet. Acto 1, escena 5. William Shakespeare

"...something feels missing from your life. The game presently eluding you is only the latest sleight of hand in the repertoire of an unseen riddler, one to engender a sense not of mirth, but of lack. His coarse schemes are those less of a prankster than a common pickpocket. His riddle is Absence itself. It is a mystery dispersing altogether, like the moon's faint reflection, with even one pebble of inquiry dropped in its black well. It is the most diabolical riddle of all"

Homestuck. Acto 1. Andrew Hussie

Índice

I.	Introducción.....	31
1.	La cirrosis hepática	33
1.1.	Epidemiología y etiología de la cirrosis	35
1.2.	Alteraciones y síntomas presentes en la cirrosis.....	37
1.3.	Estadios de la cirrosis.....	37
2.	La encefalopatía hepática.....	39
2.1.	Alteraciones neurológicas	41
2.1.1.	Alteraciones neuropsiquiátricas.....	41
2.1.2.	Alteraciones cognitivas.....	41
2.1.3.	Alteraciones motoras	43
2.2.	Principales factores que contribuyen a la aparición de la encefalopatía hepática	44
2.2.1.	Hiperamonemia	45
2.2.2.	Inflamación	48
2.2.3.	Sinergia entre inflamación e hiperamonemia	51
2.2.4.	Neuroinflamación.....	51
2.2.5.	Alteraciones a la neurotransmisión.....	53
2.3.	Diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima.....	53
2.3.1.	La batería PHES.....	55
2.4.	Tratamiento de la encefalopatía hepática mínima	56
2.4.1.	La microbiota intestinal en la encefalopatía hepática	57
2.4.2.	La rifaximina como tratamiento	60
3.	Los movimientos oculares	62
3.1.	Áreas cerebrales implicadas en el control de los movimientos oculares...	63
3.2.	Alteraciones de los movimientos oculares.....	65
3.2.1.	Alteraciones de los movimientos oculares en la encefalopatía hepática.....	66

4.	La imagen por resonancia magnética.....	67
4.1.	Funcionamiento de la resonancia magnética.....	67
4.1.1.	Resonancia magnética estructural	69
4.1.2.	Resonancia magnética funcional	71
4.2.	La resonancia magnética en el estudio de la encefalopatía hepática	74
4.2.1.	Estudios estructurales	74
4.2.2.	Estudios funcionales	78
II.	Hipótesis	85
III.	Objetivos	89
IV.	Materiales y métodos	95
1.	Pacientes del estudio.....	97
1.1.	Tratamiento con rifaximina y estudio de resonancia magnética	98
2.	Extracción de sangre.....	101
2.1.	Determinación de niveles de citocinas pro-inflamatorias.....	101
2.2.	Determinación de niveles de amonio.....	102
3.	Valoración de la función cognitiva y motora.....	104
3.1.	Batería PHES	104
3.2.	Test stroop de colores y palabras.....	107
3.3.	Test d2	109
3.4.	<i>Symbol digit modalities test</i> (SDMT) oral	111
3.5.	Subtest de la batería <i>Wechsler Adult Intelligence Scale</i> (WAIS).....	112
3.6.	Test de coordinación bimanual de Yela.....	114
3.7.	Test de coordinación visomotora de Yela	114
4.	Valoración de los movimientos oculares.....	115
4.1.	Test de sácadas visuales (horizontal y vertical)	116
4.2.	Test de sácadas de memoria (horizontal y vertical)	117
4.3.	Test de antisácadas (horizontal y vertical)	119
4.4.	Test de seguimiento (horizontal, vertical y sinusoidal)	121

4.5.	Test de fijación.....	123
5.	Adquisición de imágenes de resonancia magnética.....	125
5.1.	Procesamiento de las imágenes	125
5.2.	Análisis del volumen de sustancia gris	129
5.3.	Análisis de la conectividad funcional de las redes neuronales.....	130
5.4.	Análisis de la relación funcional entre redes neuronales.....	131
5.5.	Identificación de áreas cerebrales de interés.....	132
6.	Metodologías y herramientas estadísticas.....	134
V.	Resultados.....	143
1.	Estudio de los movimientos oculares en pacientes con encefalopatía hepática mínima.....	145
1.1.	Características demográficas y etiológicas de la muestra de estudio.....	145
1.2.	Parámetros bioquímicos e inflamatorios de la muestra de estudio	147
1.3.	Estado de las capacidades cognitivas y motoras de la muestra de estudio.....	148
1.4.	Alteraciones de los movimientos oculares.....	152
1.4.1.	Test de sácadas visuales	153
1.4.2.	Test de sácadas de memoria	156
1.4.3.	Test de antisácadas	160
1.4.4.	Test de seguimiento	166
1.4.5.	Test de fijación.....	171
1.4.6.	Resumen de las alteraciones de los movimientos oculares	175
1.5.	Correlación entre las alteraciones de los movimientos oculares y otros parámetros	188
1.6.	Poder discriminatorio de las alteraciones de los movimientos oculares .	197
1.6.1.	Alteraciones de las sácadas visuales	197
1.6.2.	Alteraciones de las sácadas de memoria.....	199
1.6.3.	Alteraciones de las antisácadas.....	201
1.6.4.	Alteraciones del seguimiento	205

1.6.5.	Alteraciones de la fijación	208
1.7.	Análisis de la distribución de los sujetos mediante modelos de aprendizaje automático.....	211
1.7.1.	Exploración de la distribución de sujetos mediante aprendizaje no supervisado.....	211
1.7.2.	Exploración de la separación entre pacientes mediante aprendizaje supervisado.....	218
2.	Estudio del efecto de la rifaximina sobre la función neuronal de pacientes con encefalopatía hepática mínima	222
2.1.	Características demográficas y etiológicas de la muestra de estudio.....	223
2.2.	Parámetros bioquímicos e inflamatorios de la muestra de estudio	224
2.3.	Estado de las capacidades cognitivas y motoras de la muestra de estudio.....	227
2.4.	Redes neuronales identificadas y analizadas durante el estudio.....	234
2.5.	Estudio de la conectividad intrínseca de las redes neuronales.....	237
2.5.1.	Efecto general de la rifaximina	237
2.5.2.	Efecto diferencial de la rifaximina	240
2.5.3.	Diferencias preexistentes entre grupos de respuesta.....	242
2.5.4.	Comparación de los pacientes tratados con los controles.....	244
2.6.	Estudio de la conectividad entre redes neuronales	245
2.6.1.	Efecto general de la rifaximina	245
2.6.2.	Efecto diferencial de la rifaximina	246
2.6.3.	Diferencias preexistentes entre grupos de respuesta.....	250
2.7.	Correlación entre las diferencias y cambios de la función neuronal y otros parámetros	252
2.7.1.	Correlaciones de la conectividad intrínseca de las redes neuronales.....	252
2.7.2.	Correlaciones de la conectividad entre distintas redes neuronales	255
VI.	Discusión	261

1. Estudio de los movimientos oculares en pacientes con encefalopatía hepática mínima.....	263
1.1. Diagnóstico y caracterización de la encefalopatía hepática mínima	263
1.2. Alteraciones de los movimientos oculares.....	267
1.2.1. Alteraciones de la latencia de las sácadas.....	268
1.2.2. Alteraciones de la velocidad máxima de las sácadas	272
1.2.3. Alteraciones de la precisión de las sácadas.....	273
1.2.4. Alteraciones de la ejecución de las pruebas	275
1.2.5. Alteraciones durante el seguimiento	278
1.2.6. Alteraciones durante la fijación.....	281
1.3. Correlaciones de los movimientos oculares.....	284
1.3.1. Correlación con los test psicométricos.....	284
1.3.2. Correlación con los parámetros inflamatorios	289
1.4. Capacidad diagnóstica de los test de movimientos oculares.....	289
1.5. Análisis de los patrones de distribución de los sujetos	291
2. Estudio de los efectos de la rifaximina sobre la función neuronal de los pacientes con encefalopatía hepática mínima.....	297
2.1. Mejora en los resultados de los test cognitivos de los pacientes que responden al tratamiento.....	298
2.2. Normalización de los niveles de citocinas pro-inflamatorias, pero no de los niveles de amonio en sangre, tras el tratamiento con rifaximina	301
2.3. Efectos de la rifaximina en la función neuronal de los pacientes	302
2.3.1. Aumento de la actividad de la red sensitivo-motora y su independencia funcional de la red de atención dorsal tras el tratamiento con rifaximina.....	303
2.3.2. Disminución de la conectividad y aumento de la independencia funcional de la red frontoparietal tras el tratamiento con rifaximina	307
2.3.3. Recuperación de la conexión funcional entre el tálamo y la corteza prefrontal en pacientes que responden al tratamiento con rifaximina.....	310

2.3.4. El tratamiento con rifaximina no recupera la función cerebral normal.....	312
2.4. Diferencias funcionales preexistentes entre los pacientes que responden al tratamiento y los que no	313
VII. Conclusiones.....	317
VIII. Bibliografía	323
IX. Anexos	377
Anexo 1: Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los test de movimientos sacádicos y los test psicométricos	379
Anexo 2: Informe del comité ético sobre las investigaciones realizadas	395

Índice de tablas

Tabla 1. Parámetros de la escala Child-Pugh	38
Tabla 2. Criterios de West-Haven para la clasificación del grado de encefalopatía hepática	40
Tabla 3. Alteraciones motoras en pacientes con Encefalopatía Hepática según la clasificación de West-Haven.....	44
Tabla 4. Relación de citocinas medidas.....	102
Tabla 5. Paquetes de R usados.....	140
Tabla 6. Características demográficas y etiológicas de la muestra del estudio de movimientos oculares	146
Tabla 7. Niveles de las distintas determinaciones bioquímicas realizadas en sangre de los sujetos del estudio de movimientos oculares	148
Tabla 8. Puntuaciones obtenidas en los test psicométricos realizados por los sujetos del estudio de movimientos oculares	151
Tabla 9. Puntuaciones obtenidas en los test de memoria y coordinación realizados por los sujetos del estudio de movimientos oculares	152
Tabla 10. Test de sácadas visuales horizontales	154
Tabla 11. Test de sácadas visuales verticales.....	155
Tabla 12. Test de sácadas de memoria horizontales	158
Tabla 13. Test de sácadas de memoria verticales.....	159
Tabla 14. Test de antisácadas horizontales (I)	162
Tabla 15. Test de antisácadas horizontales (II)	163
Tabla 16. Test de antisácadas verticales (I).....	164
Tabla 17. Test de antisácadas verticales (II).....	165
Tabla 18. Test de seguimiento horizontal	168
Tabla 19. Test de seguimiento vertical	169
Tabla 20. Test de seguimiento sinusoidal	170
Tabla 21. Test de fijación (I)	173

Tabla 22. Test de fijación (II)	174
Tabla 23. Resumen de las correlaciones significativas entre los test de movimientos oculares y los test psicométricos.....	192
Tabla 24. Correlaciones observadas con un valor absoluto de r más alto.....	194
Tabla 25. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las sácadas visuales para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos	198
Tabla 26. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las sácadas de memoria para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos	199
Tabla 27. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las antisácadas horizontales para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos	202
Tabla 28. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las antisácadas verticales para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos	203
Tabla 29. Potencial diagnóstico de las alteraciones del seguimiento para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos	206
Tabla 30. Potencial diagnóstico de las alteraciones de la fijación para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos.....	209
Tabla 31. Características demográficas y etiológicas de la muestra de pacientes y sujetos control incluidos en el estudio de resonancia magnética.....	224
Tabla 32. Determinaciones bioquímicas de los sujetos del estudio de resonancia magnética antes y después del tratamiento	226
Tabla 33. Determinaciones bioquímicas de los pacientes del estudio de fMRI según su respuesta al tratamiento	227
Tabla 34. Test psicométricos de los sujetos del estudio de resonancia magnética antes y después del tratamiento.....	231
Tabla 35. Test de memoria y coordinación de los sujetos del estudio de resonancia magnética antes y después del tratamiento	232
Tabla 36. Test psicométricos de los pacientes del estudio de fMRI según su respuesta al tratamiento	233
Tabla 37. Test de memoria y coordinación de los pacientes del estudio de fMRI según su respuesta al tratamiento	234
Tabla 38. Clústeres en los que se observa un efecto general del tratamiento con rifaximina.....	238

Tabla 39. Clústeres en los que se observa un efecto diferencial, o limitado a los pacientes <i>Responder</i> , del tratamiento con rifaximina	241
Tabla 40. Clústeres en los que se observan diferencias preexistentes entre pacientes <i>Responder</i> y <i>Non-responder</i>	243
Tabla 41. Correlaciones significativas entre la intensidad de la señal de los clústeres hallados en el análisis de la conectividad intrínseca de las redes neuronales y los distintos parámetros bioquímicos medidos	253
Tabla 42. Correlaciones significativas entre la intensidad de la señal de los clusters hallados en el análisis del efecto general de la rifaximina y los resultados de los distintos test psicométricos.....	255
Tabla 43. Correlaciones significativas entre las conexiones entre redes neuronales con cambios significativos tras el tratamiento con rifaximina y los distintos parámetros bioquímicos medidos	256
Tabla 44. Correlaciones significativas entre los test psicométricos y las conexiones entre redes neuronales afectadas por la rifaximina específicamente en los pacientes <i>Responder</i>	258
Tabla A1. Correlaciones del test de sácadas visuales horizontales	381
Tabla A2. Correlaciones del test de sácadas visuales verticales.....	382
Tabla A3. Correlaciones del test de sácadas de memoria horizontales.....	383
Tabla A4. Correlaciones del test de sácadas de memoria verticales	384
Tabla A5. Correlaciones del test de antisácadas horizontales (I)	385
Tabla A6. Correlaciones del test de antisácadas horizontales (II)	386
Tabla A7. Correlaciones del test de antisácadas verticales (I)	387
Tabla A8. Correlaciones del test de antisácadas verticales (II)	388
Tabla A9. Correlaciones del test de seguimiento horizontal	389
Tabla A10. Correlaciones del test de seguimiento vertical.....	390
Tabla A11. Correlaciones del test de seguimiento sinusoidal.....	391
Tabla A12. Correlaciones del test de fijación (I)	392
Tabla A13. Correlaciones del test de fijación (II)	393

Índice de figuras

Figura 1. Vista macroscópica y cortes histológicos de hígados sanos y con cirrosis.....	34
Figura 2. Evolución anual, desde 1990 hasta 2019, del número de muertes atribuibles a la cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado por cada 100.000 muertes totales.....	36
Figura 3. Diagrama resumen de la cascada de alteraciones que propician la aparición del deterioro motor y cognitivo asociado con la EH y la EHM	45
Figura 4. Diagrama resumen con la ruta que sigue el amonio en un individuo sano	47
Figura 5. Diagrama resumen de los efectos de la cirrosis en la microbiota intestinal....	58
Figura 6. Fórmula esquelética de la rifaximina	60
Figura 7. Diagrama resumen del proceso de resonancia magnética	69
Figura 8. Imágenes de resonancia magnética estructural	70
Figura 9. Imágenes de resonancia magnética funcional	71
Figura 10. Diagrama resumen de la respuesta hemodinámica y su efecto sobre el contraste BOLD.....	72
Figura 11. Efectos de un trasplante hepático en la sustancia blanca del cerebro de un paciente con cirrosis.....	75
Figura 12. Alteraciones de la anisotropía fraccional y la difusión media en pacientes con cirrosis y con EHM	76
Figura 13. Alteraciones del grosor de la materia gris en pacientes con EHM.....	77
Figura 14. Alteraciones de la conectividad funcional de la red neuronal por defecto en pacientes con EHM.....	78
Figura 15. Alteraciones de la conectividad funcional de las redes de atención dorsal y ventral, y la red neuronal por defecto, en pacientes con EHM.....	80
Figura 16. Alteraciones de la conectividad funcional de la corteza cingulada en pacientes con EHM.....	81
Figura 17. Alteraciones de la homogeneidad funcional en pacientes con EHM.....	82
Figura 18. Diagrama de flujo del proceso de reclutamiento de sujetos para el estudio de resonancia magnética.....	100

Figura 19. Batería PHES	106
Figura 20. Test Stroop	108
Figura 21. Test d2	110
Figura 22. <i>Symbol digit modalities test</i> (SDMT) oral	111
Figura 23. Tests de dígitos.....	113
Figura 24. Test de letras y números de la batería WAIS	113
Figura 25. Tests de coordinación	114
Figura 26. Pasos durante el test de sácadas visuales.....	116
Figura 27. Pasos durante el test de sácadas de memoria	118
Figura 28. Pasos durante el test de antisácadas	119
Figura 29. Pasos durante el test de seguimiento	121
Figura 30. Pasos durante el test de fijación	123
Figura 31. Imágenes de resonancia magnética estructural	126
Figura 32. Imagen de referencia en espacio MNI152	128
Figura 33. Comparación de la señal funcional de una red neuronal y ruido	129
Figura 34. Diagrama de flujo resumen de los pasos seguidos durante el procesamiento y análisis de las imágenes de resonancia magnética.....	133
Figura 35. Ejemplos de imputaciones de buena y mala calidad	139
Figura 36. Diagramas de caja con las principales medidas de latencia.....	177
Figura 37. Diagramas de caja con las principales medidas de precisión.....	180
Figura 38. Diagramas de caja de las medidas de desviación típica de la precisión con alteraciones significativas.....	182
Figura 39. Diagramas de caja del recuento de los distintos tipos de movimientos sacádicos.....	184
Figura 40. Diagramas de caja del recuento de correcciones durante los test de seguimiento.....	186
Figura 41. Diagramas de caja del recuento y características de los movimientos oculares realizados durante el test de fijación.....	187
Figura 42. Gráficos de correlación del recuento de movimientos sacádicos correctos.....	195

Figura 43. Gráficos de correlación de la latencia media de las sácadas reflexivas	196
Figura 44. Curva ROC de la desviación típica de la latencia del test de sácadas visuales horizontales para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis	198
Figura 45. Curva ROC del recuento de sácadas realizadas correctamente en el test de sácadas de memoria verticales para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis	200
Figura 46. Curvas ROC de la latencia media de las sácadas reflexivas en el test de antisácadas verticales para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis	204
Figura 47. Curva ROC del recuento de sácadas catch-up durante el test de seguimiento vertical para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis	207
Figura 48. Curva ROC de la amplitud media de los drifts durante el test de fijación para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis.....	210
Figura 49. PCA con los subtest de la batería PHES.....	213
Figura 50. PCA con los test psicométricos no incluidos en la batería PHES.....	215
Figura 51. PCA con las variables de movimientos oculares alteradas	217
Figura 52. PLS-DA con las variables de movimientos oculares alteradas	219
Figura 53. Peso de las 10 variables más influyentes en el análisis PLS-DA	221
Figura 54. Redes neuronales halladas.....	236
Figura 55. Regiones afectadas por la rifaximina de forma general.....	239
Figura 56. Regiones afectadas por la rifaximina de forma diferencial, o únicamente en los pacientes <i>Responder</i>	242
Figura 57. Región en la que se observaron diferencias preexistentes entre los pacientes <i>Responder</i> y <i>Non-responder</i>	243
Figura 58. Evolución de la conexión entre la Red Talámica (RTA) y la Red Sensitivo-motora Lateral (RSML) tras el tratamiento con rifaximina	246
Figura 59. Evolución de las conexiones entre la Red Sensitivo-motora Media (RSMM) y la Red de Atención Dorsal (RAD) (a) y entre la Red Fronto-parietal Derecha (RFPD) y la Red del Giro Supramarginal (RGS) (b) tras el tratamiento con rifaximina	248
Figura 60. Evolución de la conexión entre la Red Visual Media (RVM) y la Red Talámica (RTA) tras el tratamiento con rifaximina	249

Figura 61. Diferencias preexistentes en las conexiones entre la Red Sensitivo-motora Media (RSM) y la Red de Atención Dorsal (RAD) (a) y entre la sección frontal de la Red neuronal por Defecto (RDF) y la Red de los Ganglios Basales (RGB) (b) 251

Figura 62. Ejemplo del solapamiento entre los sujetos de distintos grupos de estudio 294

Abreviaturas

AROMA	<i>Automatic Removal of Motion Artifacts</i>
AUC	<i>Area under the curve</i>
a9-46v	Área 9-46 ventral anterior
BCEA	<i>Bivariate contour ellipse area</i>
BDL	Ligación del conducto biliar
BET	<i>Brain extraction tool</i>
BOLD	<i>Blood oxigenation level dependent</i> /Dependiente del nivel de oxigenación de la sangre
dHb	Hemoglobina desoxigenada
ECM	Error cuadrático medio
EDTA	Ácido etilenodiaminatetraacético
EH	Encefalopatía hepática
EHGNA	Enfermedad del hígado graso no alcohólico
EHM	Encefalopatía hepática mínima
EHNA	Esteatohepatitis no alcohólica
ELA	Esclerosis lateral amiotrófica
FSL	<i>FMRIB Software library</i>
FLIRT	<i>FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>
FMRIB	<i>Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain</i>
FNIRT	<i>FMRIB's Non-linear Image Registration Tool</i>
FPS	<i>Frames Per Second</i>
FWE	<i>Family-wise error</i>
FWHM	<i>Full width at half maximum</i>
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GMPC	Guanosín Monofosfato cíclico

Hb	Hemoglobina
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i>
ICA	<i>Independent component analysis</i>
IL-8	Interleucina 8
MCFLIRT	<i>Motion Correction FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>
MELD	<i>Model for end-stage liver disease</i> /Modelo para enfermedad hepática de estadio final
MELODIC	<i>Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components</i>
MNI	<i>Montreal Neuroscience Institute</i>
PCA	Análisis de Componentes Principales
PET	<i>Positron emission tomography</i> /Tomografía por emisión de positrones
PHES	<i>Psychometric hepatic encephalopathy score</i> /Puntuación psicométrica de encefalopatía hepática
PLS-DA	Análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales
p24pr	Área 24 prima posterior
RAD	Red de atención dorsal
RCB	Red cerebelar
RDF	Sección frontal de la red por defecto
RDP	Sección parietal de la red por defecto
RFPD	Red frontoparietal derecha
RFPI	Red frontoparietal izquierda
RGB	Red de los ganglios basales
RGS	Red del giro supramarginal
RM	Resonancia magnética
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
ROS	<i>Reactive oxygen species</i> /Especies reactivas de oxígeno
rs-fMRI	<i>Resting state functional magnetic resonance imaging</i> /Imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo

RSML	Red sensitivo-motora lateral
RSMM	Red sensitivo-motora media
RTA	Red talámica
RVL	Red visual lateral
RVM	Red visual media
RVO	Red visual occipital
SNC	Sistema nervioso central
SNpr	<i>Substantia nigra pars reticulata</i>
SWJ	<i>Square wave jerk</i>
task-fMRI	<i>Task functional magnetic resonance imaging</i> /Imagen por resonancia magnética funcional con tareas
TFCE	<i>Threshold-free cluster enhancement</i>
TIPS	<i>Transjugular intrahepatic portosystemic shunt</i> /Derivación portosistémica intrahepática transyugular
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alfa</i> /Factor de necrosis tumoral alfa
TR	Tiempo de repetición
TSPO	<i>Translocator protein</i> /Proteína translocadora
UPGMA	<i>Unweighted pair group method with arithmetic mean</i>
VBM	<i>Voxel-based morphometry</i>
VE	Vesícula extracelular

I. Introducción

1. La cirrosis hepática

La cirrosis hepática es el nombre que recibe la etapa final de un proceso de cicatrización, o fibrosis, sufrido por el tejido hepático, y que deriva en una serie de alteraciones en las funciones de este órgano. Este proceso de fibrosis ocurre como respuesta a una fuente de daño crónica que afecta al hígado a lo largo de un periodo de tiempo prolongado, y se caracteriza por la formación de un entramado de tejido cicatricial que, en los casos más severos, llega a aislar las células hepáticas funcionales en nódulos (Figura 1). Esta alteración anatómica dificulta el funcionamiento y comunicación entre las células hepáticas, y de estas con los vasos sanguíneos que atraviesan el hígado. Estos cambios, a su vez, causan la aparición de hipertensión portal y disfunción hepatocelular, que derivan en los múltiples síntomas asociados con la cirrosis.

El procedimiento más usado en la práctica clínica para diagnosticar la cirrosis hepática es la obtención de una muestra de tejido mediante biopsia. La muestra obtenida es posteriormente estudiada para observar si presenta las alteraciones anatómicas e histopatológicas características de la cirrosis hepática. Para alcanzar un diagnóstico fiable se puede combinar la obtención de la biopsia con el análisis de otros datos clínicos y analíticos, como la medición de los niveles de bilirrubina y transaminasas, que se ven alterados en estos pacientes; y con el uso de técnicas de ultrasonidos como Fibroscan®, que permite medir la rigidez del hígado, que es proporcional al nivel de fibrosis del mismo.

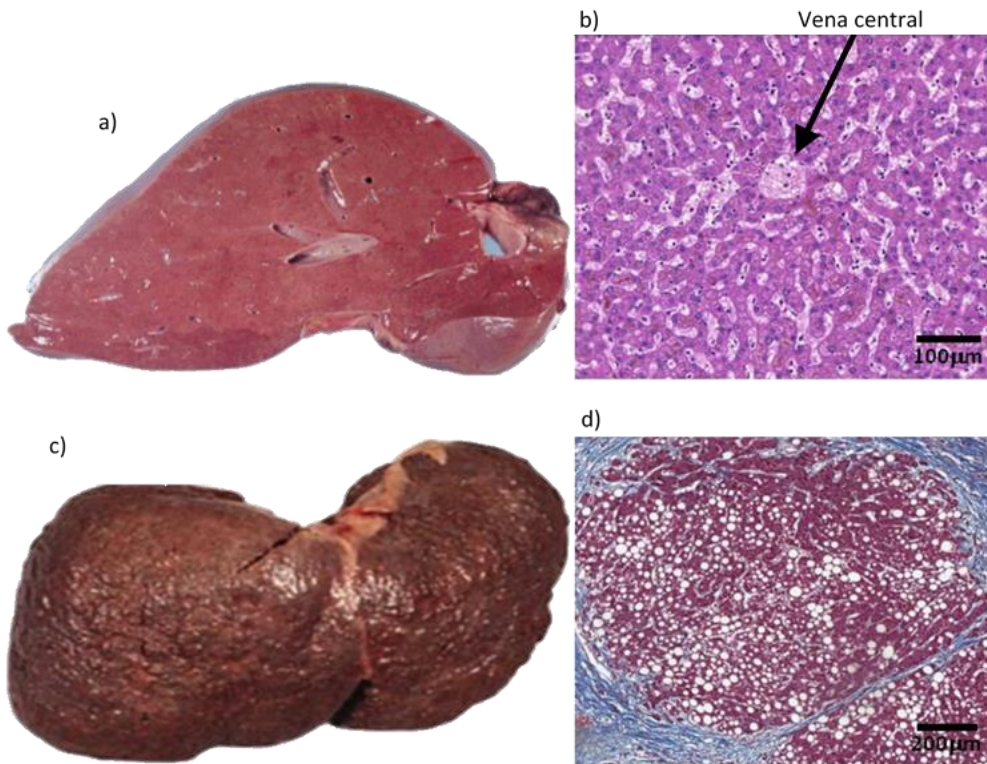


Figura 1. Vista macroscópica y cortes histológicos de hígados sanos y con cirrosis. Vista macroscópica **(a)** y corte histológico (aumento 10x) **(b)** de un hígado sano, y vista macroscópica **(c)** y corte histológico (aumento 5x) **(d)** de un hígado con cirrosis. Para la Figura **b** se ha realizado una tinción de hematoxilina-eosina. Para la Figura **d** se ha realizado una tinción tricrómica. En el hígado sano se observa que el contorno y la superficie del órgano son lisos, mientras que en el hígado con cirrosis estos son nodulares e irregulares. A nivel histológico, el tejido hepático sano se organiza en lóbulos ordenados alrededor de una vena central, pero en el caso con cirrosis se observa la aparición de bandas fibrosas y nódulos de tejido cicatricial, que alteran la arquitectura del tejido y aíslan a las células hepáticas. Imágenes obtenidas de pacientes con cirrosis del laboratorio de Neurobiología del Centro de Investigación Príncipe Felipe.

1.1. Epidemiología y etiología de la cirrosis

Según informes publicados en el 2017, durante este año la cirrosis y las complicaciones derivadas de la misma fueron responsables de 1,32 millones de muertes en todo el mundo; dándose aproximadamente dos tercios de estas muertes en hombres (Cheemerla *et al.*, 2021). Según datos del *Institute of health metrics and evaluation* (IHME) de la universidad de Washington (<https://www.healthdata.org/>), en el 2019 alrededor de 19 de cada 100.000 muertes registradas en el mundo fueron atribuibles a la cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado, siendo esta tasa especialmente alta en Moldavia y Egipto, con 74 y 63 de cada 100.000 muertes atribuibles a esta causa, respectivamente. A partir de esta misma fuente, se ha podido observar que, aunque durante los últimos 30 años (1990-2019) la ratio global de muertes atribuibles a la cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado se ha mantenido estable en 19 de cada 100.000 muertes registradas, este valor presenta una evolución marcadamente distinta según el país, con un incremento anual cercano al 4% en Rusia y otras antiguas repúblicas soviéticas, que contrasta con un descenso anual de entre el 1 y el 3% en Europa occidental y África subsahariana (Figura 2).

En el caso específico de España, a partir de los datos disponibles en el Instituto Nacional de Estadística (<https://www.ine.es/>) se puede observar que el número de muertes atribuidas a la cirrosis en nuestro país ha estado disminuyendo de forma paulatina durante las últimas décadas. En 2021 se registraron 4619 muertes que fueron atribuidas a esta causa, siendo estas un 1,02% del total de muertes registradas durante el año.

Se estima que en el 2017 había alrededor de 120 millones de personas en todo el mundo que padecían cirrosis. Estos datos indican un incremento absoluto respecto de los datos obtenidos en informes anteriores (Liu *et al.*, 2022). No obstante, debido a la dificultad para diagnosticar algunos casos de hepatitis, y al fuerte factor cultural asociado al consumo de alcohol y sus efectos en la salud, es muy probable que el número de personas con cirrosis en el mundo sea considerablemente mayor al registrado (Ayala, 2012; Cheemerla *et al.*, 2021).

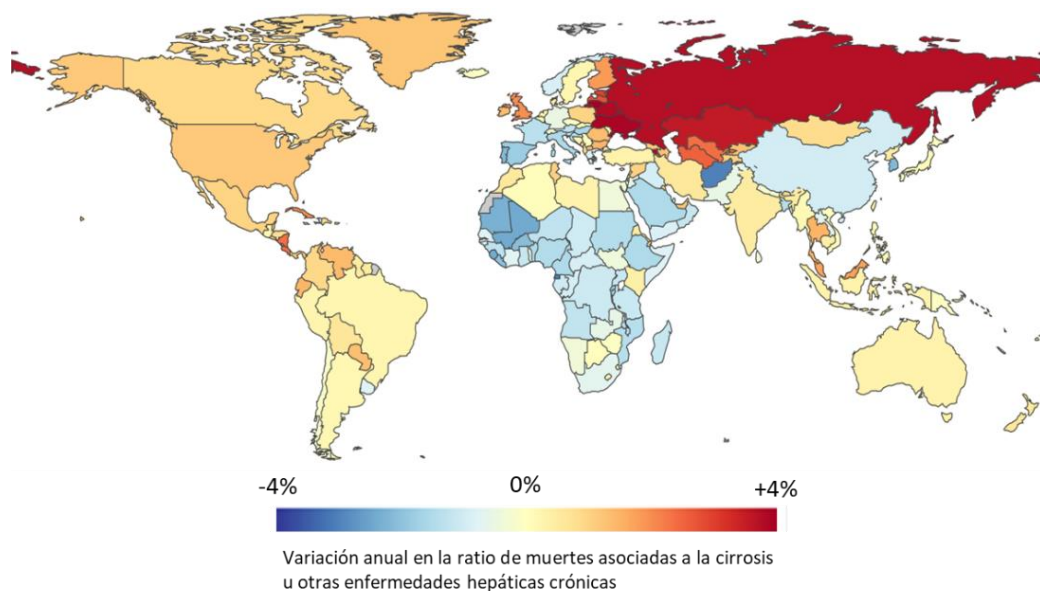


Figura 2. Evolución anual, desde 1990 hasta 2019, del número de muertes atribuibles a la cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado por cada 100.000 muertes totales. Figura modificada a partir de la web del IHME: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/> (accedida el 22 de Abril de 2023).

Las principales causas de cirrosis hepática son las hepatitis B y C, el consumo de alcohol, y la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA). Históricamente, la gran mayoría de casos de cirrosis eran resultado de la hepatitis, pero durante los últimos 30 años se han desarrollado grandes mejoras en la prevención y tratamiento de estas enfermedades, favoreciendo que la proporción de casos de cirrosis debidos a estas hayan disminuido gradualmente. Por otro lado, debido a la evolución de la dieta y estilo de vida de la población, la cantidad de casos de cirrosis cuyo origen es el alcohol, pero especialmente la EHGNA, ha aumentado durante las últimas décadas (Mokdad *et al.*, 2014; GBD 2017 Cirrhosis Collaborators, 2017). Existen otras etiologías, con una ocurrencia mucho menor, como la hemocromatosis, la hepatitis autoinmune o el deterioro de los conductos biliares, entre otras.

1.2. Alteraciones y síntomas presentes en la cirrosis

La cirrosis hepática incluye numerosos síntomas y alteraciones característicos, resultantes de la hipertensión portal y la disfunción hepatocelular causados por el proceso de fibrosis. La hipertensión portal puede causar la aparición de varices esofágicas o de ascitis, que es una acumulación de líquido en la cavidad peritoneal. Por otro lado, y debido a la gran cantidad de procesos metabólicos en los que el hígado juega un papel central, la disfunción hepatocelular es también el origen de un considerable número de trastornos. El ejemplo más llamativo sería la ictericia, que es la coloración amarillenta de la piel y las mucosas causada por la acumulación de bilirrubina en el organismo, que el hígado enfermo es incapaz de metabolizar.

Otro trastorno característico de la cirrosis es la encefalopatía hepática (EH); un trastorno neuropsiquiátrico que puede presentarse en distintos grados de severidad, y cuyas principales causas son la hiperamonemia y la inflamación. La EH y sus distintas facetas serán desarrolladas en profundidad en el apartado 2 de la introducción.

1.3. Estadios de la cirrosis

A pesar del severo deterioro, tanto de la arquitectura como de la función hepática, que normalmente se observa en el tejido hepático de los pacientes con cirrosis, la manifestación de las complicaciones características de la misma no siempre es evidente. Los casos en los que la hipertensión portal e insuficiencia hepática todavía no causan la manifestación de síntomas se conocen como cirrosis compensadas. No obstante, según estas alteraciones progresan y el paciente empieza a manifestar las alteraciones descritas, se pasaría a hablar de un caso de cirrosis descompensada.

Para evaluar de forma adecuada la situación de los pacientes, y su posible progresión hacia una cirrosis descompensada, existen dos escalas de aplicación generalizada en el ámbito clínico:

-La **clasificación Child-Pugh** de severidad de enfermedad hepática (Child y Turcotte, 1964; Pugh *et al.*, 1973). Esta escala evalúa el grado de ascitis, el tiempo de protrombina, los niveles de bilirrubina y albúmina en sangre, y el grado de encefalopatía hepática (Tabla 1). Es la escala más utilizada en la práctica clínica, y sus resultados son útiles para determinar tanto la gravedad de la cirrosis como su pronóstico de supervivencia y riesgos quirúrgicos.

Según la puntuación otorgada al paciente se puede hablar de: cirrosis de grado A o compensada (Puntuación ≤ 6), de grado B o con estado funcional comprometido (Puntuación 7 a 9), o de grado C o descompensada (Puntuación ≥ 10).

Tabla 1. Parámetros de la escala Child-Pugh.

Parámetros	Puntos asignados		
	1	2	3
Ascitis	Ausente	Leve	Moderada
Bilirrubina (mg/dl)	≤ 2	2-3	> 3
Albúmina (g/dl)	$> 3,5$	2,8-3,5	$< 2,8$
Encefalopatía	No	Grado 1-2	Grado 3-4
Tiempo de protrombina			
Segundos sobre el control	1-3	4-6	> 6
International Normalized Ratio	$< 1,8$	1,8-2,3	$> 2,3$

-El **índice MELD** (*Model for end-stage liver disease*) (Kamath *et al.*, 2001). Este índice sirve para el pronóstico de las cirrosis en fases más avanzadas, y se usa principalmente para evaluar la prioridad de un trasplante hepático. Consiste en una fórmula en la que se tienen en cuenta los niveles de bilirrubina y creatinina, además del valor de INR (*International Normalized Ratio*), que es una medida del tiempo de protrombina.

Puntuación MELD = $6,4 + 9,6[\text{Ln creatinina (mg/dl)}] + 3,8[\text{Ln bilirrubina (mg/dl)}] + 11,2[\text{Ln INR}]$

2. La encefalopatía hepática

Una de las principales funciones del hígado es la de detoxificar sustancias perjudiciales presentes en el torrente sanguíneo. En los pacientes con cirrosis, debido a la incapacidad del hígado enfermo para llevar a cabo dicha función, estas sustancias perjudiciales se acumulan en el torrente sanguíneo, y pueden llegar a alterar el funcionamiento del sistema nervioso central, llevando a lo que se conoce como encefalopatía hepática (EH).

La EH es un trastorno neuropsiquiátrico complejo en el que las funciones del sistema nervioso central se ven alteradas de forma secundaria a partir de una insuficiencia en la función hepática, y afecta a una considerable proporción de pacientes con cirrosis (Vilstrup *et al.*, 2014). La EH puede presentarse de forma aguda, normalmente como resultado de una infección o insuficiencia hepática aguda, y con un alto grado de mortalidad; pero en la mayoría de los casos, especialmente en pacientes con cirrosis, se manifiesta una EH crónica. Aunque los pacientes con cirrosis pueden desarrollar EH de forma espontánea, existen intervenciones quirúrgicas, como la inserción de derivaciones portosistémicas transyugulares intrahepáticas (TIPS), que pueden acelerar y exacerbar su aparición.

Mientras que en la EH aguda la evolución desde un estado mental alterado hasta el coma es bastante rápida, en los casos de EH crónica es posible observar una evolución lenta y paulatina de los síntomas. Estos síntomas van desde sutiles déficits de atención y ligeras alteraciones en los patrones de sueño y comportamiento en los casos más leves, hasta el estupor y el coma en los pacientes más graves; pasando por distintos niveles de déficit psicomotor, desorientación y cambios de personalidad a lo largo de su evolución. En los casos más graves los pacientes pueden llegar a morir a causa de un edema cerebral (Gazzard *et al.*, 1986; Weissenborn *et al.*, 2005). El criterio de clasificación de West-Haven (Tabla 2) es la herramienta que se usa con más frecuencia para evaluar la presencia y gravedad de la EH. Según esta escala, es posible clasificar un caso de EH en 4 grados de gravedad, dependiendo de las alteraciones que presenta el paciente y la severidad de las mismas (Conn *et al.*, 1977).

Además de los 4 grados de severidad considerados por el sistema de clasificación de West-Haven, hay que tener en cuenta también la existencia de la forma más leve de EH, que es de carácter subclínico y afecta a más de la mitad de los pacientes con cirrosis en

el mundo (Nardone *et al.*, 2016). Esta etapa del trastorno se conoce como Encefalopatía Hepática Mínima (EHM), y será el foco principal de esta tesis.

Tabla 2. Criterios de West-Haven para la clasificación del grado de encefalopatía hepática.

Grado de EH	Sintomatología
0/EHM	Sin alteraciones aparentes salvo un potencial deterioro ligero de algunas capacidades cognitivas o de la coordinación
1	Leve falta de atención, euforia, ansiedad, problemas para la realización de operaciones matemáticas sencillas
2	Letargo, apatía, leve desorientación, cambios de personalidad
3	Somnolencia o estupor, confusión y desorientación graves
4	Coma

(Modificado a partir de Conn *et al.*, 1977)

Bajo un examen clínico rutinario los pacientes con EHM no muestran ninguna alteración detectable, pero, si se les somete a los test psicométricos adecuados, es posible observar alteraciones en varias de sus funciones cognitivas (concentración, atención, coordinación...) al comparar sus resultados con los de un individuo sano. Estas alteraciones también pueden observarse en sus niveles fisiológicos de amonio, y de algunas citocinas implicadas en procesos inflamatorios (IL-18, IL-22, IL-6...) (Ferenci *et al.*, 2002; Amodio *et al.*, 2004; Romero-Gómez *et al.*, 2007; Montoliu *et al.*, 2009). En los pacientes con EHM se ha observado una mayor probabilidad de sufrir accidentes de tráfico, un empeoramiento general de la calidad de vida (Ridola *et al.*, 2018), y una mayor predisposición a que su condición progrese hasta una EH de carácter clínico (Romero-Gómez *et al.*, 2001). En pacientes ancianos este deterioro se ve exacerbado por la presencia de otras dolencias asociadas a una edad avanzada (Schomerus *et al.*, 1981; Bajaj *et al.*, 2020; Faccioli *et al.*, 2022).

2.1. Alteraciones neurológicas

2.1.1. Alteraciones neuropsiquiátricas

En los pacientes con EH se ha llegado a describir un considerable número de alteraciones neuropsiquiátricas distintas, entre las que se incluyen irritabilidad, apatía, cambios de apetito, amnesia y alucinaciones. Se han descrito también alteraciones de la conducta y la personalidad, que pueden incluir cuadros de depresión o euforia, alternados con periodos más estables; o incluso episodios paranoicos, normalmente relacionados con las dificultades perceptivas que los pacientes experimentan durante periodos de estupor (Sherlock *et al.*, 1954).

También es común la alteración del ciclo del sueño en estos pacientes, con somnolencia y letargia durante las primeras horas del día, y una calidad del sueño disminuida durante la noche. Esto provoca que el paciente disfrute de menos horas de descanso, que en muchas ocasiones queda fragmentado cuando se despierta durante la noche, y contribuye al deterioro de su salud (Cordoba *et al.*, 1998).

2.1.2. Alteraciones cognitivas

La alteración de las funciones cognitivas también ha sido ampliamente estudiada y descrita en pacientes con EH. Las principales funciones que parecen verse afectadas son la atención, percepción y memoria.

Los problemas de atención y concentración son uno de los síntomas más frecuentes en los pacientes con EH. El deterioro de estas funciones es evidente en los pacientes que presentan una EH de grado 2, y su empeoramiento puede continuar hasta llegar al coma en los casos de grado 4. Este deterioro de la atención ha sido asociado con alteraciones metabólicas en el giro cingulado, que también participa en la regulación de las emociones (Lockwood *et al.*, 1993). Es frecuente que los pacientes que sufren este tipo de alteraciones necesiten que se les formulen las preguntas repetidamente; y sus respuestas suelen ser lentas y, en ocasiones, carentes de sentido (Weissenborn *et al.*, 2005).

En el caso de las capacidades perceptivas, su deterioro en los pacientes con EH se debe al daño sufrido en el sistema nervioso periférico, y a las alteraciones en la red sensitivo-motora. La principal manifestación de este tipo de deterioro se observa en la percepción visuo-espacial, con alteraciones como la apraxia construccional, en la que queda deteriorada la capacidad para escribir o reproducir dibujos sencillos. También se han observado déficits en la capacidad para aprender nuevas tareas a partir de la observación, y que se han podido registrar a través de pruebas que evalúan el aprendizaje y la percepción (Puca *et al.*, 1989). Una de las manifestaciones más tempranas de las alteraciones perceptivas, que también afecta a los pacientes con EHM, es el deterioro de la capacidad para percibir dos eventos visuales o táctiles como temporalmente separados (Kircheis *et al.*, 2002; Lazar *et al.*, 2018). Estas alteraciones tempranas afectan también a la percepción térmica, pues se observa un aumento del umbral antes de la detección de cambios de temperatura, y una mayor latencia a la hora de reaccionar a los mismos (Rega *et al.*, 2021).

La memoria es otra función cognitiva que parece estar alterada en pacientes con EH, aunque en este caso los resultados de los que se dispone no son tan concluyentes como con las alteraciones de la atención y la percepción (Weissenborn *et al.*, 2003). Estos resultados discrepantes se observan, especialmente, debido a las limitaciones inherentes a los test que normalmente se han usado para evaluar la memoria de los pacientes. Por un lado, hay que tener en cuenta que un gran número de test usados para medir el estado en que se encuentra la memoria de los pacientes dependen de la atención de los mismos, cosa que dificulta la atribución de las alteraciones observadas a una función u otra. Por otro lado, muchos de estos test también están basados en el recuerdo a corto plazo de ítems visuales, lo cual también supone un sesgo en sí mismo debido al deterioro de la percepción visual que sufren los pacientes con EH. (Elithorn *et al.*, 1975; Rikkers *et al.*, 1978; Gilberstadt *et al.*, 1980; Schomerus *et al.*, 1981; Tarter *et al.*, 1984).

A pesar de la existencia de este sesgo histórico a la hora de evaluar el estado de la memoria en los pacientes con EH, estudios como el de Weissenborn *et al.* (2003) apuntan a que parte de los déficits observados se debe, efectivamente, a la interferencia de las alteraciones a la atención y percepción. En dicho trabajo se analizó la memoria a corto y largo plazo de pacientes con EH temprana (EHM y EH de grado 1) usando ítems tanto visuales como acústicos, y se observó que, aunque estos pacientes mostraban una peor

ejecución en cuanto a la memoria a corto plazo, solamente se veía afectada la memoria a largo plazo en los casos en que se habían usado ítems visuales.

Aunque las alteraciones cognitivas descritas se encuentran también presentes en los pacientes que sufren EHM, estas son demasiado sutiles como para ser detectadas como manifestaciones de carácter clínico; razón por la cual es necesario el uso de test psicométricos especializados (Ferenci *et al.*, 2002; Weissenborn *et al.*, 2003; Amodio *et al.*, 2004). Estas alteraciones, no obstante, tienen un efecto claramente pernicioso en la calidad de vida de los pacientes con EHM, que ven disminuida su capacidad para trabajar, conducir o llevar a cabo tareas domésticas de forma normal. Estos problemas se extienden también a otros aspectos, como sus interacciones sociales y su horario de sueño. (Schomerus *et al.*, 1981; Groeneweg *et al.*, 1998; Bajaj *et al.*, 2009; Felipo *et al.*, 2013).

2.1.3. Alteraciones motoras

Las alteraciones de la función motora son también frecuentes en los pacientes que sufren EH. De forma similar a las alteraciones neuropsiquiátricas y cognitivas, estas alteraciones se muestran de forma sutil en las fases iniciales de la EH, y su severidad escala con el grado de la misma, como se muestra en la Tabla 3.

En los pacientes con EH se han observado alteraciones relacionadas con la estructura y funcionamiento de los ganglios basales, que están muy involucrados en la función motora (Alarcón y Giménez-Roldán, 2005). Mientras que las alteraciones de la coordinación dependientes del cerebelo y otras alteraciones dependientes de la vía cortico-espinal se han detectado en pacientes con EH de grado I (Krieger *et al.*, 1996; Jones y Weissenborn, 1997), otras alteraciones relacionadas con el funcionamiento de los ganglios basales, también denominadas signos extrapiramidales, se han llegado a observar en pacientes con EHM (Jover *et al.*, 2003). Estos signos extrapiramidales, que incluyen alteraciones en la expresión facial, el habla, la postura y el movimiento de las manos, se han podido relacionar con peores resultados en test psicométricos, y con un empeoramiento de la calidad de vida (Butz *et al.*, 2010; San Martín-Valenzuela *et al.*, 2020). Estas alteraciones son, además, un indicador capaz de predecir el desarrollo de EH de carácter clínico (Jover *et al.*, 2005; Compañy *et al.*, 2010).

Las alteraciones motoras que sufren los pacientes con EHM, junto con el deterioro de su percepción visuo-espacial, afectan a muchas tareas ejecutivas, en las que se requiere una buena capacidad de búsqueda visual, ejecución de secuencias motoras, y coordinación visuo-motora (Weissenborn *et al.*, 2001; Lazeyras *et al.*, 2002; Felipe *et al.*, 2012a).

Tabla 3. Alteraciones motoras en pacientes con Encefalopatía Hepática según la clasificación de West-Haven.

Grado de EH	Sintomatología
0	Alteraciones sutiles solamente detectables en pruebas específicas
1	Falta de coordinación, temblores y apraxia
2	Asterixis, ataxia y problemas en la expresión verbal
3	Reflejos hipoactivos, rigidez postural, nistagmo y clonus
4	Dilatación pupilar, reflejo oculocefálico, ausencia de respuesta a estímulos

(Según Amodio *et al.*, 2004)

Apraxia: trastorno en la ejecución de movimientos aprendidos que no se debe a debilidad muscular, pérdida sensorial ni falta de comprensión o atención a las órdenes dadas. Asterixis: temblor de las manos en forma de aleteo. Ataxia: irregularidad o ausencia de coordinación de los movimientos musculares. Nistagmo: espasmo clónico de los músculos motores del globo ocular, que produce movimientos involuntarios del mismo. Clonus: serie de contracciones rítmicas e involuntarias de un músculo o grupo muscular por la extensión brusca y pasiva de sus tendones. Reflejo oculocefálico: reflejo desencadenado al mover la cabeza de un lado a otro con los ojos abiertos. El paciente comatoso cuyo tallo encefálico esté intacto dirigirá los ojos en la dirección opuesta a aquella en que se gire la cabeza.

2.2. Principales factores que contribuyen a la aparición de la encefalopatía hepática

Existen múltiples factores que contribuyen a la aparición de la EH, y de su primera fase subclínica, la EHM. Estos factores son capaces de actuar de forma sinérgica, y entre ellos destacan dos: la hiperamonemia y la inflamación. La combinación del efecto que estos dos factores tienen sobre el organismo propicia la aparición de neuroinflamación y la alteración de la neurotransmisión, que también son factores de gran relevancia en sí mismos (Figura 3).

El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la EH también ha ganado relevancia en tiempos recientes, pero este se desarrollará en el apartado 2.4.1 debido a su relación con el tratamiento de este trastorno.

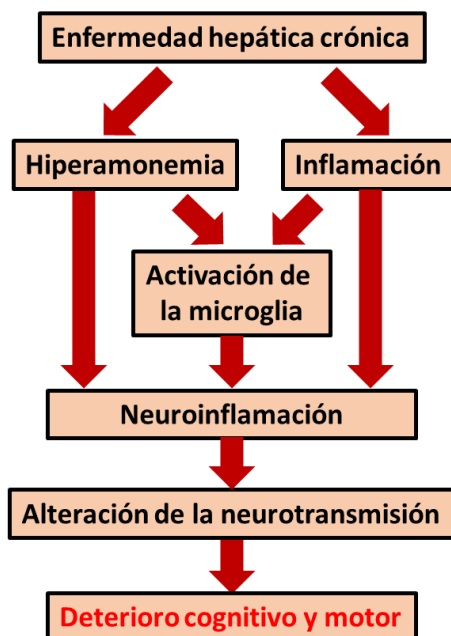


Figura 3. Diagrama resumen de la cascada de alteraciones que propician la aparición del deterioro motor y cognitivo asociado con la EH y la EHM. Figura modificada a partir de Montoliu *et al.*, 2015.

2.2.1. Hiperamonemia

El amonio es una sustancia que, a nivel biológico, destaca por su papel clave en la homeóstasis del nitrógeno en el organismo, y en la síntesis del aminoácido glutamina. Su principal vía de entrada en el organismo es a través de la pared intestinal, como parte de la dieta, pero también es una sustancia de deshecho resultante del metabolismo de proteínas y otros compuestos nitrogenados (Figura 4). No obstante, en concentraciones altas el amonio puede resultar tóxico y alterar gravemente el funcionamiento del sistema nervioso central, y es por ello que sus niveles en el organismo están estrictamente regulados. En un individuo sano, el amonio que se genera como resultado de los distintos procesos metabólicos, o que entra en el organismo como parte de la

dieta, es transportado hasta el hígado, donde se incorpora al ciclo de la urea para ser posteriormente eliminado a través de la orina (Walker, 2014).

Debido al papel único del hígado en el proceso de eliminación del amonio, es de gran importancia para el mantenimiento de unos niveles bajos de esta sustancia que la función hepática sea óptima (Gerok y Haüssinger, 1984; Cooper, 1993). En las enfermedades en que esta función se deteriora, como es el caso de la cirrosis, los niveles de amonio en sangre y otros tejidos aumentan progresivamente, causando lo que se conoce como hiperamonemia. Esta hiperamonemia es tóxica para el organismo, y puede propiciar un aumento del estrés oxidativo y una alteración de las funciones en múltiples tejidos, incluyendo el sistema nervioso central. Por esta razón, la hiperamonemia es considerada uno de los principales factores responsables del desarrollo de la encefalopatía hepática (Felipo y Butterworth, 2002; Felipo *et al.*, 2012b; Kosenko, *et al.*, 2022). Una de las formas en que se ha observado el efecto pernicioso de la hiperamonemia sobre el organismo es a través de las alteraciones que causa en los procesos de gluconeogénesis y cetogénesis que se dan en el tejido hepático; siendo estos cruciales para que el sistema nervioso disponga de un correcto aporte energético (Kosenko *et al.*, 2020).

Existen numerosos datos experimentales y clínicos que avalan la relación entre los niveles altos de amonio en el organismo y el desarrollo de EH, siendo uno de los más directos la correlación entre los niveles de amonio en sangre y la severidad de los síntomas neurológicos de los pacientes con EH (Clemmesen *et al.*, 1999). Se observa una relación similar en los déficits congénitos en el ciclo de la urea, en los que los niños y niñas nacen con altos niveles de amonio en el organismo, y presentan un déficit en su desarrollo cognitivo, que puede relacionarse con el nivel y duración de esta hiperamonemia neonatal (Msall *et al.*, 1984). A nivel celular, también se puede observar la relación entre la EH y la hiperamonemia si se comparan las alteraciones morfológicas y funcionales que sufren los astrocitos de los pacientes con EH crónica con los de otros pacientes con enfermedades que causan altos niveles de amonio en el organismo de forma crónica; o en cultivos celulares de astrocitos expuestos a altos niveles de amonio. En todos los casos las alteraciones sufridas son muy similares (Michalak y Butterworth, 1997; Norenberg, 1987; Angelova *et al.*, 2022). En el caso de la EH aguda también se observa un hinchamiento de los astrocitos y un edema cerebral similares a los que sufren modelos animales expuestos de forma aguda a altos niveles de amonio, u otras patologías que incluyen hiperamonemia aguda (Clemmesen *et al.*, 1999).

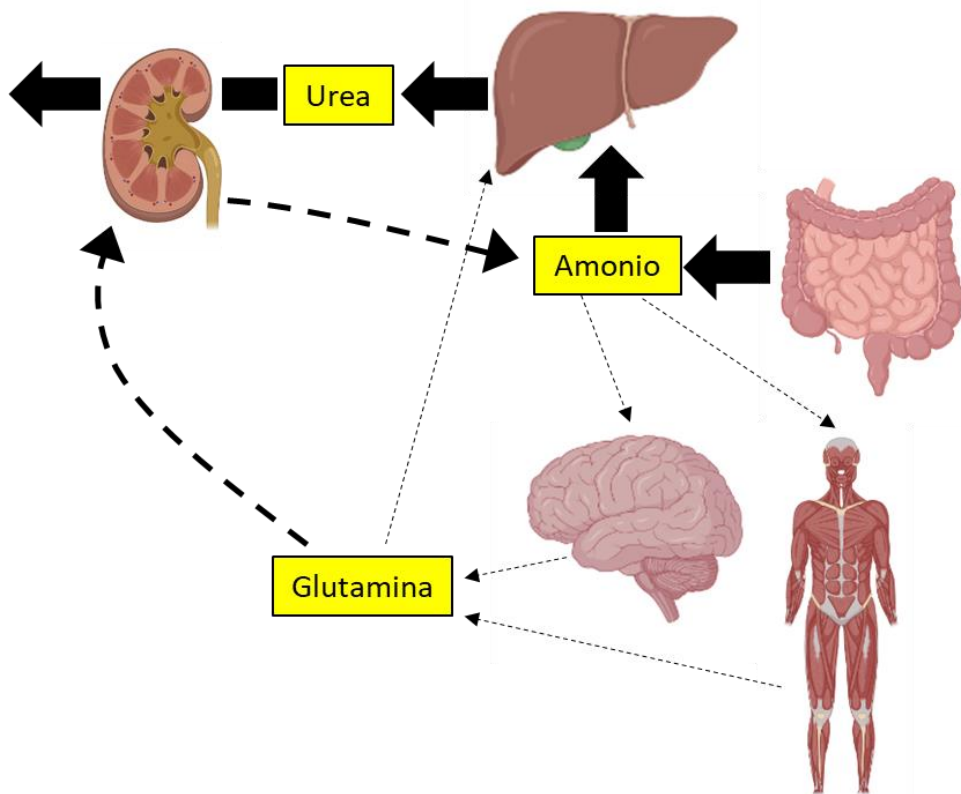


Figura 4. Diagrama resumen con la ruta que sigue el amonio en un individuo sano. La mayoría del amonio entra en el organismo a través del intestino como parte de las proteínas de la dieta, y a causa de la acción de la microbiota intestinal. En individuos sanos la mayoría del amonio se metaboliza en el hígado para su conversión en urea, que es posteriormente excretada en la orina a través de los riñones. Hay otros órganos y tejidos, principalmente el cerebro y el músculo esquelético, capaces de sintetizar glutamina usando amonio. En los riñones y el hígado, mediante la acción de la glutaminasa, puede generarse también amonio a partir de la glutamina sintetizada por otros órganos. Imagen elaborada con la herramienta Biorender (<https://www.biorender.com/>).

2.2.2. Inflamación

La inflamación es uno de los principales mecanismos de defensa de que dispone el organismo frente a agresiones externas. Se trata de una respuesta compleja que forma parte de la inmunidad innata, y que por tanto puede desencadenarse ante agentes de cualquier origen, incluidos aquellos de carácter biológico (organismos patógenos o tejidos dañados), químico (sustancias corrosivas o tóxicas) o físico (radiación, traumatismos o temperaturas extremas).

En circunstancias normales, el proceso inflamatorio se da de forma aguda y sirve para crear un ambiente adverso para el agente extraño, atraer y activar las distintas células y mecanismos implicados en la respuesta inmunitaria, y favorecer la regeneración del tejido dañado. Aunque el abanico de mecanismos inmunitarios implicados en la respuesta inflamatoria es diverso y complejo, durante la fase aguda destaca la presencia de granulocitos, especialmente neutrófilos, centrados en la fagocitosis de agentes biológicos; y la actividad de aminas vasoactivas, como la histamina y la serotonina, que aumentan la permeabilidad de los vasos sanguíneos para favorecer la llegada de más células inmunitarias (Hannooddey y Nasuruddin, 2022).

Por otro lado, si en el organismo se dan situaciones como la existencia de un desorden inmunitario o la presencia persistente de un agente perjudicial, puede propiciarse un cambio de una respuesta inflamatoria aguda a una crónica, que se prolonga en el tiempo. Debido al estrés que supone un proceso inflamatorio crónico para el organismo, en estos casos se puede dar un nivel de destrucción de tejido importante, que no es correctamente compensada por la regeneración de tejido que se potencia en procesos inflamatorios agudos. A diferencia de la fase aguda, durante la inflamación crónica destaca una mayor presencia de linfocitos, cuyo papel está más centrado en la respuesta inmunitaria específica; y una mayor actividad de múltiples citocinas y factores de crecimiento, encargados de promover y regular la respuesta inflamatoria (Pahwa *et al.*, 2022).

Una de las razones por las que durante una respuesta inflamatoria crónica se da un nivel tan alto de destrucción de tejido es debido a la presencia persistente de especies reactivas de oxígeno. Estas especies reactivas son usadas por las células inmunitarias para destruir los agentes extraños tras fagocitarlos, pero su alta reactividad hace que sean dañinas para los tejidos circundantes. Así, mientras que durante un proceso

inflamatorio agudo dicha destrucción es puntual y limitada, durante un proceso crónico esta se prolonga en el tiempo, deteriorando los tejidos afectados (Mittal *et al.*, 2014). Existen múltiples enfermedades y trastornos que, aunque no impliquen la presencia de un agente extraño, pueden favorecer la aparición de una respuesta inflamatoria crónica. Esta respuesta puede deberse al daño persistente que causan estos trastornos en algún tejido, como ocurre con la mayoría de casos de cirrosis, o a la alteración continuada de algún proceso o mecanismo implicado en la respuesta inflamatoria, como ocurre en enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide (Falconer *et al.*, 2018).

Al estudiar el papel de la inflamación en la cirrosis y la EH, además del efecto pro-inflamatorio del propio daño sufrido por el tejido hepático, hay que tener en cuenta el papel que el propio hígado juega en la regulación y supresión de la respuesta inmunitaria. Por un lado, en el hígado se encuentran presentes un gran número de linfocitos y células presentadoras de antígenos, como las células de Kupffer y células dendríticas. Estas células se encargan de la detección de agentes patógenos o sustancias dañinas que pasen por el hígado, con un especial énfasis en aquellos que han ingresado en el torrente sanguíneo desde el intestino (Jenne y Kubes, 2013). Los hepatocitos del hígado también colaboran con la respuesta inmunitaria a través de la síntesis de sustancias cruciales para la misma, tales como proteínas del sistema de complemento, proteína C reactiva o proteínas de unión a lipopolisacáridos (Racanelli y Rehmann, 2006). De esta forma, la propia disfunción hepatocelular de los pacientes con cirrosis puede convertirse en otra fuente de desequilibrio de la respuesta inmunitaria. Estos desequilibrios pueden hacer a los pacientes con cirrosis más susceptibles de sufrir infecciones, además de poder devenir, en los casos más graves, en un fallo multiorgánico grave y potencialmente mortal (Bone RC., 1996; Wasmuth *et al.*, 2005).

En pacientes con cirrosis también es frecuente la linfopenia, especialmente la de los linfocitos T helper, encargados de la activación de otros linfocitos (Lario *et al.*, 2013). También son usuales los niveles alterados de diversas citocinas en suero, tales como la IL-17, que favorece la fibrogénesis hepática (Lan *et al.*, 2009); la IL-10, con actividad antiinflamatoria; o las IL-6 e IL-22, que contribuyen a una mayor respuesta inflamatoria. En condiciones normales, el equilibrio entre estas interleucinas ayuda a proteger el hígado de la fibrosis, pero en los pacientes con cirrosis dicho equilibrio se rompe (Thompson *et al.*, 1998; Streetz *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2010; Rey y Effendi-Ys, 2021).

Los procesos inflamatorios crónicos relacionados con el deterioro cognitivo se han observado en múltiples enfermedades, como la diabetes, la artritis reumatoide o la

obesidad (Shin *et al.*, 2013; Díaz-Gerevini *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2014). También se han registrado casos de deterioro cognitivo durante procesos postoperatorios, y se ha podido relacionar específicamente con la evolución de los niveles de IL-6 en la vejez (Weaver *et al.*, 2002; Teunissen *et al.*, 2003; Yaffe *et al.*, 2003; Hovens *et al.*, 2014). Por otro lado, en algunas de estas enfermedades, que cursan con inflamación crónica, como la sarcoidosis o la ya mencionada artritis, se ha comprobado que los tratamientos enfocados a disminuir la respuesta inflamatoria son también capaces de mejorar la función cognitiva de los pacientes (Elfferich *et al.*, 2010; Raftery *et al.*, 2012).

La relación entre los niveles de citocinas pro-inflamatorias en el torrente sanguíneo y el deterioro cognitivo se ha observado también en los pacientes con encefalopatía hepática. En este caso se observa una relación entre el aumento de los niveles de TNF- α , y un incremento de los procesos inflamatorios en general, y un mayor grado de severidad de la EH que sufren los pacientes (Odeh *et al.*, 2004; Shawcross *et al.*, 2011). De forma más específica, al estudiar a pacientes con EHM se ha observado que, en comparación con pacientes con cirrosis pero que no sufren EHM, estos presentan niveles aumentados de IL-6, IL-18, y otras interleucinas pro-inflamatorias. De hecho, en los pacientes con EHM los niveles en sangre de muchas de estas interleucinas aumentan según empeoran sus resultados en los test que evalúan sus capacidades cognitivas. (Montoliu *et al.*, 2009). Estas alteraciones también se observan en los niveles de activación de los linfocitos B y linfocitos T de los pacientes con EHM, que suelen estar aumentados (Mangas-Losada *et al.*, 2017). De forma similar, los pacientes que sufren EHM muestran importantes diferencias, en comparación con los pacientes no la sufren, en los niveles de expresión genética de múltiples interleucinas, los mecanismos implicados en la proliferación de distintos tipos de células inmunitarias, y el metabolismo de algunos lípidos (Rubio *et al.*, 2021).

2.2.3. Sinergia entre inflamación e hiperamonemia

Cuando se tienen en cuenta tanto la hiperamonemia como la inflamación que sufren los pacientes con deterioro cognitivo es posible observar un efecto sinérgico entre ambos factores (Felipo *et al.*, 2012b). El efecto agravado que se deriva de esta combinación se ha observado al administrar a pacientes con cirrosis una solución de aminoácidos con el objetivo de inducir hiperamonemia. La evaluación de estos pacientes mediante test psicométricos confirmó un deterioro de las funciones cognitivas en aquellos que, además de la hiperamonemia inducida, presentaban inflamación, pero no en aquellos que no presentaban inflamación (Shawcross *et al.*, 2004; Shawcross *et al.*, 2007).

Esta relación sinérgica se ha comprobado también en estudios con modelos animales. Marini y Broussard (2006) observaron que, al inducir un proceso inflamatorio en ratones sanos y ratones con hiperamonemia, aunque el proceso inflamatorio en sí mismo fuese similar en ambos casos, el deterioro cognitivo resultante era mayor y se prolongaba durante más tiempo en los ratones con hiperamonemia. Un efecto similar fue observado por Jover *et al.* (2006) en un estudio en el que se sometió a ratas a una ligadura del conducto biliar (BDL) para inducirles un proceso inflamatorio. En este caso, solamente aquellos animales a los que, además de la BDL, se les indujo hiperamonemia mediante la dieta mostraron un aumento de sus astrocitos y un deterioro de sus capacidades motoras.

2.2.4. Neuroinflamación

Como consecuencia de la hiperamonemia y los procesos inflamatorios que se dan en el organismo, también conocidos como inflamación periférica, los pacientes con EH llegan a desarrollar neuroinflamación. En este caso el proceso inflamatorio ocurre específicamente en el sistema nervioso central (SNC), pero sus mecanismos de acción y función originales son bastante similares a los de otros procesos inflamatorios ya descritos. La neuroinflamación favorece la activación de las células de microglia, que son las principales células inmunitarias del SNC, y de los astrocitos, que normalmente cumplen una función estructural dentro de este sistema. Durante este proceso se favorece también la infiltración de linfocitos desde fuera del SNC a través de la barrera hematoencefálica. Como en otros procesos inflamatorios, se observa un cierto nivel de

destrucción de tejido, que normalmente afecta, de forma progresiva, a distintas capas del SNC (Montoliu *et al.*, 2015).

Para evaluar la presencia de neuroinflamación en pacientes vivos es usual medir, mediante tomografía de emisión de positrones (PET), la unión de ligandos a la proteína translocadora (TSPO). Esta proteína se encuentra presente en las células de microglia y, cuando se activan, la proporción de TSPO unidas a ligandos aumenta. Esta alteración específica ha sido hallada en pacientes con EH, lo cual indicaría que en estos pacientes sufren neuroinflamación (Cagnin *et al.*, 2006). Este aumento en los niveles de TSPO ha sido detectado también en estudios con modelos animales (Agustí *et al.*, 2014). Otras alteraciones, como la destrucción de neuronas en distintas capas del sistema nervioso central, o la infiltración de linfocitos desde fuera del SNC, han podido ser detectadas, no solo en pacientes con EH, sino en pacientes con una enfermedad hepática que todavía no ha progresado hasta una cirrosis, lo cual indicaría que el inicio del proceso neuroinflamatorio se da de forma extremadamente precoz (Balzano *et al.*, 2018; Cheon *et al.*, 2022).

En cuanto a la relación que guarda la neuroinflamación con los demás procesos implicados en el desarrollo de la EH, varios estudios con modelos animales han podido corroborar el papel, tanto de la hiperamonemia como de la inflamación periférica, en la aparición de esta. Rodrigo *et al.* (2010) observaron como la hiperamonemia, por si sola, era capaz de inducir la activación de las células de microglia y otras alteraciones relacionadas con la neuroinflamación en ratas, especialmente en su cerebelo. Entre estas alteraciones destacaba un aumento de los niveles de TNF- α en las células gliales y de Purkinje presentes en el cerebelo (Balzano *et al.*, 2020). Estas alteraciones, a su vez, favorecían el deterioro de las funciones cognitivas y motoras. En esta misma línea, Izquierdo-Altarejos *et al.* (2020) observaron el papel que las vesículas extracelulares (VEs) juegan en este mismo proceso. La cantidad y contenido proteico de las VEs presentes en la sangre se ve alterada en ratas con hiperamonemia, y la inyección de las mismas en animales sanos es suficiente para propiciar la aparición de neuroinflamación en estos últimos, con el consiguiente deterioro de sus funciones cognitivas y motoras. De entre las proteínas presentes en estas VE, la ya mencionada TNF- α presenta un papel especialmente relevante, indicando que el aumento de sus niveles no se da solamente a nivel local, sino que puede ser transmitido a otras células mediante estas VEs (Izquierdo-Altarejos *et al.*, 2022).

2.2.5. Alteraciones a la neurotransmisión

Todos los mecanismos ya descritos en este apartado, en última instancia, propician la alteración de la neurotransmisión en múltiples redes neuronales del SNC. Estas alteraciones de la neurotransmisión, a su vez, desencadenan las alteraciones neuropsiquiátricas y el deterioro de las funciones cognitivas y motoras que sufren los pacientes con EH o EHM. (Felipo, 2013; Llansola *et al.*, 2015).

A partir de los resultados obtenidos en estudios con modelos animales se han podido describir, de forma detallada, las alteraciones de la neurotransmisión presentes en condiciones de EH e hiperamonemia, especialmente en neuronas del cerebelo, donde se ven afectados los mecanismos implicados en la liberación y recaptación de GABA, glutamato y glicina (Hermenegildo *et al.*, 1998; Cauli *et al.*, 2009a; Cabrera-Pastor *et al.*, 2016; Hernández-Rabaza *et al.*, 2016a; Malaguarnera *et al.*, 2021). Alteraciones similares en los niveles de glutamato y en los receptores metabotrópicos del mismo se han podido observar también en regiones cerebrales como la *substantia nigra*, implicada en la ejecución motora, y el hipocampo, implicado en el aprendizaje (Cauli *et al.*, 2006; Hernández-Rabaza *et al.*, 2016b; Taoro-González L., 2018; García-García *et al.*, 2020).

Groiss *et al.* (2019) pudieron registrar, indirectamente, algunas de estas alteraciones de la neurotransmisión en humanos vivos gracias al uso de técnicas de electromiografía y estimulación magnética transcraneal. En este estudio se observó que las alteraciones de la neurotransmisión, tanto glutamatérgica como GABAérgica, sufridas por los pacientes con EH reducen la excitabilidad corticoespinal, y que se vuelven más severas según aumenta la severidad de la misma.

2.3. Diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima

Debido a la inespecificidad de las alteraciones presentes en los pacientes con EH, que pueden variar desde cambios de humor hasta desorientación o alteraciones motoras graves, en la actualidad no existe un criterio diagnóstico absoluto para este trastorno. Por lo general, el diagnóstico de la EH se basa en la observación a nivel clínico de alteraciones motoras, cognitivas o psiquiátricas asociadas con la misma (descritas en el apartado 2.1). No obstante, algunas de estas alteraciones pueden presentarse en otros

trastornos neuropsiquiátricos, así que el diagnóstico normalmente va acompañado de la presencia de otras alteraciones asociadas con la cirrosis y la EH, como hiperamonemia, hemorragias digestivas, infecciones bacterianas, o daño hepático (Poudyal *et al.*, 2019). Para determinar el nivel de severidad de la EH que sufre el paciente, este diagnóstico debe ir acompañado del uso del criterio de West-Haven (Tabla 2) (Conn *et al.*, 1977). Tomando el conjunto de criterios diagnósticos mencionados, se han podido desarrollar guías estandarizadas para la práctica clínica, como el algoritmo de gradación de la Sociedad italiana para el estudio del hígado, o la guía para la práctica clínica de la Asociación europea para el estudio del hígado (EASL) (Montagnese *et al.*, 2019; EASL, 2022).

En el caso específico de la EHM, aunque los pacientes presentan un deterioro de sus capacidades cognitivas y motoras, la sutileza de dicho deterioro no es detectable en un examen clínico rutinario. Debido a esta situación, es necesario el uso de test desarrollados específicamente para la detección de estas ligeras alteraciones de las capacidades cognitivas y motoras. En este sentido, son múltiples los acercamientos que se han planteado para la aplicación de dichos test, incluyendo test psicométricos de lápiz y papel o computerizados, métodos de análisis neurofisiológico, o incluso técnicas de neuroimagen. El método más conocido, y que se aplica de forma más generalizada, es la batería de test psicométricos de papel y lápiz *Psychometric hepatic encephalopathy score*, o batería PHES (Weissenborn *et al.*, 2001; Kircheis *et al.*, 2002; Guerit *et al.*, 2009; Bajaj *et al.*, 2013; Ridola *et al.*, 2020; Pisarek, 2021). Muchos de estos métodos, no obstante, presentan un coste de materiales y tiempo demasiado elevado, además de la necesidad de personal especializado, para su correcta aplicación; lo cual hace poco factible su uso en la práctica clínica diaria (Nardone *et al.*, 2016). Adicionalmente, un número considerable de estos test requieren del uso de tablas de normalidad ajustadas para la población de la región donde están siendo aplicados, lo cual no siempre es posible (Romero-Gómez *et al.*, 2007). En conjunto, esta situación provoca que, con frecuencia, la EHM permanezca ignorada e infradiagnosticada, cosa que hace que la población de pacientes con cirrosis sea vulnerable a una progresión de la misma hacia una EH de carácter clínico, con el consiguiente deterioro de su calidad de vida (Ridola *et al.*, 2018).

2.3.1. La batería PHES

Actualmente, la batería PHES es considerada como el *gold standard* en cuanto al diagnóstico de la EHM (Weissenborn *et al.*, 2001, Ferenci *et al.*, 2002), aunque test fisiológicos y psicométricos, como la frecuencia crítica de parpadeo o el test Stroop, disponible a través de la aplicación gratuita para móvil EncephalApp, también se aplican con bastante frecuencia (Kircheis *et al.*, 2002; Bajaj *et al.*, 2013; Campagna *et al.*, 2017; Kaps *et al.*, 2022; Demirciler *et al.*, 2023).

La batería PHES se compone de 5 test psicométricos. Tres de ellos evalúan la atención y velocidad de procesamiento del paciente, mientras que los otros dos evalúan su coordinación motora. Los resultados de estos cinco test son corregidos según la edad y nivel de formación académica del paciente, de acuerdo a las tablas de normalidad pertinentes para la región. Si la puntuación final del paciente es igual o inferior a -4 se considera que sufre EHM (Romero-Gómez *et al.*, 2006). Las características y procedimientos seguidos para la aplicación y evaluación de la batería PHES se detallan en mayor profundidad en la sección 3.1 de Materiales y Métodos.

Aunque la batería PHES se considere el estándar diagnóstico, recientemente han empezado a proliferar estudios en los que se observa que, a pesar de ser una de las mejores herramientas disponibles para diagnosticar la EHM, la eficacia de la batería PHES está lejos de ser ideal (Giménez-Garzó *et al.*, 2017). Según estos estudios, una proporción considerable de los pacientes que, siguiendo el criterio de la batería PHES, no presentan un deterioro en sus capacidades cognitivas y motoras, sí que manifestarían dicho deterioro según el criterio de otros test psicométricos que pueden aplicarse de forma complementaria a la batería PHES, como sería el caso del test Stroop (Butz *et al.*, 2010; Felipo *et al.*, 2012a). Así, aunque la batería PHES cumpla una importante función al presentar un patrón homogéneo para el diagnóstico de la EHM, actualmente es necesaria la complementación de esta prueba mediante el uso de otros test, cuya implementación no está uniformizada de igual manera, para cerciorarse de que ningún paciente con EHM permanece sin diagnosticar (Giménez-Garzó *et al.*, 2017). Esta situación hace necesario aumentar la inversión en tiempo, materiales y especialización del personal para afrontar de forma eficaz un trastorno ya de por sí infradiagnosticado en la práctica clínica.

2.4. Tratamiento de la encefalopatía hepática mínima

Debido al efecto pernicioso que tanto la EH como la EHM tienen sobre la calidad de vida de los pacientes con cirrosis, y sobre sus posibilidades de sobrevivir a largo plazo, existe un esfuerzo explícito en la comunidad científica por desarrollar tratamientos eficaces para paliar y revertir los efectos de este trastorno.

Son numerosos los estudios realizados en modelos animales en los que ha sido posible comprobar como la administración de medicamentos antiinflamatorios, tales como Ibuprofeno o Infliximab, es capaz de revertir los procesos neuroinflamatorios y, con ello, parte del deterioro cognitivo derivado de los mismos (Cauli *et al.*, 2007; Cauli *et al.*, 2009b; Rodrigo *et al.*, 2010; Dadsetan *et al.*, 2016). Otros tratamientos, enfocados a restaurar los niveles de GMPc en el SNC, también han resultado eficaces en estos modelos (Erceg *et al.*, 2005a; Erceg *et al.*, 2005b; Cabrera-Pastor *et al.*, 2018; Mohammadi *et al.*, 2020).

En la práctica clínica, el tratamiento de la EH y la EHM normalmente se centra en la reducción de los niveles de amonio en sangre. El tratamiento más utilizado para conseguir esto es la lactulosa, un disacárido no absorbible con efecto laxante que es capaz de dificultar la absorción del amonio presente en la dieta a través de la pared intestinal (Prasad *et al.*, 2007; Gluud *et al.*, 2016). Este tratamiento suele ir acompañado de otros hábitos encaminados a ayudar en la reducción de los niveles de amonio en sangre, como la reducción de la ingesta de proteínas en la dieta. El uso de la lactulosa, no obstante, no siempre es eficaz, y puede acarrear efectos secundarios poco deseables para el paciente (Bajaj *et al.*, 2010). Existen otros tratamientos con efectos similares, como el uso de L-ornitina y L-aspartato, que han empezado a ganar relevancia en años recientes (Bai *et al.*, 2013; Butterworth, 2021). Otro acercamiento que está demostrando ser eficaz es el uso de antibióticos no absorbibles, entre los que destaca la Rifaximina, y que basan su eficacia en el efecto que tienen sobre la microbiota intestinal del paciente.

2.4.1. La microbiota intestinal en la encefalopatía hepática

La microbiota intestinal describe al conjunto de especies bacterianas que habitan en el intestino humano. Son conocidas las funciones que la microbiota intestinal tiene en el metabolismo de ciertas sustancias y en la regulación del sistema inmunitario humano, pero desde hace años múltiples estudios han empezado a apuntar a la influencia que la microbiota intestinal tiene en otras funciones del organismo, y cómo ciertas patologías pueden alterar su composición y funciones, causando lo que se conoce como una disbiosis intestinal. La cirrosis sería un ejemplo de enfermedad capaz de propiciar esta disbiosis.

Una de las múltiples alteraciones que sufren los pacientes con cirrosis a causa de la disbiosis intestinal es la interrupción de la barrera intestinal. En un individuo sano, la barrera intestinal se encarga de evitar que metabolitos dañinos y organismos patógenos pasen del intestino al torrente sanguíneo, y la microbiota intestinal juega un papel crucial en el mantenimiento de su integridad. Debido a la interrupción de esta barrera, en pacientes con cirrosis se facilita la translocación de bacterias y metabolitos no deseados al torrente sanguíneo, que pueden contribuir a la aparición de endotoxemia y de la respuesta inflamatoria asociada con la misma, y que contribuyen, a su vez, al desarrollo de la EH y la EHM (Philips y Augustine, 2022). El desequilibrio en la respuesta inflamatoria y el aumento de la permeabilidad intestinal favorecen, también, el crecimiento de bacterias patógenas que, al pasar al torrente sanguíneo, pueden causar infecciones y promover el fallo orgánico que en ocasiones se observa en pacientes con cirrosis (Woodhouse *et al.*, 2018; Mendes y Schnabl, 2020) (Figura 5).

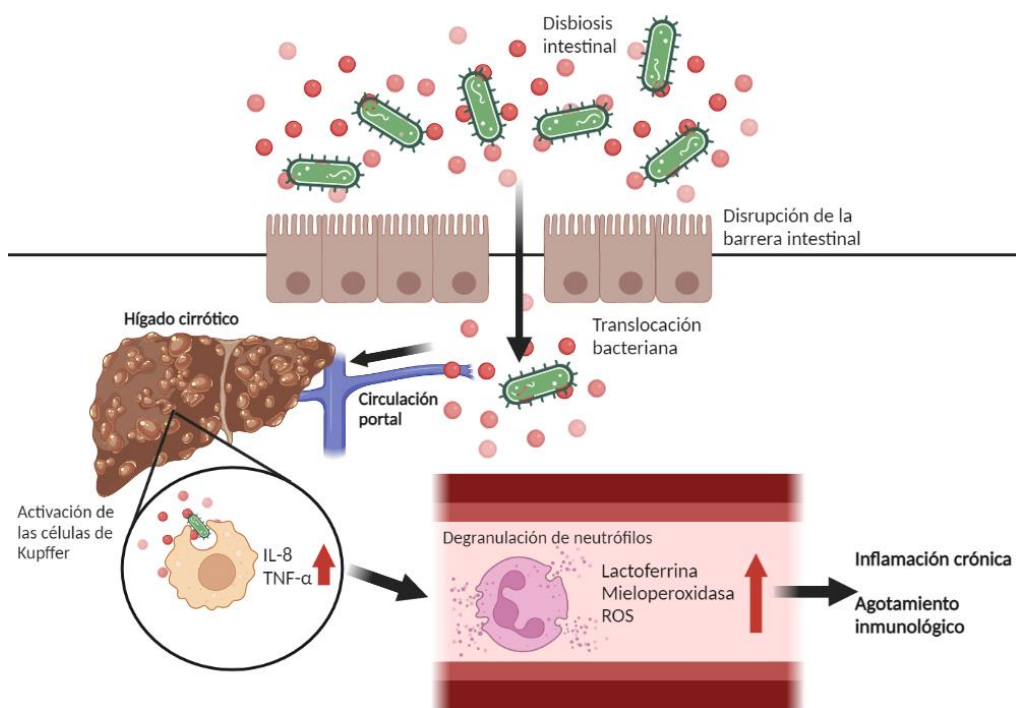


Figura 5. Diagrama resumen de los efectos de la cirrosis en la microbiota intestinal. En los pacientes con cirrosis, la disbiosis intestinal y el sobrecrecimiento de determinadas bacterias propicia la alteración de los mecanismos protectores que mantienen la integridad de la barrera intestinal. La interrupción de la barrera intestinal causa un aumento de la translocación de bacterias patógenas, y de las endotoxinas que generan. Estos cuerpos extraños llegan al hígado cirrótico a través de la circulación portal, donde entran en contacto con células del sistema inmunitario, como las células de Kupffer. Estas células liberan al torrente sanguíneo citocinas pro-inflamatorias, como Interleucina-8 (IL-8) y Factor de necrosis tumoral α (TNF- α). Estas citocinas, a su vez, promueven la degranulación de los neutrófilos circulantes, lo cual aumenta los niveles de lactoferrina, mieloperoxidasa y especies reactivas de oxígeno (ROS) presentes en el torrente sanguíneo, favoreciendo así una respuesta inflamatoria sistémica. Debido a la situación de disbiosis continuada que sufren los pacientes con cirrosis, esta respuesta inflamatoria se cronifica, lo cual es uno de los principales factores implicados en el desarrollo de la EH y la EHM. Figura modificada a partir de Woodhouse *et al.*, 2018 usando la herramienta Biorender (<https://www.biorender.com/>).

Entre las alteraciones observadas en la propia microbiota intestinal de los pacientes con cirrosis se observa una reducción en la diversidad del metagenoma, un aumento de la presencia de taxones relacionados con la producción de amonio, y una disminución de taxones relacionados con la producción de metabolitos beneficiosos para el organismo y la barrera intestinal (Collins y D’Orazio, 1993; Kang *et al.*, 2016; Arab *et al.*, 2018; Solé *et al.*, 2021). Se sabe que estas alteraciones pueden iniciarse en un estadio de enfermedad hepática previo a la cirrosis, y en numerosos casos se ha observado una asociación entre la presencia alterada de diversos taxones bacterianos específicos y la aparición o aumento de la severidad de distintas alteraciones presentes en la cirrosis, como serían la EH y EHM (Philips y Augustine, 2022).

El efecto de la microbiota intestinal, y sus alteraciones, sobre la aparición de la EH y EHM también se ha estudiado en modelos animales. Liu *et al.* (2020) observaron cómo, al colonizar el intestino de ratones carentes de microbiota intestinal usando heces de pacientes con EHM, estos ratones mostraban procesos neuroinflamatorios.

Otros estudios y ensayos clínicos, como Bajaj *et al.* (2018) y Bajaj *et al.* (2019), han podido corroborar que la adopción de una dieta saludable, con la dieta mediterránea, y el uso de trasplantes fecales, pueden ser un complemento eficaz para el tratamiento de la cirrosis y la EH. La capacidad de estas terapias para restaurar la diversidad de la microbiota intestinal y la integridad de la barrera intestinal es capaz de mejorar la esperanza de vida de los pacientes, y reduce los ingresos hospitalarios debido a complicaciones derivadas de la cirrosis.

Respecto al efecto de otros tratamientos habituales para la EHM, se ha observado como la lactulosa es capaz de impedir la absorción de amonio, no solamente por su propio efecto osmótico en el lumen intestinal, sino también inhibiendo el crecimiento de bacterias productoras de amonio y favoreciendo el crecimiento de otros taxones con un efecto protector para el organismo (Wang *et al.*, 2019). La diversidad y composición taxonómica de la microbiota intestinal, no obstante, parece no verse alterada de forma significativa durante este tratamiento (Gupta *et al.*, 2010). Esta discrepancia sugeriría que los cambios propiciados por la lactulosa se limitan a las funciones de la microbiota intestinal, y que su efecto sobre la composición de la misma es bastante limitado.

2.4.2. La rifaximina como tratamiento

La rifaximina es un antibiótico no reabsorbible de amplio espectro (Figura 6), derivado de la rifampicina, que actúa sobre la microbiota intestinal. La resistencia bacteriana a este antibiótico y sus efectos negativos sobre el organismo son mínimos, haciendo su administración segura para la población general (Scarpignato y Pelosini, 2005; Ojetto *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2022). Debido a la capacidad de la rifaximina para alterar la microbiota intestinal, inhibiendo el crecimiento de taxones bacterianos asociados con la producción de amonio, este antibiótico se ha convertido en un tratamiento usual frente a la EH y la EHM, con un nivel de eficacia comparable al de la lactulosa (Sidhu *et al.*, 2016). Tanto la Asociación Europea para el Estudio del Hígado (EASL), como su homóloga estadounidense (AASLD), reconocen la utilidad de la rifaximina en el tratamiento de la EHM. No obstante, aunque su uso en la práctica clínica cada vez sea más común, se ve limitado por su alto coste económico (Bajaj *et al.*, 2012).

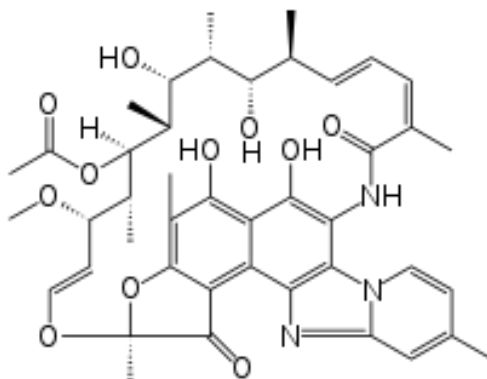


Figura 6. Fórmula esquelética de la rifaximina. La fórmula molecular de la rifaximina es $C_{43}H_{51}N_3O_{11}$.

En estudios con modelos animales se ha podido observar que el tratamiento con rifaximina es capaz de prevenir la inflamación y neuroinflamación. Balzano *et al.* (2021) observaron un menor grado de infiltración de células inmunitarias en el cerebelo de ratas a las que se les había causado un daño hepático si estas eran tratadas con rifaximina, además de un menor deterioro de sus funciones motoras. De forma similar, Leone *et al.* (2022) observaron un efecto similar en el hipocampo, con una reducción de la neuroinflamación y una mejora del aprendizaje espacial y la memoria en ratas tratadas con rifaximina.

A pesar de que todavía es necesario profundizar en el estudio de algunos de los mecanismos mediante los cuales la rifaximina actúa sobre el organismo, se ha observado su capacidad para reducir la hipertensión portal y otros síntomas relacionados con la cirrosis, además de su efecto inhibitorio sobre rutas relacionadas con la expresión de interleucinas pro-inflamatorias en el intestino (Vlachogiannakos *et al.*, 2009; Mencarelli *et al.*, 2011; Caraceni *et al.*, 2021; Tamai *et al.*, 2021). En los pacientes tratados también se ha observado una reducción, tanto de la endotoxemia como de la hiperamonemia, gracias a la recuperación de la barrera intestinal (Zeng *et al.*, 2015; Kaji *et al.*, 2020). La recuperación del correcto funcionamiento de la barrera y la microbiota intestinales, en última instancia, conducen a la recuperación de las capacidades cognitivas y la calidad de vida de los pacientes tratados con rifaximina tras apenas un mes de tratamiento. (Bajaj *et al.*, 2011; Sidhu *et al.*, 2011; Sidhu *et al.*, 2016; Patel *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2022).

El tratamiento con rifaximina, no obstante, y al igual que otros tratamientos usados frente a la EHM, no es eficaz en todos los casos. Aproximadamente un tercio de los pacientes tratados con rifaximina no muestran apenas respuesta al tratamiento a nivel cognitivo. Esta falta de respuesta se ha podido relacionar, a su vez, con una mejora mucho más limitada del perfil inflamatorio de los pacientes (Mangas-Losada *et al.*, 2019). Existen también indicios de que la falta de respuesta a la rifaximina puede deberse a la existencia de comorbilidades, tales como el síndrome metabólico, en los pacientes con EHM (Ballester *et al.*, 2022). Por otro lado, es importante destacar que, incluso en los pacientes que responden favorablemente al tratamiento, existe una alta probabilidad de que vuelvan a desarrollar EHM una vez dejan de tomar rifaximina (Goyal *et al.*, 2017).

3. Los movimientos oculares

El concepto de movimiento ocular hace referencia a todos los tipos de movimiento que realizan los ojos a través del sistema oculomotor. Estos movimientos están coordinados por seis músculos que rodean el globo ocular: recto superior, recto inferior, recto medial, recto lateral, oblicuo superior y oblicuo inferior. En el caso de los movimientos oculares voluntarios destacan dos tipos: movimientos sacádicos y de seguimiento (Purves *et al.*, 2001).

En los movimientos sacádicos, el foco de la mirada se desplaza abruptamente entre dos o más puntos dentro del campo visual, centrando la atención únicamente en estos puntos, y no en el espacio intermedio. Este tipo de movimiento se realiza cuando aparece un estímulo visual fijo o cuando se desea dirigir la mirada hacia un punto en específico, con la intención de dirigir la fóvea, la parte de la retina con una mayor resolución, hacia este punto de interés. Una característica importante de las sácadas es que, durante las mismas, el ojo se mueve a la mayor velocidad posible. Esta velocidad aumenta según lo hace la amplitud del movimiento sacádico a realizar, llegando a un máximo de 500°/s (Boghen *et al.*, 1974). En individuos sanos, el tiempo que transcurre desde la aparición de un estímulo visual hasta que el ojo empieza a realizar un movimiento sacádico, también conocido como latencia, es de aproximadamente 200 milisegundos. El siguiente enlace muestra un ejemplo de movimiento sacádico: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e9/This shows a recording of the eye movements of a participant looking freely at a picture.webm](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e9/This_shows_a_recording_of_the_eye_movements_of_a_participant_looking_freely_at_a_picture.webm)

Por otro lado, los movimientos de seguimiento son mucho más lentos. En este caso, la mirada se desplaza de forma estable a lo largo de un recorrido por el campo visual. Este tipo de movimiento se realiza principalmente cuando se desea seguir el recorrido de un estímulo en movimiento a lo largo del campo visual, aunque cuando el movimiento angular de este estímulo supera los 30°/segundo suele ser necesario realizar movimientos sacádicos para mantener el ritmo del mismo. En la mayoría de casos no es posible realizar movimientos de seguimiento en ausencia de un estímulo en movimiento. El siguiente enlace muestra un ejemplo de movimiento de seguimiento: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/transcoded/f/f7/Smooth_pursuit_eye_movements.webm/Smooth_pursuit_eye_movements.webm.480p.vp9.webm

A pesar de que el funcionamiento de los movimientos sacádicos y de seguimiento comparte un gran número de áreas cerebrales comunes, que se comentarán en mayor detalle en el apartado 3.1, durante mucho tiempo estos dos tipos de movimientos oculares se han analizado y estudiado como mecanismos independientes (Goettker y Gegenfurtner, 2021).

Además de los movimientos oculares descritos, que se suelen dar de forma voluntaria o como reflejo ante un estímulo sensorial, existen también otros movimientos oculares involuntarios, que se observan principalmente en momentos en que se está intentando mantener la mirada fija en un único punto del campo visual. Esto incluye los temblores oculares, las microsácadas, y las derivas oculares o *drifts*. En gente sana, estos movimientos involuntarios se dan durante periodos de fijación para reposicionar la mirada sobre el foco de atención. La principal diferencia entre los distintos tipos de movimientos involuntarios se encuentra en su amplitud, velocidad y frecuencia (Mahanama *et al.*, 2021).

3.1. Áreas cerebrales implicadas en el control de los movimientos oculares

Los movimientos oculares están sometidos a un minucioso control por parte de numerosas áreas corticales y subcorticales del encéfalo. Estas áreas, y la función que cumplen en la ejecución de los movimientos oculares, han podido ser identificadas a lo largo de los años mediante el uso de diversas técnicas y modelos animales, y gracias al estudio de las alteraciones presentes en pacientes con lesiones cerebrales específicas.

Una de las áreas más relevantes en los movimientos oculares es la corteza visual primaria, localizada en el lóbulo occipital. La corteza visual primaria es la primera área del cerebro que recibe y procesa la información visual que llega desde los ojos a través del tálamo, incluyendo información del movimiento de los objetos en el campo visual. La capacidad para percibir correctamente el movimiento de los objetos en el campo visual es especialmente importante para la correcta realización de los movimientos oculares de seguimiento, que se ven seriamente alterados cuando el área visual temporal media sufre algún daño (Newsome y Paré, 1988; Thurston *et al.*, 1988; Ilg, 2008).

El lóbulo frontal es también una de las zonas de la corteza cerebral con una mayor importancia para la ejecución de los movimientos oculares. En el lóbulo frontal se encuentran los campos oculares frontal y suplementario, además de la corteza prefrontal dorsolateral. El campo ocular frontal, localizado en la intersección entre los surcos precentral y superior frontal, está involucrado, principalmente, en la propia preparación y generación de los movimientos sacádicos voluntarios (Schall, 1995; Lowe *et al.*, 2022). Una parte del campo ocular frontal está involucrada, específicamente, en la realización de los movimientos oculares de seguimiento (Li y Lisberger, 2011). En el caso del campo ocular suplementario, localizado en la parte superior del surco paracentral, se ha observado que su labor se centra, principalmente, en el control y preparación de las sácadas y movimientos de seguimiento; lo cual es especialmente importante cuando hay que realizar múltiples movimientos oculares distintos en un orden determinado (Schall, 1995; Heide *et al.*, 1996). Por último, la corteza prefrontal dorsolateral, localizada en una posición más rostral y lateral que el campo ocular suplementario, participa sobre todo en la toma de decisiones a la hora de realizar o inhibir un movimiento sacádico (Levy y Goldman-Rakic, 2000; Pierrot-Deseilligny *et al.*, 2005). Otra área cortical cercana involucrada en la realización de los movimientos oculares es la corteza cingulada anterior, que parece estar también involucrada en el control de los movimientos sacádicos voluntarios a través de sus conexiones con el campo ocular suplementario y la corteza prefrontal dorsolateral (Koval *et al.*, 2014).

En el lóbulo parietal también se localizan varias áreas involucradas en el control de los movimientos oculares, aunque la función y localización de estas no es tan bien conocida ni está tan bien delimitada como en el caso del lóbulo frontal. Destaca el papel del campo ocular parietal, localizado en el surco intraparietal, en el control de las sácadas y la atención. La estimulación de esta área es capaz de cambiar el foco de atención visual, e incluso propiciar la realización de una sácada (Desmurget *et al.*, 2009; Mirpour *et al.*, 2010). Aunque las áreas del lóbulo frontal y parietal están estrechamente conectadas, esta área parece centrarse más en la realización de sácadas reflexivas, mientras que las sácadas voluntarias están controladas mayormente por las áreas del lóbulo frontal (Schall, 2013).

Además de la corteza cerebral, también se han hallado áreas subcorticales con una función relevante en los movimientos oculares. Este sería el caso del tálamo, que interviene mejorando la precisión de los movimientos sacádicos y la capacidad para cambiar el foco de atención entre distintos estímulos visuales (LaBerge y Buchsbaum,

1990; Gaymard et al., 1994). El núcleo caudado, la *substantia nigra pars reticulata* (SNpr) y el colículo superior también intervienen en el circuito de los movimientos oculares. El colículo superior está involucrado en la atención espacial y en la generación directa de los movimientos oculares (Gandhi y Katnani, 2011; Zahler et al., 2021), pero normalmente su actividad se encuentra inhibida por la función inhibitoria de la SNpr, que permite mantener la fijación ocular y minimizar la intrusión de movimientos oculares involuntarios (Matsumura et al., 1992). A su vez, el núcleo caudado actúa sobre la actividad de la SNpr, inhibiendo su actividad cuando es necesario llevar a cabo un movimiento ocular. Así, cuando el núcleo caudado recibe una señal de las regiones corticales relacionadas con los movimientos oculares, envía una señal a la SNpr para que esta detenga su actividad inhibitoria sobre el colículo superior, y sea posible redirigir la mirada (Hikosaka et al., 1989a; Hikosaka et al., 1989b).

Otra parte del encéfalo involucrada en la realización de los movimientos oculares es el cerebelo, pues los campos oculares corticales conectan directamente con diversas áreas del mismo. Algunas áreas del cerebelo, entre las que destaca el núcleo fastigio, intervienen en la corrección tridimensional de los movimientos oculares, la precisión de las sácadas, y la iniciación y mantenimiento de los movimientos de seguimiento (Sato y Noda, 1992; Robinson et al., 1993; Fuchs et al., 1994; Helmchen et al., 1994a).

3.2. Alteraciones de los movimientos oculares

Debido a la delicada interconectividad de las múltiples áreas del encéfalo necesaria para realizar correctamente los distintos tipos de movimientos oculares, la capacidad para realizar correctamente estos movimientos puede verse seriamente alterada en individuos que sufren algún tipo de alteración cognitiva o neuropsiquiátrica; y con frecuencia el tipo de alteración observada puede ser indicativo del área dañada.

Los movimientos oculares suelen verse alterados en las enfermedades de Parkinson y Alzheimer, donde se observa una capacidad reducida para realizar correctamente movimientos sacádicos en los que se intenta evitar un estímulo visual, también conocidos como antisácadas. Estas alteraciones pueden estar relacionadas con un deterioro de la función inhibitoria, la atención y la memoria de trabajo (Heuer et al., 2013; Molitor et al., 2015; Querfelli-Ethier et al., 2018). En el caso de la enfermedad de Parkinson se han observado también alteraciones en la velocidad a la que se pueden

realizar movimientos de seguimiento y movimientos sacádicos alternando entre derecha e izquierda, pudiendo estos últimos estar relacionados con un deterioro de los ganglios basales (Pinkhardt *et al.*, 2012). En otras enfermedades, como la esclerosis lateral amiotrófica, se observa también una capacidad disminuida para realizar antisácadas correctamente, y un aumento de la latencia de las mismas; además de una disminución de la velocidad durante los movimientos de seguimiento. Estas alteraciones parecen estar relacionadas con el deterioro del lóbulo frontal (Donaghy *et al.*, 2011).

Por otro lado, también es posible observar este tipo de alteraciones en enfermedades no neurodegenerativas, como es el caso de niños y niñas con epilepsia. En estos pacientes se ha podido observar como, según la edad en la que esta enfermedad se manifiesta, los pacientes pueden sufrir distintos tipos de alteraciones; con una disminución de la latencia en pacientes con manifestación temprana, y un deterioro de la función inhibitoria y la capacidad para realizar antisácadas correctamente en casos de manifestación más tardía (Lunn *et al.*, 2016).

Algunas de estas alteraciones, no obstante, se observan también en menor grado como parte del deterioro natural debido al envejecimiento, incluyendo una capacidad disminuida para realizar movimientos antisacádicos correctamente y un aumento de la latencia en la ejecución de los mismos. Al realizar, por lo general, el estudio de la mayoría de enfermedades neurodegenerativas sobre poblaciones envejecidas, existe la posibilidad de asociar erróneamente algunas de estas alteraciones debidas a la edad con los efectos de la enfermedad estudiada si no se realiza una correcta caracterización de las mismas (Crawford *et al.*, 2017; Querfelli-Ethier *et al.*, 2018).

3.2.1. Alteraciones de los movimientos oculares en la encefalopatía hepática

En el caso de la EH y la EHM, los estudios realizados sobre las alteraciones que estos pacientes sufren en sus movimientos oculares son por ahora escasos. A día de hoy se ha podido confirmar que los pacientes con EH necesitan realizar movimientos sacádicos compensatorios con mayor frecuencia cuando siguen la trayectoria de un objeto mediante movimientos de seguimiento, además de sufrir un aumento en la latencia de sus movimientos sacádicos, que ha sido observada también en pacientes con EHM (Montagnese *et al.*, 2005; Krismer *et al.*, 2010; Cunliffe *et al.*, 2015). Estas alteraciones, además, parecen acentuarse según se agrava el deterioro cognitivo de los pacientes,

pero parecen recuperarse también en consonancia tras un trasplante hepático, estableciendo una relación entre el deterioro cognitivo y de los movimientos oculares similar al observado en otras enfermedades (Krismer *et al.*, 2010; Cuniffe *et al.*, 2015).

Es importante, no obstante, destacar también que, en menor grado, parte de estas alteraciones pueden observarse en pacientes con cirrosis que no muestran signos de deterioro cognitivo al usar otros test psicométricos. Este hecho sugeriría la posibilidad de que las alteraciones en los movimientos oculares sean un marcador temprano de deterioro cognitivo en pacientes con cirrosis (Montagnese *et al.*, 2005).

4. La imagen por resonancia magnética

La adquisición de imágenes por resonancia magnética (RM) es una técnica no invasiva que, mediante el uso de campos magnéticos, hace posible la obtención de imágenes tridimensionales de la estructura, y en ocasiones funcionamiento, de determinadas partes del organismo. En la práctica clínica es frecuente el uso de esta técnica para la detección de alteraciones estructurales en los tejidos, como la presencia de tumores.

En el campo de la investigación médica destaca el uso de esta técnica para el análisis de neuroimagen. Gracias a su versatilidad, es posible usar la RM para el estudio de alteraciones y diferencias tanto en la estructura como en la función del cerebro, con un nivel de resolución bastante alto. En el caso de los estudios funcionales es posible observar tanto el estado basal de la conectividad cerebral como su evolución ante una situación o tarea determinada.

4.1. Funcionamiento de la resonancia magnética

Una de las propiedades mecanocúnticas de toda partícula subatómica es su espín, que representa el momento angular intrínseco de la misma. Debido al funcionamiento de esta propiedad, todo núcleo atómico compuesto por un número impar de hadrones (protones y neutrones) presenta un espín neto mayor a 0.

En condiciones normales, la orientación del espín de cada núcleo atómico es aleatoria, lo cual propicia que la carga magnética neta del material o tejido que componen sea 0. No obstante, cuando estos núcleos atómicos son sometidos a un fuerte campo magnético externo, la orientación de su espín se alinea longitudinalmente con la de dicho campo magnético, bien paralela o antiparalelamente, siendo el alineamiento paralelo el estado de menor energía, y el antiparalelo el de mayor energía. En esta situación, si se somete a los núcleos atómicos a pulsos de radiofrecuencia con la energía suficiente, estos pasan del estado de menor energía al de mayor energía en un proceso llamado excitación, y empiezan a precesar sobre su eje. Cuando se interrumpen dichos pulsos de radiofrecuencia, los núcleos atómicos regresan al estado de baja energía en un proceso de relajación, liberando un pulso energético en el proceso (Figura 7). Esta relajación puede ocurrir de forma longitudinal o transversal al campo magnético principal. En el caso de la relajación longitudinal, o T1, los núcleos atómicos recuperan su alineación paralela con el campo magnético principal tras finalizar el pulso de radiofrecuencia; mientras que, en el caso de la relajación transversal, o T2, los núcleos atómicos pierden su coherencia de fase con el campo magnético principal.

El pulso energético liberado por los núcleos atómicos durante el proceso de relajación, conocido como resonancia magnética nuclear, puede ser detectado por los sensores apropiados, para así obtener imágenes por RM. Estas imágenes están compuestas por vóxeles, la versión en tres dimensiones de los píxeles, y son la unidad básica de resolución de las imágenes de RM. Cuanto menor sea el tamaño de estos vóxeles mayor será el nivel de resolución y detalle de las imágenes, pero, por otro lado, estos serán más propensos a presentar altos niveles de ruido en su señal. Es usual usar vóxeles con dimensiones de entre 1 y 3 mm de lado.

Los dispositivos de RM usados en la práctica clínica y la investigación médica, en la gran mayoría de los casos, están diseñados para la detección de los núcleos de hidrógeno, que es el elemento más común del organismo. A partir del entorno molecular que rodea a estos núcleos de hidrógeno, y de su abundancia en los mismos, se obtiene el contraste en las imágenes de RM. Gracias a la versatilidad, tanto de la generación de los pulsos de radiofrecuencia como de los mecanismos de detección, es posible obtener imágenes capaces de representar procesos y propiedades muy distintos de los tejidos observados.

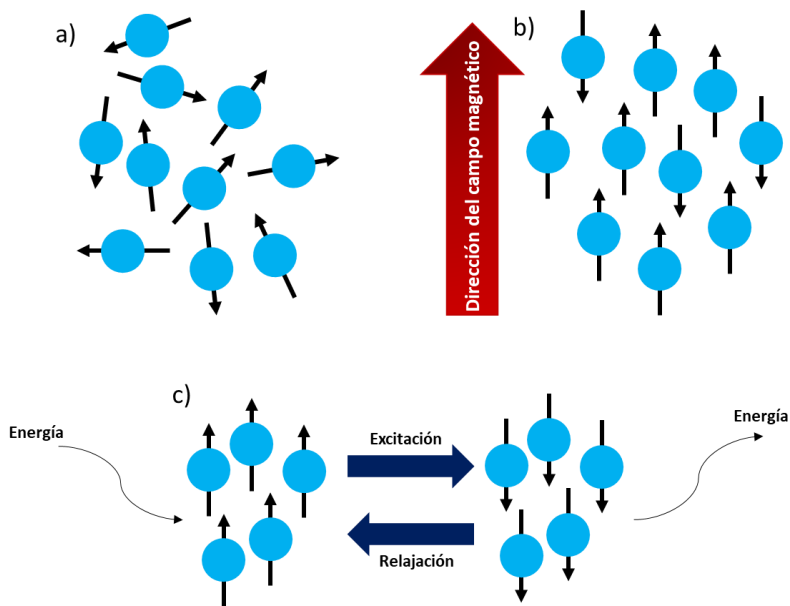


Figura 7. Diagrama resumen del proceso de resonancia magnética. a) En condiciones naturales, sin la presencia de un campo magnético, el espín de las moléculas de un material se distribuye aleatoriamente, resultando en la cancelación de su carga magnética. b) Al someter al material a un fuerte campo magnético externo, el espín de todas sus moléculas se orienta paralelamente (estado de menor energía) o antiparalelamente (estado de mayor energía) respecto de la dirección de dicho campo magnético, siendo mayoritaria la orientación paralela debido a que es el estado de menor energía. c) En las condiciones de magnetización mencionadas, si se proyecta la suficiente energía hacia las moléculas del material, como sería el caso de un pulso de radiofrecuencia, estas pueden saltar del estado de menor energía al de mayor energía en un proceso de excitación; para luego emitir esa energía al regresar a un estado de menor energía en un proceso de relajación. La energía emitida puede ser detectada y medida por los dispositivos apropiados.

4.1.1. Resonancia magnética estructural

El principal objetivo del uso de la resonancia magnética estructural en el campo de la neuroimagen es la obtención de una representación tridimensional de la estructura del encéfalo (Figura 8). Las imágenes de este tipo más usadas son las ponderadas en T1 y T2, capaces de aportar información muy distinta de los tejidos observados.

Las imágenes T1 son particularmente útiles para diferenciar la materia blanca y la materia gris, que pueden ser observadas con un color más claro y más oscuro, respectivamente. Este nivel de contraste hace a las imágenes T1 especialmente útiles

para realizar estudios volumétricos, tanto del tamaño del encéfalo en su conjunto o de alguna de sus regiones, como del grosor de la corteza cerebral.

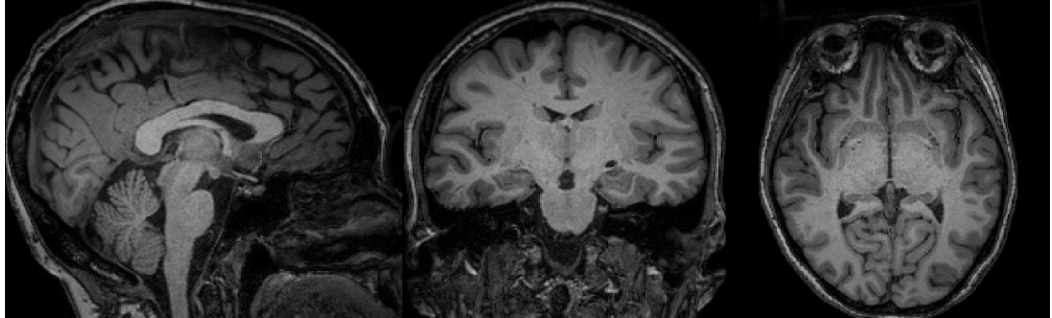


Figura 8. Imágenes de resonancia magnética estructural. De izquierda a derecha, vistas sagital, coronal y axial de una imagen de resonancia magnética estructural de la cabeza y encéfalo de un humano, con una resolución de 1x1x1 mm.

Por otro lado, las imágenes T2 son más apropiadas para distinguir fluidos, como el líquido cefalorraquídeo, que presenta un tono claramente más claro que el de la materia blanca y gris, que en estas imágenes se distinguen menos. Estas imágenes son especialmente útiles a la hora de determinar la presencia de lesiones y tumores en el encéfalo.

La RM por difusión incluye un tipo específico de imágenes de RM estructurales, muchas veces consideradas una categoría distinta, en el que se observan los patrones de difusión de determinadas moléculas, normalmente agua, dentro de un tejido u órgano. Este proceso es particularmente útil para observar la distribución de estructuras y patrones arquitectónicos dentro de los órganos, y cómo estos o la alteración de los mismos afectan al flujo de moléculas. En neuroimagen, las imágenes por tensor de difusión se usan para obtener mapas de los haces nerviosos que atraviesan la materia blanca, incluyendo tanto su orientación como su nivel de mielinización, empaquetamiento, densidad y grosor. Estas imágenes son conocidas también como mapas tractográficos.

4.1.2. Resonancia magnética funcional

El objetivo de las imágenes de RM funcional es observar cómo evoluciona la función neuronal a lo largo de un periodo de tiempo establecido (Figura 9). Para lograr esto, se toman imágenes del cerebro a intervalos regulares, normalmente no superiores a los 2 segundos, que resultan en una suerte de secuencia cinemática del cerebro. A partir de esta cinemática es posible observar cómo cambia la actividad cerebral a lo largo del tiempo, siendo el intervalo entre imágenes, también conocido como tiempo de repetición (TR), el que determina el nivel de resolución de estas observaciones en la escala temporal (Huettel *et al.*, 2014). El siguiente enlace muestra un ejemplo de una de estas secuencias cinemáticas, que condensa 15 minutos en 30 segundos, y en la que se pueden observar sutiles cambios de intensidad en determinados puntos del encéfalo: <https://www.youtube.com/watch?v=UDALIZzx3bg>

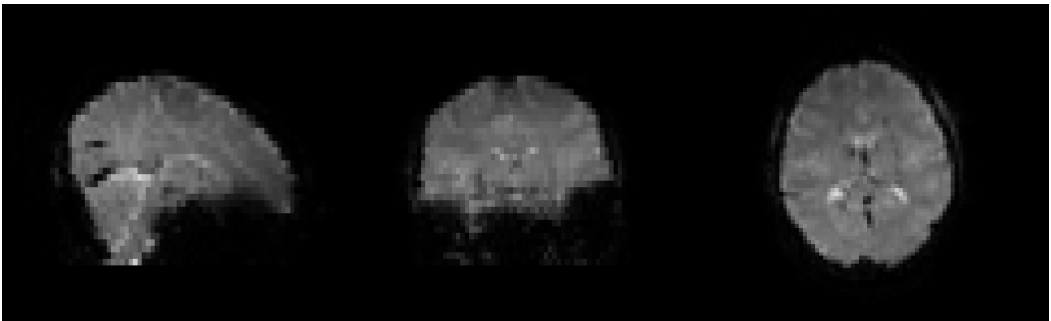


Figura 9. Imágenes de resonancia magnética funcional. De izquierda a derecha, vistas sagital, coronal y axial de una imagen de resonancia magnética funcional de la cabeza y encéfalo de un humano, con una resolución de 3x3x3 mm.

Para medir la actividad neuronal en el cerebro se recurre al contraste dependiente del nivel de oxígeno en sangre, también conocido como contraste BOLD (*Blood oxygenation level dependent contrast*). El contraste BOLD es una medida de la proporción de los niveles de hemoglobina oxigenada (Hb) respecto de los niveles de hemoglobina desoxigenada (dHb) presentes en una determinada zona (Ogawa *et al.*, 1990).

Cuando una región cerebral se activa y debe llevar a cabo la transmisión de un impulso nervioso, esto genera un aumento en la demanda energética de dicha zona. Para suplir

esta demanda, se oxida glucosa en la mitocondria. Este proceso requiere un aporte de oxígeno, que es proporcionado por difusión desde los capilares por la Hb presente en los eritrocitos de la sangre. Esta demanda de oxígeno propicia, a su vez, la activación de una respuesta vascular compensatoria, conocida como respuesta hemodinámica, por la cual aumenta el nivel de Hb en la zona en comparación con el de dHb, alterando la proporción entre ambas.

Esta proporción entre los niveles de Hb y dHb en la sangre es especialmente importante de cara a la obtención de imágenes de RM funcional, ya que la hemoglobina presenta diferencias en su comportamiento magnético dependiendo de si está oxigenada o no. Mientras que la Hb tiene un comportamiento diamagnético (todos sus electrones están emparejados, y su momento magnético es 0), la dHb tiene un comportamiento paramagnético (presenta electrones no emparejados, y su momento magnético es distinto a 0). Esta diferencia en su comportamiento magnético propicia que, en la presencia de dHb, los núcleos de hidrógeno medidos en RM vean alterada su precesión y, por tanto, la señal obtenida disminuya ligeramente (Figura 10).

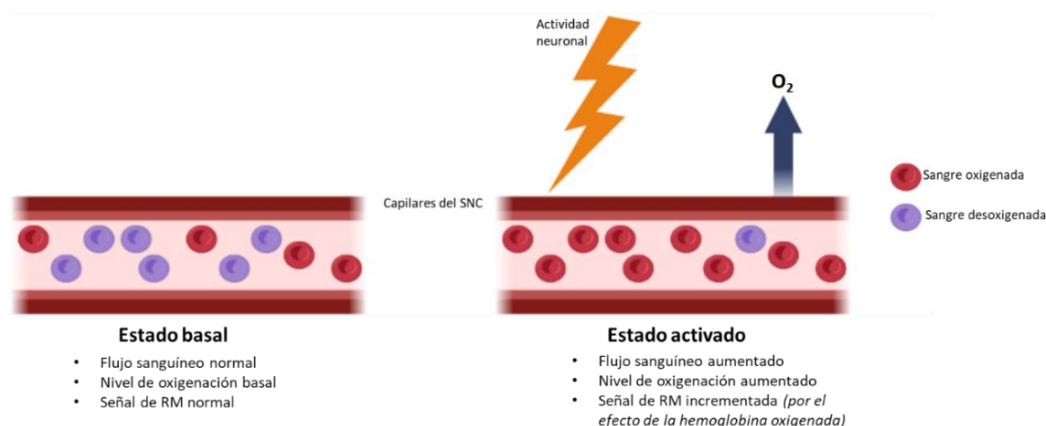


Figura 10. Diagrama resumen de la respuesta hemodinámica y su efecto sobre el contraste BOLD. Cuando se da actividad neuronal en una región cerebral el requerimiento metabólico de dichas neuronas aumenta. Este aumento de la demanda debe ser suplido por los vasos sanguíneos colindantes con un mayor aporte de oxígeno, lo cual propicia una respuesta hemodinámica, que aumenta el flujo sanguíneo en la zona y el nivel de oxigenación de la sangre que por allí pasa. Debido a la diferencia en el comportamiento de la hemoglobina según si está oxigenada o no, la señal obtenida en las imágenes de resonancia magnética funcional se ve alterada, aportando información de que áreas cerebrales están activadas. Figura elaborada usando la herramienta Biorender (<https://www.biorender.com/>).

Es importante, no obstante, tener en cuenta que la respuesta hemodinámica presenta una evolución mucho más lenta que la actividad neuronal, que cambia cada pocos milisegundos. En el caso de la respuesta hemodinámica, se observa un ligero descenso inicial de la señal de RM durante 1-2 segundos, debido al aumento de la demanda de oxígeno, y el aumento de los niveles de dHb que conlleva; seguido por un considerable aumento de la señal durante los 3-4 segundos posteriores, causado en esta ocasión por el aporte de Hb compensatorio que propicia dicha respuesta. Así, al obtener imágenes de RM funcional, se está observando una medida indirecta de la actividad neuronal a través del consumo energético que esta propicia.

Resumidamente, cuando una región cerebral se activa, la respuesta hemodinámica provoca un aumento de los niveles de Hb en la zona y, en consecuencia, un aumento de la señal de RM. Son estos cambios en la señal de RM propiciados por el nivel de oxigenación de la sangre los que se observan a lo largo de la secuencia de imágenes obtenidas en los estudios de RM funcional.

Existen dos paradigmas principales en los estudios de RM funcional, siendo el primero la imagen de RM funcional con tareas (*task-fMRI*), y el segundo la imagen de RM funcional en estado de reposo (*rs-fMRI*).

En la *task-fMRI*, durante el periodo de adquisición de imágenes se expone al sujeto a algún tipo de estímulo o tarea que debe cumplir, para posteriormente observar que regiones cerebrales se activan en cada momento de dicho procedimiento, y así relacionarlas con la función cognitiva implicada en la respuesta que se está observando en el sujeto.

En la *rs-fMRI* se pide al sujeto que permanezca en estado de reposo, con los ojos cerrados, y sin pensar en nada en particular. En este caso se pretende observar los patrones de actividad neuronal espontáneos, y la coordinación de los mismos en distintas regiones del cerebro. Estas regiones con patrones de actividad similares se encuentran funcionalmente interconectadas, y forman lo que se denominan redes neuronales. El análisis de las diferencias en estas redes neuronales entre distintos grupos de sujetos es el principal objetivo de la mayoría de estudios de *rs-fMRI* (Biswal *et al.*, 1995; Rosazza y Minati, 2011).

Aunque las dos modalidades de RM funcional tienen usos y objetivos distintos, hay que tener en cuenta que los estudios de *task-fMRI* requieren de la colaboración activa del sujeto, lo cual puede verse gravemente dificultado en estudios con sujetos que sufren de algún tipo de deterioro cognitivo. Los estudios de *rs-fMRI*, por otro lado, no suelen presentar este impedimento (Fox y Greicius, 2010).

4.2. La resonancia magnética en el estudio de la encefalopatía hepática

Existen numerosos precedentes del estudio de los efectos de la cirrosis, la EH y la EHM sobre el cerebro, tanto a nivel estructural como funcional, en los que se ha recurrido al uso de la RM.

4.2.1. Estudios estructurales

A nivel estructural existen estudios en los que se han podido observar alteraciones en la señal del globo pálido y la *substantia nigra* de pacientes con cirrosis (Pujol *et al.*, 1993). Estas alteraciones, además, parecen revertirse cuando mejora la función hepática (Krieger *et al.*, 1997; Naegele *et al.*, 2000). Estas lesiones, aparentemente, se deben a una acumulación de manganeso, derivada de la disfunción hepatocelular, en los ganglios basales (Rose *et al.*, 1999); que son particularmente sensibles a la acumulación del manganeso debido al papel que este juega en su metabolismo (Stallings *et al.*, 1991). Estas lesiones, no obstante, no parecen estar relacionadas con el desarrollo de EH (Naegele *et al.*, 2000; Córdoba *et al.*, 2001).

En este sentido, se observan alteraciones similares de la señal en la sustancia blanca que rodea el tracto corticoespinal, que concuerdan con lesiones aisladas presentes en la zona. Estas lesiones también disminuyen tras un trasplante hepático o tras la mejora de los síntomas relacionados con la EH (Figura 11) (Rovira *et al.*, 2002; Mínguez *et al.*, 2007; Rovira *et al.*, 2007).

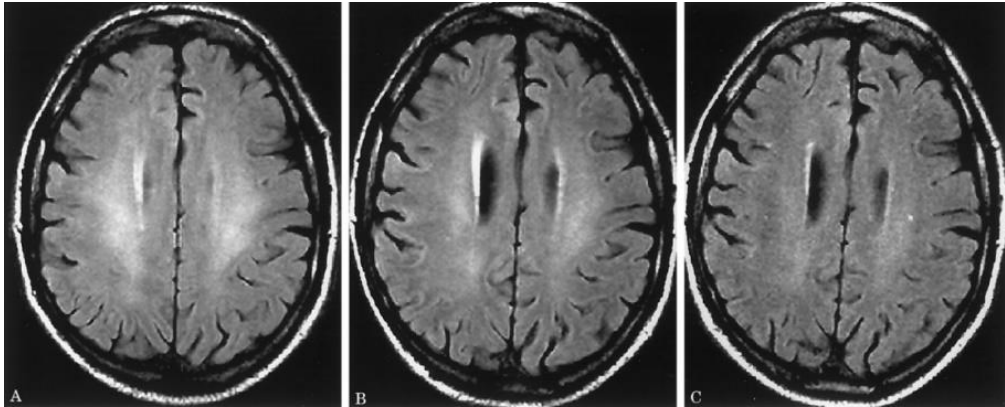


Figura 11. Efectos de un trasplante hepático en la sustancia blanca del cerebro de un paciente con cirrosis. Vista axial de secuencias fast-FLAIR ponderadas en T2 al nivel del centro semioval en un paciente con cirrosis antes de recibir un trasplante hepático (A), un mes después del trasplante (B), y un año después del trasplante (C). Se observa una disminución de la intensidad de la señal en la sustancia blanca a lo largo del tiempo. Figura extraída de Rovira *et al.*, 2002.

En estudios tractográficos se han observado alteraciones en los niveles de difusión del agua en el tejido cerebral en pacientes con EH y EHM, lo cual indica una alteración microestructural de la sustancia blanca directamente relacionada con el deterioro cognitivo de los pacientes (Figura 12) (Miese *et al.*, 2006; Montoliu *et al.*, 2014). La hiperamonemia parece jugar un papel importante en la gravedad de estas alteraciones microestructurales, pues se ven acentuadas tras inducir hiperamonemia en los pacientes mediante la ingestión de aminoácidos (Mardini *et al.*, 2011).

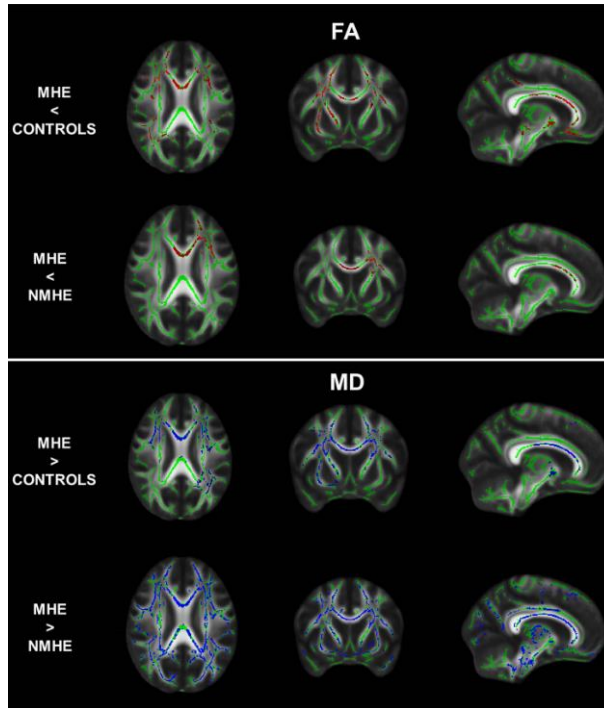


Figura 12. Alteraciones de la anisotropía fraccional y la difusión media en pacientes con cirrosis y con EHM. Imágenes de tractografía mostrando las diferencias en la anisotropía fraccional (FA) y difusión media (MD) en pacientes con EHM (MHE) y pacientes con cirrosis, pero sin EHM (NMHE), o Controles. Se observa una disminución significativa de la FA, representado en rojo, y un aumento de la MD, representado en azul, en los pacientes EHM en comparación con los otros grupos de sujetos. Imagen extraída de Montoliu *et al.*, 2014.

Por otro lado, a nivel volumétrico se ha observado una disminución de la densidad, tanto de la sustancia blanca como de la gris, en los pacientes con cirrosis, especialmente en aquellos con EH cuya cirrosis se debe al consumo de alcohol. Esta alteración está también relacionada con los resultados psicométricos de los pacientes (García-García *et al.*, 2017), pero, al contrario que otras lesiones ya comentadas, no parece desaparecer tras la realización de un trasplante hepático (Guevara *et al.*, 2011). De forma más localizada, se ha observado una disminución similar del espesor de la corteza, tanto en el *precuneus* como en la corteza temporal; siendo esta alteración bastante más marcada en pacientes con EHM que en pacientes con cirrosis, pero sin deterioro cognitivo, o en sujetos sanos (Figura 13) (Montoliu *et al.*, 2012). Un deterioro similar ha sido observado también en la sustancia gris del tálamo de pacientes con cirrosis causada por el virus de

la hepatitis B; llegando al punto de sugerirse el uso de este deterioro como biomarcador del progreso de la enfermedad (Lin *et al.*, 2022).

Otro tipo de técnicas centradas en el análisis estructural del encéfalo se están desarrollando actualmente, resultando en estudios como el de Chaganti *et al.* (2023), en el que se ha podido observar, mediante el uso de contraste, un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica.

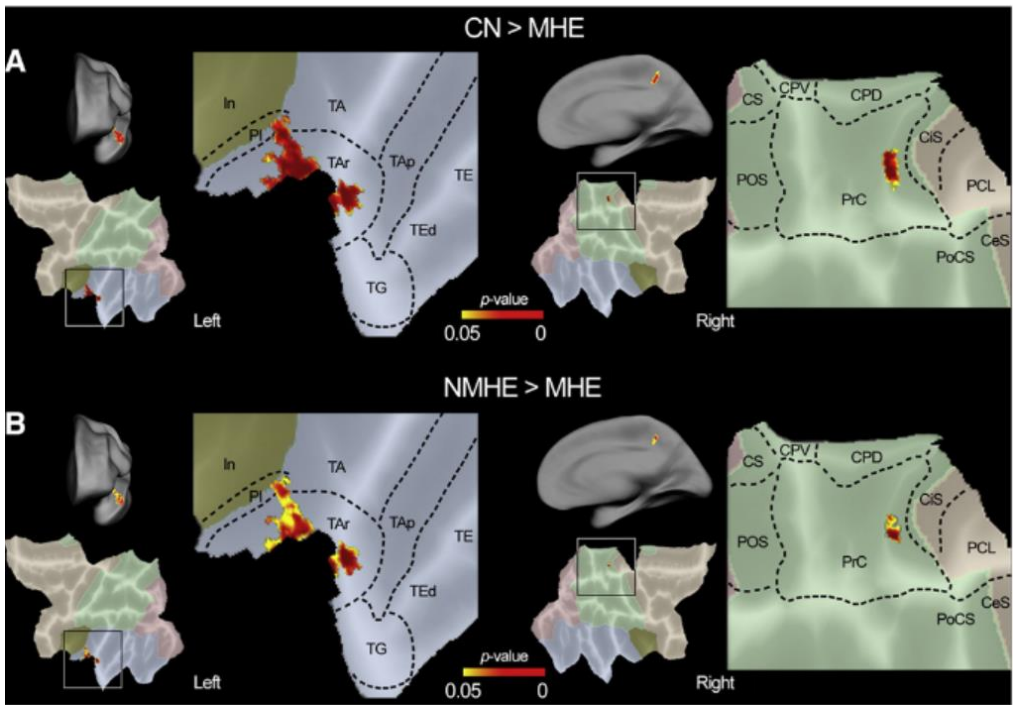


Figura 13. Alteraciones del grosor de la materia gris en pacientes con EHM. Detalle de la corteza temporal (izquierda) y la corteza parietal superior (derecha). Se observa una disminución significativa del grosor cortical en pacientes con EHM respecto de Controles (A) y pacientes con cirrosis, pero sin EHM (B). En ambos casos, la disminución del grosor se localiza en las regiones TAr izquierda y PrC derecha, marcadas como áreas sombreadas. TA: primary auditory cortex; TAr: rostral TA; TAp: polysensory cortex; TG: temporopolar area; TE: temporal area; TEd: dorsal TE; PI: parainsular cortex; In: Insula. Abbreviations for the superior parietal cortex: PrC: Precuneus; CPD: cingulate post-dorsal; CPV: cingulate post-ventral; CS: calcarine sulcus; POS: parieto-occipital sulcus; CiS: pars marginalis of the cingulate sulcus; PCL: Paracentral lobule; CeS: Central sulcus; PoCS: Postcentral sulcus. Imagen extraída de Montoliu *et al.*, 2012.

4.2.2. Estudios funcionales

En cuanto a estudios funcionales, destacan especialmente los casos en los que se ha recurrido a *rs-fMRI*. En pacientes con EH y EHM se ha observado un descenso de la conectividad funcional de la red neuronal por defecto. En algunas regiones alteradas esta menor conectividad se ha relacionado con un aumento de los niveles de amonio y una peor ejecución de test psicométricos como la batería PHES (Figura 14) (Zhang *et al.*, 2012a; Qi *et al.*, 2014; García-García *et al.*, 2017). Esta conectividad disminuida se acentúa en pacientes con EHM respecto de aquellos con cirrosis, pero sin EHM. Los pacientes sin EHM, a su vez, presentan una conectividad de la red neuronal por defecto disminuida en comparación con sujetos sanos. Este descenso de la conectividad es mucho más pronunciado en pacientes que han sufrido episodios de EH clínica, y puede estar presente incluso después de que los pacientes hayan recuperado sus funciones cognitivas (Chen *et al.*, 2012a; Chen *et al.*, 2013).

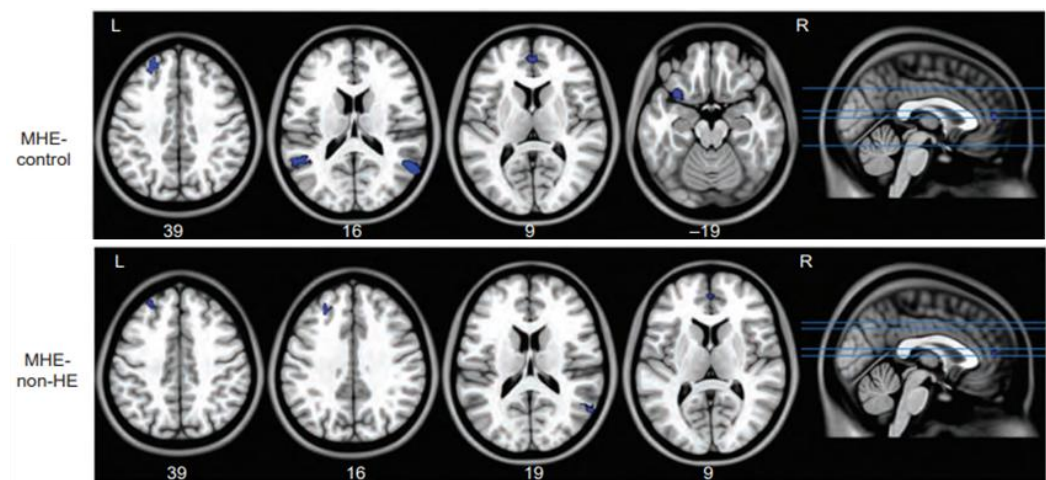


Figura 14. Alteraciones de la conectividad funcional de la red neuronal por defecto en pacientes con EHM. Vista axial, en distintas coordenadas, de las áreas de la corteza cerebral en las que los pacientes con EHM muestran una menor conectividad funcional de la red neuronal por defecto, marcadas en azul, en comparación con Controles sanos (arriba) o pacientes con cirrosis, pero sin EHM (abajo). Imagen extraída y modificada de Qi *et al.*, 2014.

También se observa una reducción de la conectividad en otras redes neuronales asociadas con la atención y las funciones ejecutivas, como son las redes de atención, frontoparietal y de saliencia (García-García *et al.*, 2017). En el caso de las redes de atención se ha llegado al punto de hacer posible la clasificación de los pacientes como EHM o no EHM únicamente a partir del estado en que se encuentra la conectividad de determinadas regiones de interés de estas redes (Figura 15) (Chen *et al.*, 2014). De forma similar, se ha observado una disminución de la conectividad en las redes visual y auditiva. Este deterioro de la conectividad, no obstante, no es absoluto en las redes neuronales afectadas, pues se observan regiones concretas donde la EHM causa una hiperconectividad. Estas regiones muestran una relación funcional con redes neuronales en las que otros estudios ya mencionados han mostrado una disminución de la conectividad, como la red neuronal por defecto o las redes de atención. Entre estas áreas se incluyen el *precuneus*, el giro occipital inferior y el giro temporal superior (Qi *et al.*, 2012).

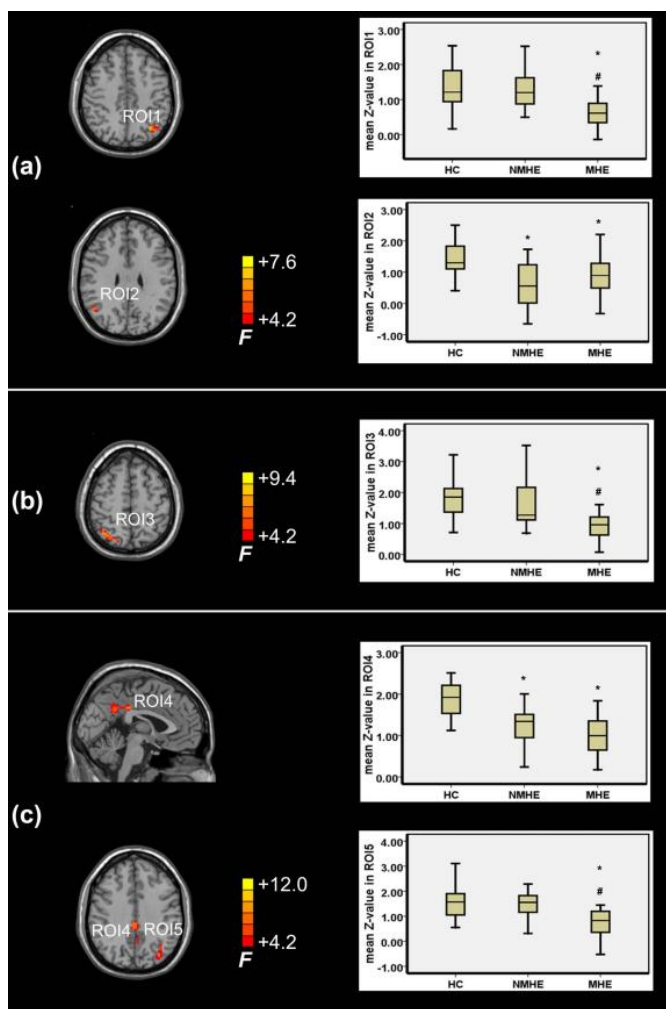


Figura 15. Alteraciones de la conectividad funcional de las redes de atención dorsal y ventral, y la red neuronal por defecto, en pacientes con EHM. Regiones cerebrales en las que se observan diferencias significativas entre la conectividad funcional de controles sanos (HC), pacientes con cirrosis sin EHM (NMHE), y pacientes con EHM (MHE). Las diferencias en los niveles de conectividad se han observado para la red de atención dorsal (a), la red de atención ventral (b), y la red neuronal por defecto (c). (*) indica una diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto de los controles sanos. (#) indica una diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto de los pacientes NMHE. Imagen extraída de Chen *et al.*, 2014.

Otras regiones cerebrales en las que se han observado alteraciones de la conectividad funcional en pacientes con EH incluyen la corteza cingulada anterior y los circuitos que unen los ganglios basales con el tálamo y las áreas corticales. Se ha podido observar una relación de estas alteraciones con la severidad de la EH, y con el estado de algunas funciones cognitivas, como la atención, a través de la batería PHES (Figura 16) (Zhang *et al.*, 2012b; Zhang *et al.*, 2013). De forma similar, se ha observado una relación entre el deterioro de la capacidad de aprendizaje y la memoria en pacientes con EHM, y el deterioro, tanto estructural como funcional, del hipocampo de estos pacientes (García-García *et al.*, 2018). En cuanto a la conectividad del tálamo con la corteza, se ha observado una hiperconectividad en pacientes con EH, y una recuperación del correcto

funcionamiento de estos circuitos después de que estos pacientes sean sometidos a un trasplante hepático (Cheng *et al.*, 2021).

En otros estudios se ha analizado el nivel de sincronización a nivel local en los vóxeles de ciertas regiones cerebrales. En estos casos, en los pacientes con EHM se observa un menor nivel de homogeneidad en el cunio, *precuneus* y lóbulo parietal inferior izquierdo. Por otro lado, la homogeneidad aumenta en el cerebelo y el giro parahipocampal izquierdo. Nuevamente, algunas de estas alteraciones se han podido relacionar con el estado de las funciones cognitivas a través de la batería PHES (Chen *et al.*, 2012b) (Figura 17). Algunas de estas alteraciones en los niveles de homogeneidad local, no obstante, se observan también en pacientes con cirrosis que no muestran signos de deterioro cognitivo, lo cual indica una aparición precoz de las mismas (Ni *et al.*, 2012). Usando estas alteraciones de la homogeneidad, y mediante técnicas de clasificación basadas en inteligencia artificial, Chen *et al.* (2016a) fueron capaces de clasificar a los pacientes con y sin EHM con un alto nivel de sensibilidad y especificidad.

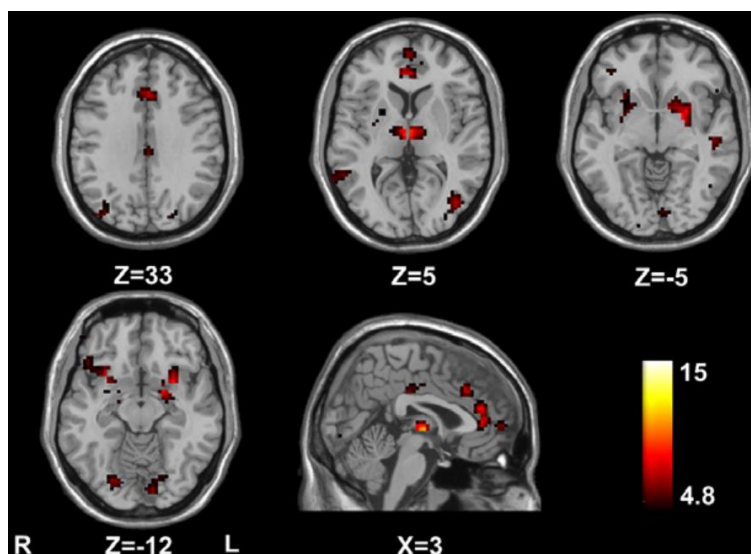


Figura 16. Alteraciones de la conectividad funcional de la corteza cingulada en pacientes con EHM. Regiones cerebrales en las que se observan diferencias significativas en la conectividad funcional de la corteza cingulada anterior entre sujetos sanos, pacientes con cirrosis sin EHM, y pacientes con EHM. Imagen extraída de Zhang *et al.*, 2013.

Siguiendo con el estudio de las alteraciones de la homogeneidad local, *Lin et al.* (2015) detectaron, en pacientes que habían sufrido un episodio de EH clínica, diferencias significativas en regiones de la corteza asociadas con la red neuronal por defecto. Este tipo de diferencias se observan también en pacientes que han sobrevivido a un episodio de EH y aquellos que han fallecido a causa de ello, estando estas diferencias presentes en el lóbulo temporal superior derecho y el cerebelo izquierdo. Las alteraciones presentes en el cerebelo, de hecho, se pudieron relacionar con alteraciones en el nivel de consciencia.

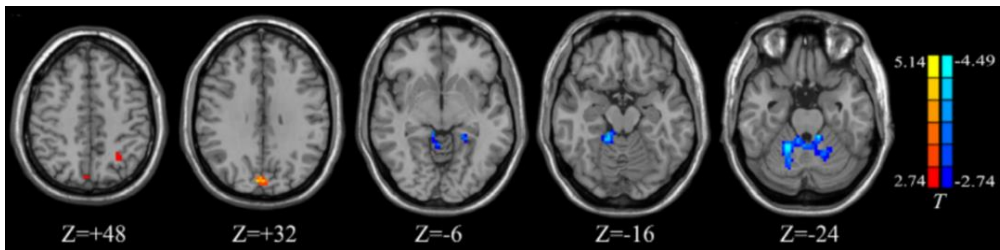


Figura 17. Alteraciones de la homogeneidad funcional en pacientes con EHM. Regiones cerebrales en las que se observa una disminución (amarillo) o incremento (azul) significativos de la homogeneidad en pacientes con EHM respecto de sujetos sanos. Imagen extraída de *Chen et al.*, 2012b.

II. Hipótesis

A partir del contexto presentado, en esta tesis se plantean una serie de hipótesis sobre los efectos de la encefalopatía hepática mínima, y su tratamiento mediante el uso de rifaximina.

En primer lugar, en cuanto al estudio de los movimientos oculares, se hipotetiza que:

1. La encefalopatía hepática mínima altera la ejecución de los movimientos oculares. Estas alteraciones son más profundas y afectan a más parámetros de los que han sido analizados en estudios previos que relacionan la encefalopatía hepática mínima y los movimientos oculares.
2. La gravedad de las alteraciones de los movimientos oculares que sufren los pacientes con cirrosis está relacionada con el estado cognitivo de los mismos, y la evaluación de los movimientos oculares puede aportar un valor diagnóstico capaz de complementar a los test psicométricos usados actualmente para diagnosticar la encefalopatía hepática mínima.

En segundo lugar, en cuanto al estudio de los efectos de la rifaximina sobre la estructura y la función neuronal, se hipotetiza que:

3. Los efectos de la rifaximina sobre las capacidades cognitivas de los pacientes con encefalopatía hepática mínima se pueden ver reflejados en una recuperación estructural y/o funcional de su cerebro. Mediante resonancia magnética sería posible detectar en qué áreas del sistema nervioso central actúa el tratamiento.
4. Existen diferencias estructurales y/o funcionales preexistentes entre pacientes que muestran una respuesta positiva al tratamiento con rifaximina, y aquellos que no muestran una respuesta apreciable. Esto apuntaría a la existencia de indicadores a nivel cerebral relacionados con un mejor o peor pronóstico en cuanto al tratamiento con rifaximina.
5. Existe una relación entre los cambios propiciados por la rifaximina en el cerebro de los pacientes, y sus niveles de amonio y su estado inflamatorio. Esto indicaría la existencia de una relación directa entre los efectos de la rifaximina sobre el metabolismo y sistema inmunitario de los pacientes, y la repercusión de estos cambios sobre las observaciones realizadas en el cerebro mediante resonancia magnética.
6. Existe una relación entre cambios concretos propiciados por la rifaximina en el cerebro de los pacientes y la mejora de sus funciones motoras y cognitivas, indicando esto una relación explícita entre el estado de áreas cerebrales específicas y el desempeño de determinadas funciones por parte del paciente.

III. Objetivos

A partir del conjunto de hipótesis presentadas, esta tesis incluye dos objetivos principales.

En primer lugar, esta tesis tiene como objetivo el estudio de las alteraciones causadas por la encefalopatía hepática mínima en los movimientos oculares, y el posible valor diagnóstico derivado del estudio de las mismas. Para alcanzar este objetivo se abordarán los siguientes objetivos concretos:

1. Realizar un estudio extenso de múltiples parámetros de los distintos tipos de movimientos oculares en pacientes con cirrosis y encefalopatía hepática mínima, y las alteraciones que estos presentan.
2. Estudiar la relación entre las alteraciones de los movimientos oculares sufridas por los pacientes con encefalopatía hepática mínima, y la hiperamonemia, estado inflamatorio y alteraciones cognitivas que presenten.
3. Determinar si el análisis de los movimientos oculares es capaz de discernir de forma eficaz entre pacientes con y sin encefalopatía hepática mínima, complementando así el uso de otros test psicométricos.

En segundo lugar, esta tesis tiene como objetivo el estudio de los efectos de la rifaximina en la estructura y función cerebral, medidas por resonancia magnética, de los pacientes con EHM tratados con dicho antibiótico, y las diferencias entre aquellos que responden al tratamiento y aquellos que no. Para alcanzar este objetivo se abordarán los siguientes objetivos concretos:

1. Analizar el efecto del tratamiento con rifaximina sobre la estructura, la conectividad funcional intrínseca de las redes neuronales, y sobre la conectividad funcional entre distintas redes neuronales, mediante el uso de resonancia magnética estructural y funcional. Esto incluye el análisis, tanto del efecto general de la rifaximina, como de las diferencias en la evolución de los pacientes que responden positivamente a la rifaximina respecto de aquellos que no responden.
2. Analizar las diferencias preexistentes en la estructura, la conectividad funcional intrínseca de las redes neuronales, y en la conectividad funcional entre distintas redes neuronales, entre los pacientes que responden positivamente a la rifaximina y aquellos que no responden, mediante el uso de resonancia magnética estructural y funcional.

3. Estudiar si los cambios observados tras el tratamiento con rifaximina revierten las alteraciones observadas en la estructura y la conectividad funcional de los pacientes con EHM observadas en estudios previos.
4. Relacionar cambios específicos propiciados por la rifaximina en la estructura y la conectividad neuronal con la evolución de la hiperamonemia, el estado inflamatorio y las capacidades cognitivas de los pacientes tratados.

IV. Materiales y métodos

1. Pacientes del estudio

Para llevar a cabo los estudios de esta tesis se reclutó a un total de 124 pacientes con cirrosis hepática en los Servicios de Medicina Digestiva del Hospital Clínico y el Hospital Arnau de Vilanova, de València. El diagnóstico de cirrosis hepática de estos pacientes fue realizado por parte de los facultativos de estos mismos servicios mediante una combinación de datos clínicos, bioquímicos y de ultrasonido.

Además de la muestra de pacientes mencionada, en estos estudios también participaron 35 sujetos sanos como grupo control. Antes de su inclusión como parte del grupo control, se descartó la presencia de enfermedad hepática en todos estos sujetos a partir de sus datos clínicos, analíticos y serológicos.

Se descartaron del estudio todos los sujetos que cumpliesen uno o más de los siguientes criterios:

- Sufrir EH clínica o tener historial de haberla sufrido (≥ 1 según la escala de West-Haven)
- Haber consumido alcohol durante los últimos 6 meses
- Sufrir alguna infección en el momento de la inclusión en el estudio
- Haber tomado antibióticos durante las últimas 6 semanas
- Haber sufrido una hemorragia gastrointestinal durante las últimas 6 semanas
- Tomar algún medicamento que afecte a la función cognitiva
- Sufrir carcinoma hepatocelular
- Sufrir alguna enfermedad neurológica o neuropsiquiátrica

Todos los sujetos participaron en el estudio únicamente tras ser informados y firmar el debido consentimiento. El proyecto al que está adscrito este estudio fue aprobado por los comités científicos y éticos de los dos hospitales participantes, y se desarrolló siguiendo las directrices de la Declaración de Helsinki de 1975.

En todos los casos en que se dispuso de esta información, también se revisó el historial clínico de los participantes para analizar y registrar los siguientes datos:

- Datos demográficos de edad, sexo y años de formación académica
- Etiología de la cirrosis
- Presencia de otras patologías y comorbilidades, como la diabetes
- Presencia de descompensaciones debidas a la cirrosis: varices esofágicas, ascitis, hipertensión portal...
- Parámetros séricos de laboratorio
- Índices de la función hepática Child-Pugh y MELD
- Tratamientos farmacológicos

Siguiendo el protocolo del estudio, se citó a los participantes para la extracción de una muestra de sangre en ayunas. Tras la extracción de la muestra de sangre, y durante el mismo día, los participantes realizaron una batería de test cognitivos, motores y de movimientos oculares. La naturaleza de los protocolos llevados a cabo, además de la información extraída de los mismos, se describen en detalle más adelante.

1.1. Tratamiento con rifaximina y estudio de resonancia magnética

De la muestra de pacientes y controles descrita previamente se seleccionó a 23 controles y 31 pacientes con EHM para su participación en el estudio centrado en el efecto de la rifaximina sobre la estructura y función cerebral de los pacientes con EHM.

Los sujetos seleccionados asistieron, menos de una semana después de su entrevista inicial, a una sesión de adquisición de imágenes por RM, tanto estructurales como funcionales en estado de reposo. Tras esta primera sesión se descartó a 3 pacientes con EHM y 1 Control a causa de la mala calidad de las imágenes adquiridas, reduciendo la muestra a 28 pacientes con EHM y 22 Controles.

De los 28 pacientes con EHM, a 22 se les prescribió un tratamiento con rifaximina (1,2 g/día, en tres dosis de 400 mg cada 8 horas) tras la primera sesión de RM. Los 6 pacientes restantes, aunque llevaron a cabo la primera sesión de adquisición de imágenes, rechazaron continuar con el estudio, por lo que no fue posible llevar a cabo un seguimiento de su evolución, independientemente de que se les recetase rifaximina o no.

Tras 6 meses en tratamiento, los pacientes que habían permanecido en el estudio se sometieron a una segunda evaluación psicométrica, y a una segunda sesión de RM. En esta etapa otros 4 pacientes abandonaron el estudio: uno debido a la aparición de efectos adversos, otros dos a causa de su fallecimiento, y un último porque rechazó someterse a una segunda entrevista. Esto redujo el grupo de estudio a un total de 18 pacientes con una respuesta conocida al tratamiento e imágenes de RM adquiridas tras terminar el mismo.

De los 18 pacientes tratados, 13 respondieron de forma favorable a la rifaximina (*Responders*), mientras que los otros 5 no mostraron una respuesta aparente (*Non-responders*). Los pacientes cuyos resultados en la batería PHES, descrita en detalle en el apartado 3.1, tras el tratamiento eran consistentes con los de un paciente sin EHM (PHES > -4) fueron clasificados como *Responder*, mientras que aquellos que no cumplían con este requisito fueron clasificados como *Non-responder*.

Durante los 6 meses de seguimiento no se detectó ningún episodio de EH de carácter clínico, y se detectaron 2 casos de ascitis y 1 de trombosis portal en el grupo de pacientes *Responder*.

Los pasos seguidos durante el seguimiento hasta llegar a la muestra final del estudio están representados en la Figura 18.

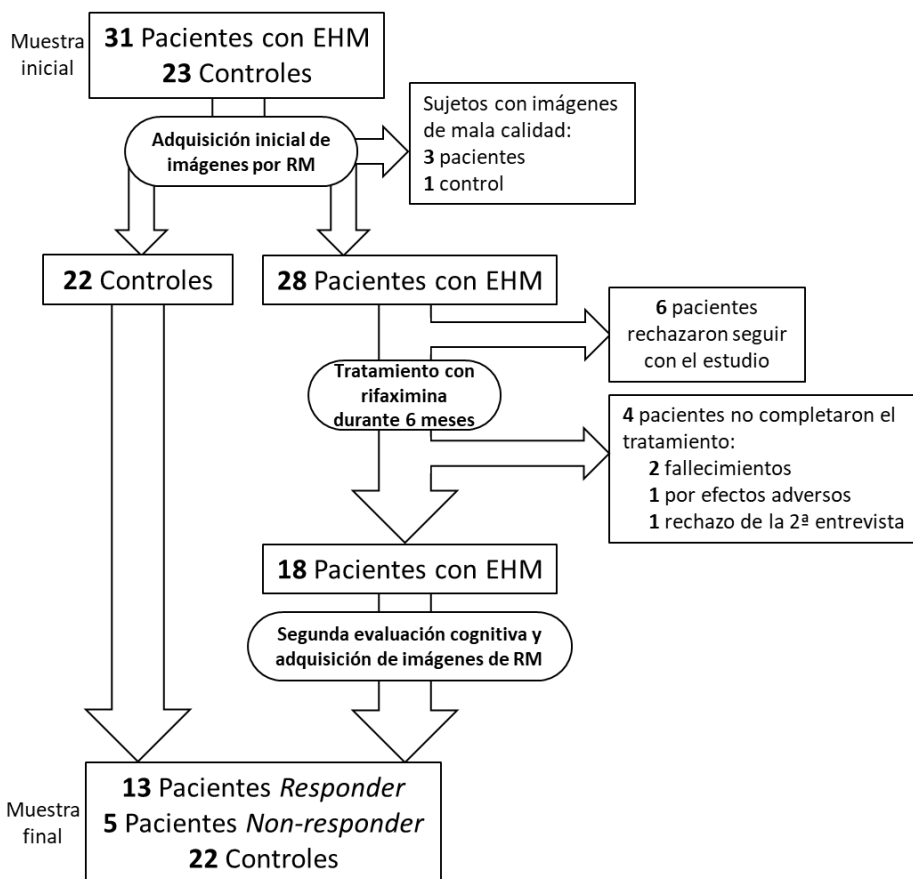


Figura 18. Diagrama de flujo del proceso de reclutamiento de sujetos para el estudio de resonancia magnética.

2. Extracción de sangre

Para la extracción de muestras de sangre de los participantes se usaron tubos *BD Vacutainer* (BD Bioscience; Franklin Lakes, Nueva Jersey, Estados Unidos) de 6 ml, con ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) como agente anticoagulante. Para aislar el plasma de estas muestras se realizó una centrifugación de 10 minutos a $1700 \times g$ a temperatura ambiente, tras la cual se recogió el sobrenadante de las muestras. Una vez aisladas, las muestras de plasma se conservaron a -80°C en alícuotas de $200\ \mu\text{l}$ para su posterior uso en la determinación de los niveles de citocinas pro-inflamatorias en sangre.

Se tomó una muestra de sangre adicional en un tubo *BD Vacutainer* sin EDTA y con agar (*BD Bioscience*), que no fue centrifugado, para la medición inmediata de los niveles de amonio en sangre.

2.1. Determinación de niveles de citocinas pro-inflamatorias

En todos los sujetos se llevó a cabo una medición de los niveles de varias citocinas pro-inflamatorias en plasma mediante el uso de kits ELISA DuoSet (R&D Systems®).

Todas las mediciones fueron llevadas a cabo siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante, resumido a continuación:

1. Depositar $100\ \mu\text{l}$ del anticuerpo de captura en cada uno de los pocillos de la placa que vaya a ser usado, sellar la placa, e incubar a temperatura ambiente hasta el día siguiente, cuando se lavarán dichos pocillos.
2. Añadir $300\ \mu\text{l}$ de solución de bloqueo e incubar durante una hora. Repetir el proceso de lavado.
3. Añadir a cada pocillo $100\ \mu\text{l}$ de la muestra a medir, diluida en la proporción en que se considere necesario para una correcta medición, e incubar durante dos horas a temperatura ambiente. Repetir el proceso de lavado. Es importante haber reservado parte de los pocillos para la inclusión de la curva estándar, necesaria para la posterior determinación de los resultados obtenidos en las muestras de interés.
4. Añadir $100\ \mu\text{l}$ del anticuerpo de detección biotinilado, e incubar durante dos horas a temperatura ambiente. Repetir el proceso de lavado

5. Añadir 100 µl de Estreptavidina-HRP (*Horseradish peroxidase*) y llevar a cabo una incubación de 20 minutos en oscuridad. Repetir el proceso de lavado
6. Añadir 100 µl de sustrato, que es una mezcla de H₂O₂ y tetrametilbencidina, e incubar nuevamente durante 20 minutos en oscuridad.
7. Añadir 50 µl de solución de bloqueo sobre los 100 µl de sustrato y medir la absorbancia de cada pocillo en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm.

A partir de los resultados de absorbancia obtenidos en la curva estándar, se procede a determinar, mediante interpolación, la concentración de la sustancia de interés en cada una de las muestras medidas.

En la Tabla 4 se incluyen las citocinas que se han medido, además del código comercial del kit ELISA usado para medirlas.

Tabla 4. Relación de citocinas medidas. Interleucinas y quimiocinas medidas, y el código de los kits comerciales usados para dichas mediciones mediante la técnica ELISA.

Interleucina	Código del kit DuoSet (R&D Systems®)
CCL20	DY360
CCL5	DY278
CXCL13	DY801
CXC3L1	DY365
IL-6	DY206
IL-15	DY247
IL-18	DY318
IL-22	DY782

2.2. Determinación de niveles de amonio

Los niveles de amonio en sangre se midieron usando el dispositivo Ammonia Checker II® (PocketChem BA®; Arkray Factory, Inc®). Este dispositivo incluye unas tiras con una capa receptora compuesta por ácido bórico (H₃BO₃=42,6 mg) e hidróxido sódico (NaOH=18,7 mg), y una capa indicadora compuesta por verde de bromocresol (4 mg).

Cuando se aplica una muestra de sangre entera sobre la capa receptora de la tira de medición, esta disuelve el tampón amortiguador de pH presente en la misma, volviéndose más alcalina en el proceso. En estas condiciones, el amonio (NH_4^+) disuelto en la sangre se convierte en gas de amonio (NH_3), que al entrar en contacto con el verde de bromocresol produce una coloración. La intensidad de la coloración obtenida es proporcional a los niveles de amonio en sangre, haciendo posible la obtención de una medición cuantitativa.

Esta medición se realiza inmediatamente tras la extracción de la muestra de sangre, evitando así que un procesamiento más elaborado y prolongado en el tiempo pueda alterar los niveles de amonio de la muestra.

Siguiendo el protocolo del fabricante del dispositivo de medición, primero se depositan 20 μl de sangre entera recién extraída sobre el centro de la capa receptora de una tira de medición, evitando tocarla en el proceso. Tras 180 segundos se retira el distanciador de la tira, y se coloca esta sobre la unidad óptica del dispositivo de medición; con la capa indicadora orientada hacia dicha unidad óptica. El dispositivo indicará el nivel de amonio en $\mu\text{mol/L}$, con un rango de detección de 7-286 $\mu\text{mol/L}$; siendo los valores esperables en la muestra de un sujeto sano inferiores a 54 $\mu\text{mol/L}$.

3. Valoración de la función cognitiva y motora

Tras la extracción de las muestras de sangre, se citó a los pacientes en el Hospital Clínico Universitario de València para realizar una batería de pruebas destinadas a evaluar sus capacidades cognitivas y motoras.

Estas pruebas se llevaron a cabo a lo largo de un mismo día, junto a la evaluación de los movimientos oculares, descrita más adelante. La duración aproximada de este conjunto de pruebas es de aproximadamente 1 hora y media.

A continuación, se describen en detalle todas las pruebas incluidas en esta valoración:

3.1. Batería PHES

La batería de test psicométricos PHES es considerada como el *gold standard* para el diagnóstico de la EHM (Weissenborn *et al.*, 2001; Ferenci *et al.*, 2002), y se compone de cinco subtest (Figura 19):

- Test de dígitos y símbolos (DST): Incluye una serie de dígitos (1-9), asociados cada uno con un símbolo distinto. En este test, el sujeto debe emparejar cada símbolo con el número correspondiente a lo largo de 90 segundos. La puntuación se obtiene a partir de la cantidad de aciertos totales. Este test evalúa la velocidad de procesamiento, la destreza visomotora y la memoria de trabajo.
- Test de conexión numérica A (NCT-A): Consiste en un conjunto de números (1 a 25) desordenados, que el sujeto debe unir en orden ascendente trazando líneas sin levantar el rotulador del papel. La puntuación se obtiene a partir de los segundos que el sujeto tarda en completar la tarea. Este test evalúa la velocidad de procesamiento y la atención.
- Test de conexión numérica B (NCT-B): Consiste en un conjunto de números (1 a 13) y letras (A a L) desordenados. En este test el sujeto debe unir los números y letras de forma alterna, empezando por el primer número. En el caso de los números se sigue un orden ascendente, mientras que con las letras se sigue un orden alfabético (1-A-2-B-3...L-13). El sujeto debe trazar las líneas sin levantar el rotulador del papel. La puntuación se obtiene a partir de los segundos que el sujeto tarda en completar la tarea. Este test evalúa la velocidad de procesamiento y la atención.

- Test de línea quebrada (LTT): Consiste en completar un recorrido, delimitado por dos líneas a los lados, usando un rotulador. En todo momento el sujeto debe evitar levantar el rotulador del papel, además de evitar tocar los límites del recorrido, o salirse de los mismos. La puntuación se obtiene a partir de los segundos que el sujeto tarda en completar la tarea. Este valor puede aumentar durante la corrección, en la que se usa una plantilla estandarizada, según la cantidad y magnitud de los errores cometidos por el paciente durante la realización de la tarea. Este test evalúa la coordinación visoespacial.
- Test de puntos seriados (SD): Consiste en un conjunto de círculos, que el sujeto debe marcar con un punto central usando un rotulador. La puntuación se obtiene a partir de los segundos que el sujeto tarda en completar la tarea. Este test evalúa la coordinación visoespacial.

A partir de los valores obtenidos en cada uno de los cinco test, además de la edad y los años de escolarización del sujeto, es posible obtener una puntuación corregida para cada uno de estos test, consistente en un número entero. La puntuación global del sujeto en la batería PHES se obtiene a partir de la suma de estos cinco valores, que se obtienen al comparar el resultado original del test con los valores de referencia para la población española obtenidos por la Red Española de Encefalopatía Hepática (Romero-Gómez *et al.*, 2006). Se considera que un sujeto sufre EHM si su puntuación global en la batería PHES es igual o menor a -4.

El proceso de corrección puede llevarse a cabo de forma automática gracias a una herramienta informática a disposición del público creada por la Red Española de Encefalopatía Hepática (<http://www.redeh.org/phesapp/datos.html>).

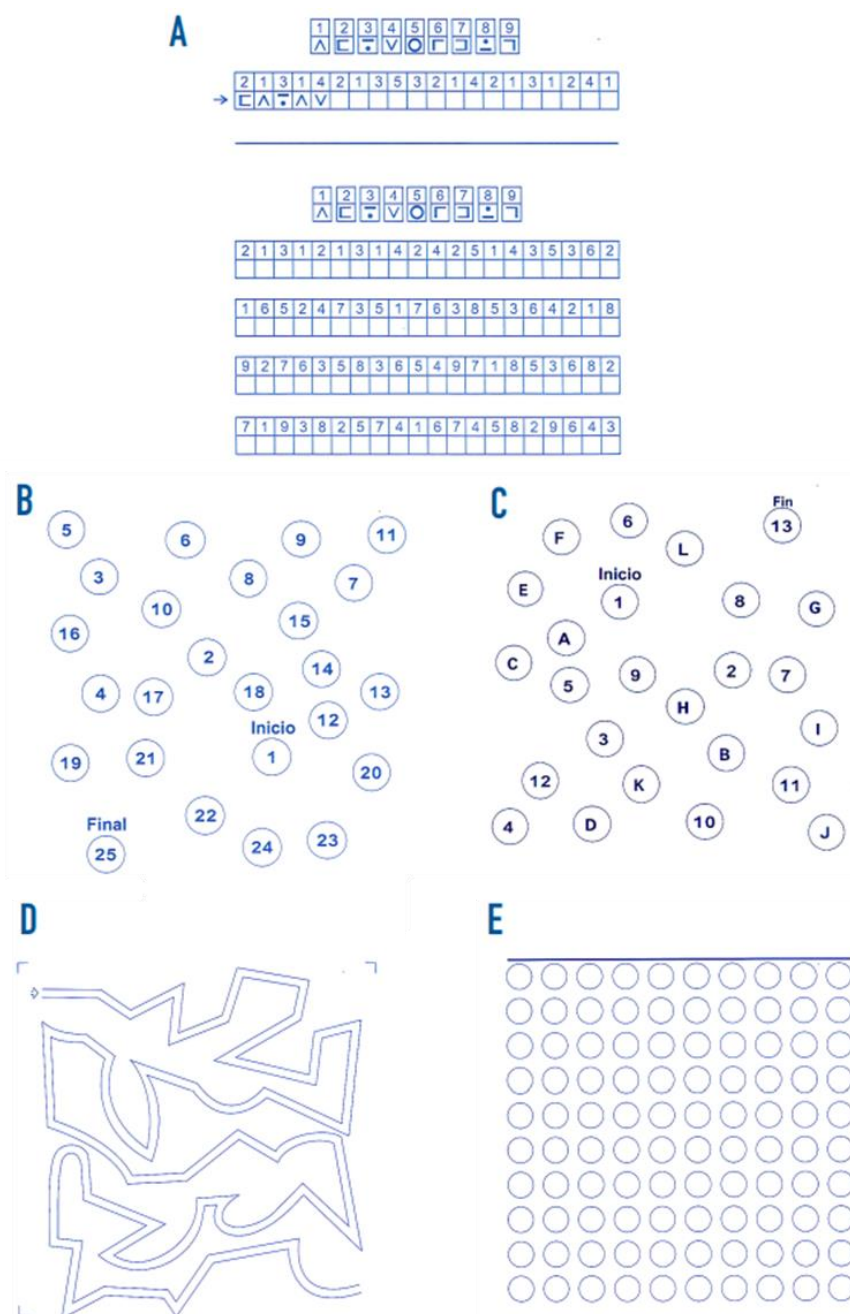


Figura 19. Batería PHES. Subtest que componen la batería PHES (*Psychometric hepatic encephalopathy score*). A) Test de dígitos y símbolos (DST); B) Test de conexión numérica A (NCT-A); C) Test de conexión numérica B (NCT-B); D) Test de línea quebrada (LTT); E) Test de puntos seriados (SD).

3.2. Test stroop de colores y palabras

El test de stroop de colores y palabras evalúa la atención selectiva y sostenida, además de la flexibilidad cognitiva y la función inhibitoria (Stroop, 1935).

Este test se compone de tres tareas distintas (Figura 20):

- A. La primera tarea, o tarea congruente, consiste en una matriz de diez filas, con cinco palabras en cada fila. Estas palabras pueden ser uno de cuatro colores (Amarillo, Azul, Rojo o Verde), y están impresas en tinta negra.
- B. La segunda tarea, o tarea neutra, consiste en una matriz de diez filas, con cinco círculos en cada fila. Estos círculos pueden ser de uno de cuatro colores (Amarillo, Azul, Rojo o Verde).
- C. La tercera tarea, o tarea incongruente, consiste en una matriz de diez filas, con cinco palabras en cada fila. Nuevamente, estas palabras pueden indicar uno de cuatro colores (Amarillo, Azul, Rojo o Verde). En este caso, no obstante, las palabras están impresas en tinta de uno de los colores con los que se trabaja durante la prueba, pero que no coincide con el color que indica el texto escrito (ejemplo: La palabra ROJO escrita con tinta azul).

En el test Stroop se le muestran al sujeto, en orden, las tres pruebas, y dispone de 45 segundos para llevar a cabo cada una de ellas. Durante la prueba congruente (A) el sujeto debe leer en voz alta, siguiendo cada fila de izquierda a derecha, empezando por la primera fila y bajando hasta la última, el mayor número de palabras posible. En el caso de la prueba neutra (B) el sujeto debe nombrar el color del mayor número de círculos posible, siguiendo el mismo orden que durante la prueba congruente. Finalmente, durante la prueba incongruente (C) el sujeto debe nombrar el color de la tinta en el que están escritas el mayor número de palabras posible, siguiendo el mismo orden que durante las dos pruebas anteriores, y evitando leer la palabra en sí. Si, en cualquiera de las tres pruebas, el sujeto termina de leer la matriz antes de que pasen los 45 segundos de la prueba, debe volver a empezar desde el principio y repetir el proceso las veces que sea capaz antes de que termine el tiempo.

Como resultado de este test se obtienen tres puntuaciones directas. Estas tres puntuaciones equivalen al número de ítems que han sido leídos o nombrados correctamente en cada una de las tres pruebas, respectivamente. Estas puntuaciones son posteriormente corregidas según la edad del sujeto (Golden, adaptación de TEA

ediciones, 2020), y a partir de las mismas es posible calcular el parámetro Interferencia, que mide la flexibilidad cognitiva y la función inhibitoria del sujeto. La Interferencia equivale a la diferencia entre la puntuación que ha obtenido el paciente en la tercera prueba y una estimación obtenida a partir de las puntuaciones de las dos primeras pruebas.

Finalmente, las distintas puntuaciones son interpoladas en una Tabla normalizada para la población española (Golden, adaptación de TEA ediciones, 2020), para obtener el percentil en el que se encuentran los sujetos para cada una de estas puntuaciones.

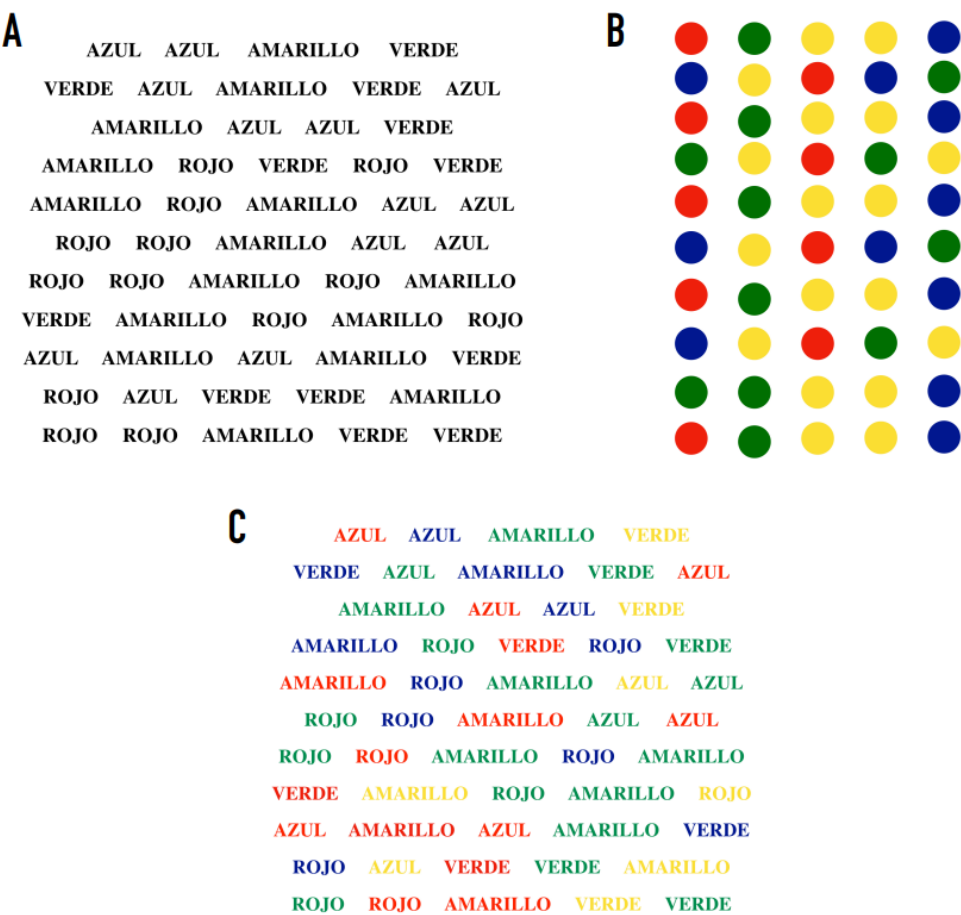


Figura 20. Test Stroop. Tareas que componen el test Stroop de colores y palabras. A) Tarea congruente; B) Tarea neutra; y C) Tarea incongruente.

3.3. Test d2

El test d2 evalúa la atención sostenida y selectiva, la concentración, la velocidad de procesamiento visual, y la coordinación visomotora del sujeto (Brickenkamp, Adaptación de TEA Ediciones, 2012).

El test consiste en una hoja con 14 filas, de 47 caracteres cada una. Entre estos caracteres se incluyen las letras “d” y “p”. Estas letras están, a su vez, acompañadas por 1 o 2 rayas, que pueden posicionarse encima y/o debajo de las mismas; dando como resultado la posibilidad de que una misma letra esté acompañada de entre uno y cuatro rayas (Figura 21).

Durante la prueba, el sujeto dispone de 20 segundos para revisar cada una de las filas de izquierda a derecha. Durante este tiempo debe marcar las letras “d” que estén acompañadas por un total de 2 rayas, que pueden encontrarse distribuidas de cualquier forma encima o debajo de esta letra. Cualquier letra que no cumpla estas condiciones debe ser ignorada y dejarse sin marcar (Figura 21).

A partir de esta prueba se pueden obtener nueve puntuaciones distintas, con las cuales evaluar la atención del sujeto:

-Total de respuestas (TR): la suma de la posición del último carácter marcado en cada una de las 14 filas.

-Total de aciertos (TA): el total de elementos correctamente marcados durante la prueba.

-Errores de omisión (O): el total de elementos que deberían haber sido marcados, pero han sido erróneamente omitidos durante la prueba.

-Errores de comisión (C): el total de elementos que deberían haber sido omitidos, pero han sido erróneamente marcados durante la prueba.

-Efectividad total de la prueba (TOT): medida obtenida al restar el total de errores cometidos al valor del total de respuestas ($TOT = TR - [O + C]$).

-Índice de concentración (CON): medida obtenida al restar los errores de comisión al total de aciertos ($CON = TA - C$).

Además del propio valor de cada una de estas mediciones, también es posible obtener el percentil en el que se encuentra el sujeto para cada una de ellas dentro del rango de edad al que pertenece. Estos resultados se obtienen mediante la interpolación de los resultados obtenidos con las tablas de normalidad correspondientes a los distintos rangos de edad para la población española.

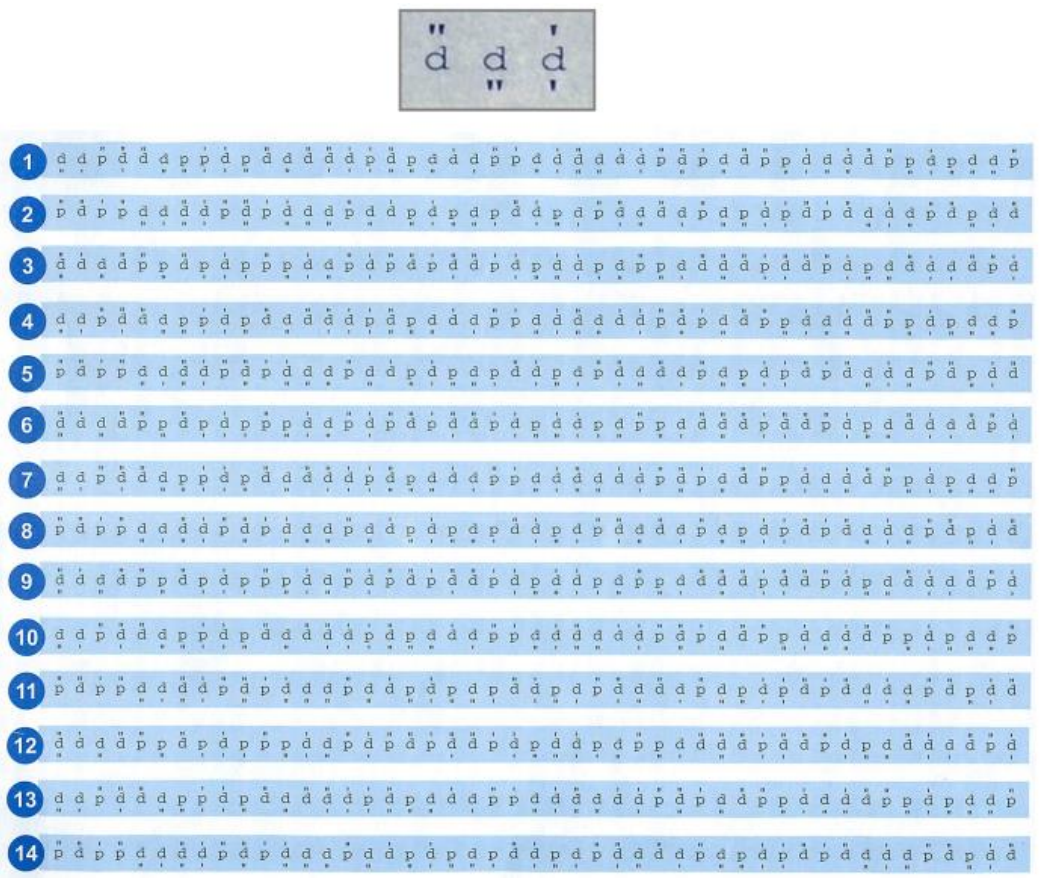


Figura 21. Test d2. Prueba d2, con los ejemplos de cuáles son los elementos a marcar representados sobre la misma.

3.4. Symbol digit modalities test (SDMT) oral

El *Symbol digit modalities test* (SDMT) oral mide la velocidad de procesamiento y la atención selectiva del sujeto (Smith, Adaptación de TEA Ediciones, 2012).

El test consiste en un conjunto de 9 símbolos, cada uno asociado con un número, además de una serie de estos símbolos que ocupan una hoja al completo (Figura 22). En este test, el sujeto dispone de 90 segundos para decir en voz alta el número asociado con cada uno de los símbolos de la hoja, empezando por la primera fila y yendo de izquierda a derecha. Como resultado de esta prueba se obtiene una puntuación que indica la cantidad de símbolos correctamente procesados por el sujeto.

CLAVE

(	÷	⊢	⌈	⊣	>	+	)	÷
1	2	3	4	5	6	7	8	9

(	⊣	÷	(	⊢	>	÷	⌈	(	>	÷	(	>	(	÷

⌈	>	(	÷	⊣	>	⊢	⌈	(	÷	>	÷	⌈	⊢	)

⌈	⊣	+	)	(	⊢	+	⌈	)	⊣	÷	÷	⊢	⌈	+

÷	⌈	⊣	(	>	⌈	(	⊣	>	+	÷	)	⊢	>	⌈

÷	⊣	)	⊢	>	+	⌈	⊣	÷	⊢	+	÷	÷	)	(

>	÷	+	÷	⊢	>	⌈	÷	(	+	÷	⊣	>	)	⌈

÷	)	+	÷	⊢	+	)	⊣	(	÷	÷	(	⌈	⊢	>

⊣	÷	(	>	⌈	÷	(	>	÷	+	⊢	⊣	⌈	)	÷

Figura 22. *Symbol digit modalities test* (SDMT) oral.

3.5. Subtest de la batería *Wechsler Adult Intelligence Scale* (WAIS)

La batería Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS), desarrollada por Wechsler D, dispone de un conjunto de múltiples test que evalúan múltiples facetas de las capacidades cognitivas del sujeto estudiado (Wechsler, Adaptación de Pearson Educación, 2012). Para este estudio se han seleccionado dos subtest que evalúan la atención y la memoria de trabajo de los pacientes: el test de dígitos, y el test de letras y números.

Test de dígitos: Esta prueba se divide en dos partes. En ambos casos al sujeto se le recita una serie de dígitos, que empieza con un total de 2 dígitos al principio y aumenta progresivamente hasta llegar a 9 (Figura 23). En la primera parte, o test de dígitos directo, el sujeto debe repetir la serie de dígitos en el mismo orden en que esta ha sido recitada (ejemplo: el examinador recita 1-2-3-4, y el sujeto debe decir 1-2-3-4). En la segunda parte, o test de dígitos inverso, el sujeto debe repetir la serie de dígitos en orden inverso respecto de la situación inicial (ejemplo: el examinador recita 1-2-3-4, y el sujeto debe decir 4-3-2-1). En ambos casos la puntuación final equivale al total de series repetidas o invertidas correctamente, y se considera que una parte ha terminado cuando el sujeto falla 2 series seguidas.

Test de letras y números: En esta prueba al sujeto se le recita un conjunto desordenado de letras y números. Estos conjuntos empiezan componiéndose de 2 elementos, que aumentan progresivamente hasta un total de 8 elementos por conjunto (Figura 24). En este caso, a partir del conjunto que le sea recitado, el sujeto debe reorganizar mentalmente los elementos que lo componen siguiendo un criterio específico, para luego repetir la serie reordenada. Para reordenar correctamente la serie, el sujeto debe colocar los números delante, ordenados de menor a mayor, y las letras detrás, ordenadas alfabéticamente (ejemplo: el examinador recita 5-H-1-P-8-A, y el sujeto debe decir 1-5-8-A-H-P). La puntuación final equivale al total de series reordenadas correctamente, y se considera que la prueba ha terminado si el sujeto falla 3 series seguidas.

ORDEN DIRECTO			Punt.	Puntuación
Elemento/Intento			intento	elemento
1	1	1-7	0	1
	2	6-3	0	1
2	1	5-8-2	0	1
	2	6-9-4	0	1
3	1	6-4-3-9	0	1
	2	7-2-8-6	0	1
4	1	4-2-7-3-1	0	1
	2	7-5-8-3-6	0	1
5	1	6-1-9-4-7-3	0	1
	2	3-9-2-4-8-7	0	1
6	1	5-9-1-7-4-2-8	0	1
	2	4-1-7-9-3-8-6	0	1
7	1	5-8-1-9-2-6-4-7	0	1
	2	3-8-2-9-5-1-7-4	0	1
8	1	2-7-5-8-6-2-5-8-4	0	1
	2	7-1-3-9-4-2-5-6-8	0	1

ORDEN INVERSO			Punt.	Puntuación
Elemento/Intento			intento	elemento
1	1	2-4	0	1
	2	5-7	0	1
2	1	6-2-9	0	1
	2	4-1-5	0	1
3	1	3-2-7-9	0	1
	2	4-9-6-8	0	1
4	1	1-5-2-8-6	0	1
	2	6-1-8-4-3	0	1
5	1	5-3-9-4-1-8	0	1
	2	7-2-4-8-5-6	0	1
6	1	8-1-2-9-3-6-5	0	1
	2	4-7-3-9-1-2-8	0	1
7	1	9-4-3-7-6-2-5-8	0	1
	2	7-2-8-1-9-6-5-3	0	1

Figura 23. Tests de dígitos. Test de dígitos directo (izquierda) e inverso (derecha) de la batería WAIS.

Intento	Elemento	Respuesta correcta	Punt. intento	Puntuación elemento
1	1	L-2 2-L	0	1
	2	6-P 6-P	0	1
	3	B-5 5-B	0	1
2	1	F-7-L 7-F-L	0	1
	2	R-4-D 4-D-R	0	1
	3	H-1-8 1-8-H	0	1
3	1	T-9-A-3 3-9-A-T	0	1
	2	V-1-J-5 1-5-J-V	0	1
	3	7-N-4-L 4-7-L-N	0	1
4	1	8-D-6-G-1 1-6-8-D-G	0	1
	2	K-2-C-7-S 2-7-C-K-S	0	1
	3	5-P-3-Y-9 3-5-9-P-Y	0	1
5	1	M-4-E-7-Q-2 2-4-7-E-M-Q	0	1
	2	W-8-H-5-F-3 3-5-8-F-H-W	0	1
	3	6-G-9-A-2-S 2-6-9-A-G-S	0	1
6	1	R-3-B-4-Z-1-C 1-3-4-B-C-R-Z	0	1
	2	5-T-9-J-2-X-7 2-5-7-9-J-T-X	0	1
	3	E-1-H-8-R-4-D 1-4-8-D-E-H-R	0	1
7	1	5-H-9-S-2-N-6-A 2-5-6-9-A-H-N-S	0	1
	2	D-1-R-9-B-4-K-3 1-3-4-9-B-D-K-R	0	1
	3	7-M-2-T-6-F-1-Z 1-2-6-7-F-M-T-Z	0	1

Figura 24. Test de letras y números de la batería WAIS.

3.6. Test de coordinación bimanual de Yela

El test de coordinación bimanual de Yela aporta una medida de la función motora del sujeto (Yela, TEA ediciones, 1978).

El test consiste en un tablero perforado con dos matrices de 4 filas, con 10 agujeros por fila. El test incluye también 40 clavijas metálicas, que están insertadas en una de las dos matrices (Figura 25A). Durante la realización del test, el sujeto debe pasar las clavijas de una matriz a otra usando ambas manos de forma simultánea y simétrica, empezando por la primera fila de la matriz, y de fuera hacia dentro. El test debe realizarse dos veces en cada dirección, y la puntuación final serán los minutos que el sujeto ha tardado en realizar la prueba al completo.

3.7. Test de coordinación visomotora de Yela

El test de coordinación visomotora de Yela aporta una medida de la función motora del sujeto (Yela, TEA ediciones, 1979).

El test consiste en un tablero perforado con una matriz de 6x6 agujeros rectangulares idénticos, pero con distintas orientaciones. El test incluye, también, 36 piezas metálicas rectangulares, que encajan en los agujeros de la matriz (Figura 25B). Durante la realización del test, el sujeto debe insertar las piezas en los agujeros usando únicamente su mano dominante, empezando por la primera fila y avanzando de izquierda a derecha. El test debe realizarse dos veces, y la puntuación final serán los minutos que el sujeto ha tardado en realizar la prueba al completo.

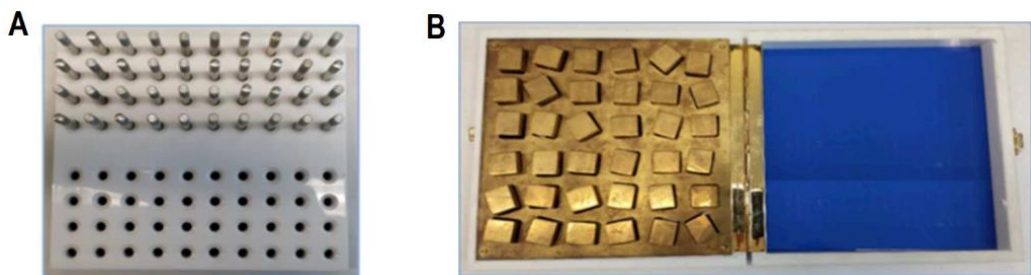


Figura 25. Tests de coordinación. Test de coordinación bimanual (A) y coordinación visomotora de Yela (B).

4. Valoración de los movimientos oculares

Tras la realización de las pruebas cognitivas y motoras ya descritas, se sometió a los sujetos a una serie de test destinados a evaluar el estado de sus movimientos oculares. Estas pruebas se realizaron de forma inmediatamente posterior a la batería de test descritos en el apartado 3, y como parte de la misma entrevista.

La batería de test de movimientos oculares se realizó usando un dispositivo de seguimiento ocular OSCANN desk100 (AURA innovative robotics®) (Hernández *et al.*, 2018). Este dispositivo dispone de una cámara que graba los movimientos del ojo a 100 FPS usando luz infrarroja. La disposición del dispositivo y las características técnicas de las pruebas se mantuvieron conforme a las especificaciones originales del fabricante.

Se realizaron un total de 10 pruebas distintas, incluyendo versiones verticales y horizontales de una misma prueba, obteniendo un total de 164 variables originales distintas a partir de los mismos. Todas las mediciones se realizaron sobre el ojo dominante del sujeto, y la duración aproximada de este conjunto de test fue de unos 30 minutos.

Entre las variables obtenidas de estos test se incluyen múltiples conceptos merecedores de una aclaración previa:

- La **latencia** indica el tiempo que transcurre entre un cierto estímulo y la reacción ocular del sujeto. Por lo general, la latencia mínima en humanos es de 200 ms, así que cualquier valor por debajo de este se considera un **movimiento sacádico anticipado**, en el que el sujeto ha iniciado dicho movimiento ocular antes de procesar el estímulo visual.

- La **ganancia** indica la relación entre la amplitud del movimiento ocular realizado y el desplazamiento de un determinado estímulo. Cuanto más se acerque este valor a 1, con mayor precisión se habrá posicionado la mirada sobre la nueva localización del estímulo. Si este valor es inferior a 1 significa que la mirada se ha desplazado menos que el estímulo, y al contrario si el valor es superior a 1. La diferencia final entre la posición de la mirada y del estímulo se denomina **error de la mirada**, y será positivo cuando la mirada sobrepase la posición del estímulo (ganancia superior a 1) y negativo cuando la mirada no llegue a la posición del estímulo (ganancia inferior a 1).

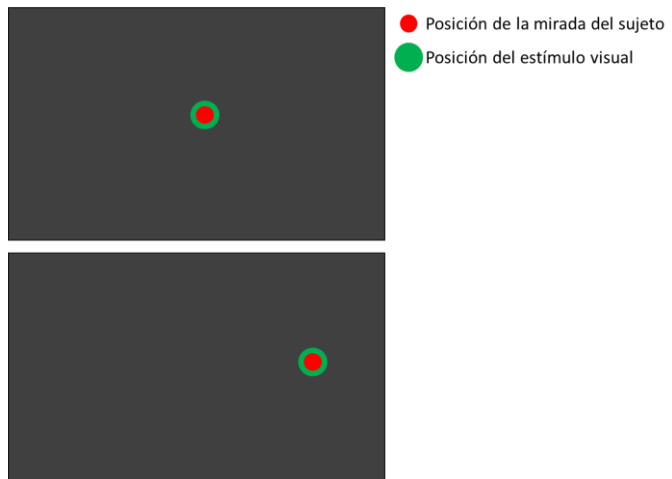
-Un **movimiento prosacádico** es aquel que se realiza en la dirección en la que se encuentra un estímulo, mientras que un **movimiento antisacádico** es aquel que se realiza para evitar mirar hacia un estímulo.

En las siguientes secciones se describirá en detalle todas las pruebas de movimientos oculares realizadas.

4.1. Test de sácadas visuales (horizontal y vertical)

Durante el test de sácadas visuales se le muestra al sujeto un estímulo en el centro de la pantalla durante 1,5 segundos. Inmediatamente después, el estímulo reaparece en un punto periférico de la pantalla aleatorio, a la izquierda o la derecha de su posición original en la versión horizontal del test, y encima o debajo de su posición original en la versión vertical. Tras 1,5 segundos en esta posición, el estímulo reaparece en su posición original, y se repite el proceso (Figura 26). Con el objetivo de estudiar el estado de los movimientos sacádicos, el sujeto debe seguir el estímulo visual con la mirada en todo momento, procurando no mover la cabeza. En la versión horizontal del test este proceso se repite un total de 12 veces, mientras que en la versión vertical se repite 8 veces.

Figura 26. Pasos durante el test de sácadas visuales. Versión horizontal del test de sácadas visuales, con un primer paso en que el estímulo visual está en el centro de la pantalla, y un segundo paso en que este se ha desplazado a una posición lateral. El sujeto debe mantener la mirada centrada en el estímulo visual en todo momento.



Como resultado de este test se obtiene un total de 16 variables en cada versión, incluyendo:

- Latencia media de las sácadas (ms)
- Desviación típica de la latencia de las sácadas (ms)
- Ganancia media de las sácadas
- Desviación típica de la ganancia de las sácadas
- Velocidad máxima media de las sácadas ($^{\circ}$ /s)
- Desviación típica de la velocidad máxima de las sácadas ($^{\circ}$ /s)
- Error de la mirada positivo medio ($^{\circ}$)
- Desviación típica del error de la mirada positivo ($^{\circ}$)
- Error de la mirada negativo medio ($^{\circ}$)
- Desviación típica del error de la mirada negativo ($^{\circ}$)
- Recuento de parpadeos
- Recuento de sácadas anticipadas
- Latencia media de las sácadas de retorno (ms)
- Desviación típica de la latencia de las sácadas de retorno (ms)
- Velocidad máxima media de las sácadas de retorno ($^{\circ}$ /s)
- Desviación típica de la velocidad máxima de las sácadas de retorno ($^{\circ}$ /s)

4.2. Test de sácadas de memoria (horizontal y vertical)

El protocolo del test de sácadas de memoria empieza de forma similar al test de sácadas visuales, con un estímulo en el centro de la pantalla, que se desplaza hacia la periferia y regresa al centro de la pantalla, y cuya posición debe seguir el sujeto en todo momento. No obstante, en este caso, tras regresar al centro de la pantalla, el estímulo desaparece por completo durante 1,5 segundos. En este momento, el sujeto debe realizar un movimiento sacádico hacia la última posición periférica, hacia un lado en la versión horizontal, o hacia arriba o abajo en la versión vertical, hacia la que se desplazó el estímulo. Después de esto, el estímulo reaparece en el centro de la pantalla y se repite el proceso ya descrito, con un nuevo desplazamiento aleatorio que el sujeto deberá repetir cuando el estímulo vuelva a desaparecer (Figura 27). Además del estudio de los movimientos sacádicos ante la ausencia de un estímulo visual, en este test es posible

analizar el estado de la memoria de trabajo. En la versión horizontal del test este proceso se repite un total de 12 veces, mientras que en la versión vertical se repite 8 veces.

Figura 27. Pasos durante el test de sácad
de memoria. Versión horizontal del test de sácad

as de memoria, con un primer paso en que el estímulo visual está en el centro de la pantalla, un segundo paso en que este se ha desplazado a una posición lateral, un tercer paso en que el estímulo visual regresa al centro de la pantalla, y un cuarto paso en que el estímulo desaparece de la pantalla. El sujeto debe mantener la mirada centrada en el estímulo visual mientras este se encuentre presente en pantalla, pero, en el momento en que el estímulo visual desaparece de la pantalla, el sujeto debe dirigir su mirada hacia la última posición lateral por la que este pasó.



Debido a la naturaleza de esta prueba, existe la posibilidad de que el sujeto recuerde mal la última posición del estímulo y que, por tanto, dirija la mirada hacia un punto incorrecto en el momento en que el estímulo desaparece, dando como resultado un movimiento sacádico incorrecto.

Como resultado de este test se obtiene un total de 17 variables en cada versión, entre las que se incluyen las mismas variables mencionadas para el test de sácad

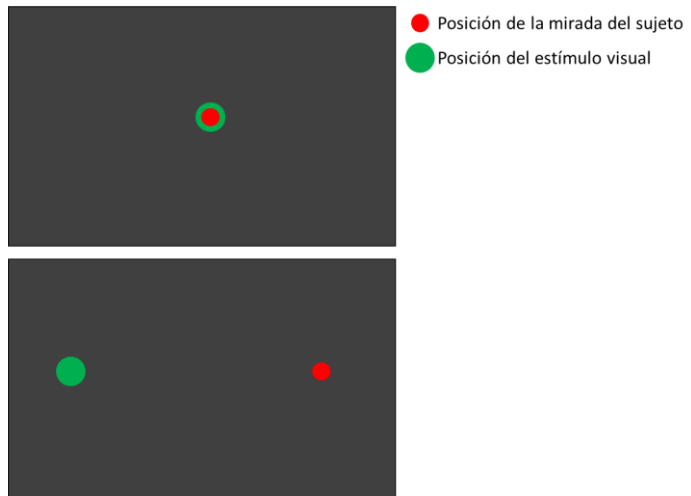
as visuales, además de una variable para el recuento de sácad

as realizadas correctamente. Es importante destacar que, en este caso, las mediciones se realizan sobre los movimientos sacádicos realizados en ausencia de un estímulo, ya que este es el foco de la prueba.

4.3. Test de antisácadas (horizontal y vertical)

El comportamiento del estímulo visual durante el test de antisácadas es idéntico al del test de sácadas visuales, con una alternancia entre una posición central y una periférica aleatoria (Figura 28). En este caso, no obstante, el sujeto debe evitar el estímulo visual cuando este no se encuentra en el centro de la pantalla, procurando mirar a la posición exactamente contraria de la pantalla con la mayor precisión posible (por ejemplo, si el estímulo se mueve 5° a la izquierda, el sujeto debe dirigir la mirada 5° a la derecha). En el momento en que el estímulo regresa a la posición central, el sujeto debe volver a observar directamente el estímulo. Además del estudio de los movimientos sacádicos ante la ausencia de un estímulo visual, en este test es posible analizar el estado de la función inhibitoria. En la versión horizontal del test este proceso se repite un total de 12 veces, mientras que en la versión vertical se repite 8 veces.

Figura 28. Pasos durante el test de antisácadas. Versión horizontal del test de antisácadas, con un primer paso en que el estímulo visual está en el centro de la pantalla, y un segundo paso en que este se ha desplazado a una posición lateral. El sujeto debe mantener la vista centrada en el estímulo cuando este se halla en el centro de la pantalla, pero cuando se desplaza hacia un lateral debe fijar la mirada en la posición opuesta de la pantalla.



Debido a la naturaleza de esta prueba, existe la posibilidad de que el sujeto mire instintivamente en la misma dirección en la que se encuentra el estímulo, realizando una **sácada reflexiva**. Si corrige rápidamente este error, y redirige la mirada hacia la posición que se le requiere, se considera que ha llevado a cabo una **antisácada corregida**, pero si no lleva a cabo esta corrección y mantiene la mirada fija en el estímulo visual se considera que ha llevado a cabo una **antisácada incorrecta**. Existe también la posibilidad de que, a pesar de que el sujeto dirija la mirada hacia el punto correcto de la pantalla inicialmente, evitando así el estímulo visual, luego lleve a cabo un movimiento sacádico

hacia el estímulo visual, con lo cual estaría llevando a cabo una **sácada reflexiva de segundo orden**.

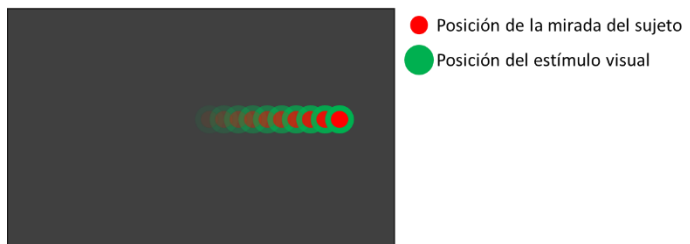
Como resultado de este test se obtiene un total de 20 variables en cada versión, incluyendo:

- Latencia media de las antisácadas (ms)
- Desviación típica de la latencia de las antisácadas (ms)
- Latencia media de las sácadas reflexivas (ms)
- Desviación típica de la latencia de las sácadas reflexivas (ms)
- Duración media de las sácadas reflexivas (ms)
- Desviación típica de la duración de las sácadas reflexivas (ms)
- Error de la mirada positivo medio ($^{\circ}$)
- Desviación típica del error de la mirada positivo ($^{\circ}$)
- Error negativo de la mirada medio ($^{\circ}$)
- Desviación típica del error de la mirada negativo ($^{\circ}$)
- Recuento de parpadeos
- Recuento de antisácadas correctas
- Recuento de antisácadas corregidas
- Recuento de antisácadas incorrectas
- Recuento de sácadas reflexivas de segundo orden
- Recuento de antisácadas anticipadas
- Latencia media de las sácadas de retorno (ms)
- Desviación típica de la latencia de las sácadas de retorno (ms)
- Velocidad máxima media de las sácadas de retorno ($^{\circ}/s$)
- Desviación típica de la velocidad máxima de las sácadas de retorno ($^{\circ}/s$)

4.4. Test de seguimiento (horizontal, vertical y sinusoidal)

Durante el test de seguimiento, al contrario que en los test descritos anteriormente, el estímulo presentado no salta entre distintas posiciones de la pantalla, sino que se desplaza con un movimiento continuo, y siguiendo una trayectoria estable a través de la pantalla (Figura 29). Además de presentar una versión en la que el estímulo se desplaza horizontalmente y otra en la que lo hace verticalmente, este test presenta una tercera versión. En esta tercera versión, aunque el estímulo se desplaza siguiendo también una trayectoria horizontal, su velocidad no es constante, sino que aumenta y disminuye de forma periódica. El tiempo que tarda el estímulo en recorrer la pantalla en esta versión del test es el mismo que en las otras dos versiones de velocidad constante, y el nombre “sinusoidal” vendría de la función sinusoidal que sigue el cambio de velocidad del estímulo en esta versión. En las tres versiones de este test se le pide al sujeto que siga el estímulo visual fijamente con la mirada en todo momento, con la intención de estudiar los movimientos de seguimiento. En todas las versiones el estímulo visual repite su trayectoria un total de 3 veces a lo largo de 24 segundos.

Figura 29. Pasos durante el test de seguimiento. Versión horizontal del test de seguimiento, con parte de la trayectoria que sigue el estímulo visual a lo largo del mismo. El sujeto debe mantener la vista centrada en el estímulo visual en todo momento.



Debido a la naturaleza de esta prueba, existe la posibilidad de que la mirada del sujeto se adelante o se quede por detrás del estímulo momentáneamente, causando que el sujeto se vea obligado a reposicionar rápidamente la mirada y realizar **sácad**as **back-up** o **catch-up**, respectivamente. Dentro de estos casos existe también la posibilidad de que el sujeto necesite realizar dos movimientos sacádicos muy seguidos en direcciones opuestas para ajustar correctamente la posición de su mirada, en un proceso conocido como **square wave jerk (SWJ)**.

También, debido a que la medición de la posición de la mirada en el test de seguimiento se realiza de forma continua en lugar de puntual, en este test se mide el error de la mirada usando el **error cuadrático medio (ECM)**. Además, en este test la medida de **ganancia** hace referencia a la relación entre la velocidad del estímulo y de la mirada a lo largo del test.

Como resultado de este test se obtiene un total de 10 variables en cada versión, incluyendo:

- Recuento de parpadeos
- Recuento de sácadas *catch-up*
- Recuento de sácadas *back-up*
- Recuento de SWJ
- Tiempo siguiendo el estímulo (%)
- Latencia hasta iniciar el seguimiento (ms)
- ECM de posición total (°)
- ECM de posición durante el seguimiento (°)
- Ganancia media
- ECM de velocidad durante el seguimiento (°/s)

4.5. Test de fijación

Durante el test de fijación el estímulo visual se mantiene completamente inmóvil en el centro de la pantalla durante 15 segundos (Figura 30). Durante todo el test el sujeto debe mantener la mirada fija en el estímulo visual del centro. En este test se mide el control de los movimientos oculares involuntarios y la precisión de la fijación.

Figura 30. Pasos durante el test de fijación. Test de fijación, con el estímulo visual posicionado en el centro de la pantalla durante todo el test. El sujeto debe mantener la mirada fija sobre el estímulo visual durante todo el test.



Debido a la naturaleza de esta prueba, una parte importante de las mediciones realizadas implica a los movimientos sacádicos que el ojo realiza involuntariamente, tales como las **microsácadas** o los **drifts**. La principal diferencia entre ambos sería que la duración de las microsácadas no es superior a los 30 ms, mientras que en el caso de los **drifts** esta puede llegar hasta los 0,8 s. Además de estos movimientos, el sujeto también puede llevar a cabo **SWJ monofásicos**, si realiza 2 movimientos sacádicos involuntarios seguidos en direcciones más o menos opuestas, y **SWJ bifásicos**, si la cantidad de movimientos realizados consecutivamente es 3. En todos los casos estos son movimientos de muy pequeña amplitud, así que si el sujeto realiza un movimiento sacádico de mayor duración o amplitud se considera que se ha distraído o ha realizado un movimiento sacádico voluntario.

Otras medidas de particular importancia durante esta prueba son aquellas que hacen referencia a las características del área en la que se ha mantenido fija la mirada del sujeto durante la realización del test, y que indicarían la precisión con la que el sujeto es capaz de fijar su mirada. La medida básica de esta precisión sería la **Bivariate contour ellipse area (BCEA)**, que mide el tamaño del área sobre la que se fija la mirada del sujeto, y que en este caso se realiza con los dos tercios de los puntos de fijación más cercanos al estímulo visual. Cuanto menor sea el valor de BCEA, mayor es la precisión del sujeto

durante la fijación. También, a partir de este posicionamiento de la mirada, se puede determinar una desviación típica, que indicaría la variabilidad de la posición de la mirada, y error de posición, que indicaría cuanto se aleja de media la posición de la mirada respecto del estímulo visual, en cada una de las dos dimensiones de la pantalla que el sujeto está observado.

Como resultado de este test se obtiene un total de 28 variables distintas, incluyendo:

- Recuento de parpadeos
- Recuento de sácadas voluntarias
- Recuento de microsácadas
- Recuento de drifts
- Recuento de SWJ monofásicos
- Recuento de SWJ bifásicos
- Recuento de distracciones
- BCEA ($^{\circ 2}$)
- Error horizontal del posicionamiento medio ($^{\circ}$)
- Error vertical del posicionamiento medio ($^{\circ}$)
- Desviación típica del posicionamiento horizontal ($^{\circ}$)
- Desviación típica del posicionamiento vertical ($^{\circ}$)
- Amplitud media de las microsácadas ($^{\circ}$)
- Desviación típica de la amplitud de las microsácadas ($^{\circ}$)
- Velocidad media de las microsácadas ($^{\circ}/s$)
- Desviación típica de la velocidad de las microsácadas ($^{\circ}/s$)
- Velocidad máxima media de las microsácadas ($^{\circ}/s$)
- Desviación típica de la velocidad máxima de las microsácadas ($^{\circ}/s$)
- Amplitud media de los drifts ($^{\circ}$)
- Desviación típica de la amplitud de los drifts ($^{\circ}$)
- Velocidad media de los drifts ($^{\circ}/s$)
- Desviación típica de la velocidad de los drifts ($^{\circ}/s$)
- Velocidad máxima media de los drifts ($^{\circ}/s$)
- Desviación típica de la velocidad máxima de los drifts ($^{\circ}/s$)
- Amplitud media de los SWJ ($^{\circ}$)
- Desviación típica de la amplitud de los SWJ ($^{\circ}$)
- Duración media de los SWJ (ms)
- Desviación típica de la duración de los SWJ (ms)

5. Adquisición de imágenes de resonancia magnética

Tras un periodo no superior a una semana después la primera cita, en la que se había sometido a los sujetos de estudio a los protocolos ya descritos, una parte de los pacientes y controles del estudio fueron citados para la adquisición de imágenes de resonancia magnética. Como se ha comentado en el apartado 1.1, la muestra inicial incluyó 31 pacientes con EHM y 23 controles sanos.

La adquisición de las imágenes de resonancia magnética se realizó en el centro de radiodiagnóstico ERESA, usando un escáner Philips Achieva 3.0T (*Philips medical systems*®). En cada sesión de adquisición de imágenes se obtuvieron dos tipos de imágenes de resonancia magnética:

- Imágenes de resonancia magnética estructural de alta resolución tridimensionales sagitales 3D MPRAGE T1 (TR = 8,42 ms, TE = 3,8 ms, matriz = 320 x 320 x 250 vóxeles, tamaño del voxel = 1 x 1 x 1 mm, ángulo de inclinación = 8°). Como resultado se obtiene una imagen 3D.

- Secuencias de resonancia magnética funcional en estado de reposo con gradiente eco T2 ponderado eco-planar (EPI) (5 minutos, 150 volúmenes, TR = 200 ms, TE = 30 ms, matriz = 80 x 80 x 31 vóxeles, tamaño del voxel 3 x 3 x 3 mm, ángulo de inclinación = 85°). Durante esta fase de la adquisición se pidió a los sujetos que permaneciesen inmóviles, con los ojos abiertos, y sin pensar en nada en particular. Como resultado se obtiene una secuencia 4D de 150 imágenes 3D.

5.1. Procesamiento de las imágenes

El procesamiento y análisis de las imágenes de resonancia magnética obtenidas se llevó a cabo usando las funciones y herramientas presentes en la versión 6.0.6 del programa FSL (*FMRIB Software library*), desarrollado por el FMRIB (*Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain*) analysis group, del Wellcome Centre for Integrative Neuroimaging de la universidad de Oxford (Smith *et al.*, 2004; Woolrich *et al.*, 2009; Jenkinson *et al.*, 2012). En la figura 34 se puede encontrar un diagrama resumen de los procesos descritos a continuación.

En el primer paso del procesamiento se procedió a la eliminación de todo el tejido presente en las imágenes de resonancia magnética estructural que no formase parte del sistema nervioso central (Figura 31). Este primer paso se llevó a cabo usando la herramienta BET (*Brain Extraction Tool*), presente en FSL (Smith, 2002).

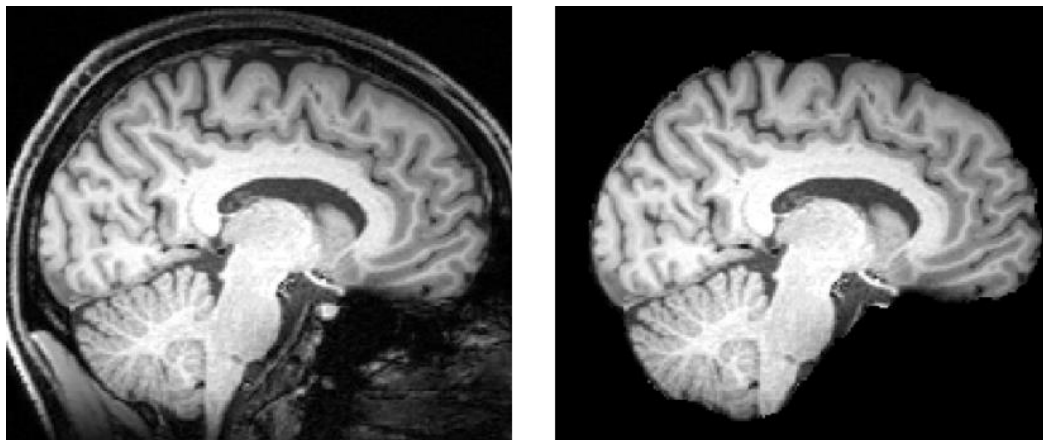


Figura 31. Imágenes de resonancia magnética estructural. Vista sagital de una imagen de resonancia magnética estructural en su estado original (izquierda), y tras la eliminación del tejido que no forma parte del sistema nervioso central (derecha).

Una vez depuradas las imágenes estructurales, todos los pasos del preprocesado de las imágenes funcionales se llevaron a cabo usando la herramienta MELODIC (*Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components*), presente en FSL (Beckmann y Smith, 2004). El procesamiento llevado a cabo por MELODIC incluyó los pasos descritos a continuación:

1. Eliminación de las 10 primeras imágenes de cada secuencia de fMRI, ya que durante los primeros momentos de la adquisición es normal que haya una mayor distorsión y ruido. Esto deja cada una de las secuencias de fMRI con un total de 140 imágenes, o fotogramas.
2. La función MCFLIRT (*Motion Correction FMRIB's Linear Image Registration Tool*), integrada dentro de MELODIC, realinea todas las imágenes de la secuencia y lleva a cabo una corrección de las distorsiones causadas por el movimiento de la cabeza del sujeto a lo largo de la adquisición de fMRI (Jenkinson *et al.*, 2002). Esta corrección de movimiento se realiza debido a que, aunque al paciente se le pida que permanezca quieto durante la adquisición de las imágenes, es inevitable que

haya pequeños movimientos, difíciles de percibir, pero que pueden distorsionar las imágenes de fMRI.

3. La función BET, integrada también en MELODIC, elimina el tejido que no forma parte del SNC en las imágenes de fMRI, de forma similar al proceso llevado a cabo manualmente para las imágenes estructurales.
4. Se lleva a cabo una corrección temporal de la señal teniendo en cuenta el método de adquisición intercalada usado con las imágenes de este estudio. Este paso es necesario debido a que el escáner de MRI no adquiere las imágenes tridimensionales en su conjunto en un solo paso, sino que lo hace por capas (similar al apilamiento progresivo de piezas o lonchas). Con esta corrección se evita el desfase temporal entre la señal de las distintas partes del cerebro.
5. Se filtran todas las señales presentes en las imágenes con una frecuencia superior a los 0,01 Hz. Este paso ayuda a eliminar señales que no están relacionadas con la actividad cerebral, y a preservar las señales cerebrales en estado de reposo, cuya frecuencia se encuentra mayormente en el rango de 0,005-0,01 Hz.
6. Se aplica un suavizado gaussiano de 4 mm FWHM (*Full width at half maximum*). Este paso, aunque técnicamente vuelve más borrosa la imagen, ayuda a disminuir el ruido y facilita la obtención de resultados estadísticamente significativos en pasos posteriores.
7. Tras haber llevado a cabo todas las correcciones y ajustes necesarios sobre las imágenes funcionales, se procede a la adaptación, también llamada registro, de estas al espacio estándar MNI152 (Figura 32). El registro es necesario para que todos los pacientes, que presentan sus propias idiosincrasias anatómicas y diferencias en el posicionamiento durante la adquisición de imágenes, sean mutuamente equiparables. Durante este proceso, y mediante el uso de las funciones FLIRT (*FMRIB's Linear Image Registration Tool*) y FNIRT (*FMRIB's Non-linear Image Registration Tool*), las imágenes son rotadas y deformadas para su correcta adaptación al estándar anatómico que supone el espacio MNI152 (Jenkinson y Smith, 2001; Jenkinson *et al.*, 2002). En un paso intermedio del registro se requiere del uso de las imágenes estructurales, que también quedan registradas en espacio MNI152 junto a las imágenes funcionales. Es importante destacar que, en espacio MNI152, el hemisferio izquierdo queda posicionado en el lado derecho de la imagen, y viceversa.
8. Una vez se dispone de todas las imágenes en espacio estándar, MELODIC descompone la señal de cada una de las imágenes funcionales mediante un

Independent Component Analysis (ICA). Con este proceso es posible separar la señal presente en una imagen en distintos componentes espacial y temporalmente independientes, correspondiéndose algunos de estos con la señal de redes neuronales en estado de reposo. Una analogía aplicable a este caso sería la del sonido de una radio o la imagen de una televisión con interferencias, cuya señal podría separarse mediante ICA en los distintos componentes independientes que se han mezclado para crear dicha interferencia. Para este paso se mantuvo la estimación automática del número de componentes para cada paciente.

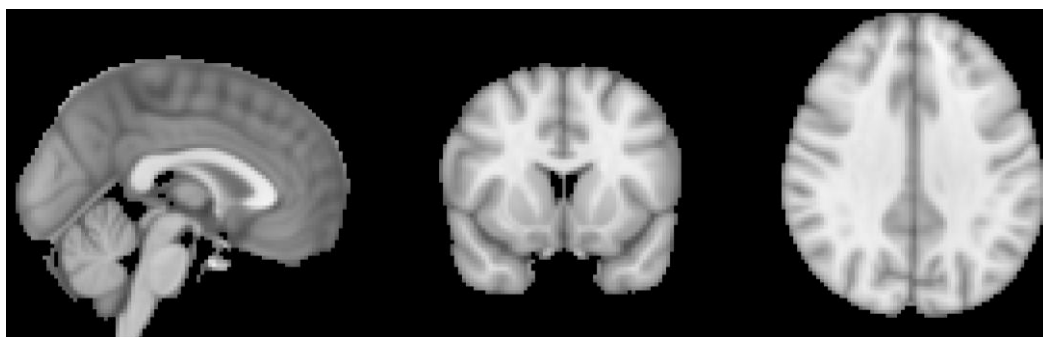


Figura 32. Imagen de referencia en espacio MNI152. Vista sagital, coronal, y axial, de un cerebro modelo en espacio MNI152 con vóxeles de resolución 1x1x1 mm. Estándar extraído de la biblioteca de imágenes del programa FSL.

Cuando se dispuso de todas las imágenes de fMRI estandarizadas, y con su señal descompuesta en componentes independientes, se llevó a cabo una limpieza de estos usando la herramienta ICA-AROMA (*ICA-based Automatic Removal Of Motion Artifacts*) (Pruim *et al.*, 2015). Este paso es especialmente útil para eliminar aquellos componentes funcionales cuyas características se corresponden con el ruido resultante del movimiento del paciente; ayudando así a conseguir una señal neuronal más limpia y fácil de analizar e interpretar (Figura 33). Esta herramienta, no obstante, tiene un efecto limitado en la eliminación de otros tipos de ruido usuales en las imágenes de fMRI, que fueron eliminados manualmente o mediante su agrupación y desestimación en pasos posteriores. Además del movimiento del paciente, entre las principales fuentes de ruido suelen destacar: el latido del corazón, el flujo sanguíneo por las venas y arterias que rodean el cerebro, interferencias del propio aparato de escáner, o alteraciones de la señal debidas al aire presente en los senos frontales.

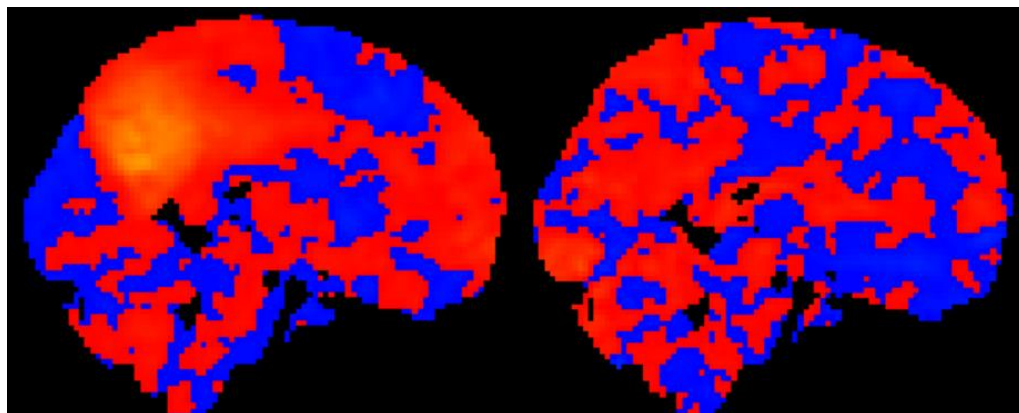


Figura 33. Comparación de la señal funcional de una red neuronal y ruido. Vista sagital de la señal funcional relacionada con la Red neuronal por defecto (izquierda), y de una señal ruido (derecha). Se aprecia la mayor intensidad de la señal con un papel biológico en las regiones cerebrales relacionadas con la red neuronal con la que se corresponde, mientras que la señal ruido presenta una distribución desordenada y una menor intensidad.

A lo largo del proceso descrito en este apartado se eliminaron 4 sujetos (1 control sano y 3 pacientes con EHM), ya mencionados en apartados previos, de la muestra de estudio debido a que se habían movido demasiado durante la adquisición de imágenes funcionales (traslación de más de 2,5 mm o rotación de más de 2,5 °). Tras finalizar esta limpieza, las imágenes estructurales y funcionales de todos los sujetos restantes estaban listas para su análisis.

5.2. Análisis del volumen de sustancia gris

Para el análisis de los cambios y diferencias en el volumen de sustancia gris se recurrió a la técnica de *Voxel-based morphometry* (VBM). Para llevar a cabo este análisis se usó la función FSLVBM, presente en la herramienta FSL (Good *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2004; Andersson *et al.*, 2007; Douaud *et al.*, 2007). En la figura 34 se puede encontrar un diagrama resumen de los procesos descritos a continuación.

En primer lugar, a partir de las imágenes estructurales cuyo tejido sobrante ya había sido eliminado, se crearon imágenes segmentadas en las que se separó la sustancia gris, la sustancia blanca, y el líquido cefalorraquídeo.

A partir de las imágenes de la sustancia gris de los sujetos se creó una plantilla, registrada en primer lugar en espacio ICBM-152 (un estándar similar al espacio MNI152), sobre la cual estandarizar el conjunto completo de la muestra a analizar. Este fue un proceso similar al paso 7 del procesamiento que llevó a cabo MELODIC sobre las imágenes funcionales, descrito en el apartado 5.1, ya que su objetivo final era la estandarización de todas las imágenes de sustancia gris para hacer posible la comparación entre unas y otras.

Una vez estandarizadas las imágenes del estudio, la función FSLVBM llevó a cabo un suavizado gaussiano de 4 mm FWHM sobre las mismas como último paso, similar al suavizado realizado en el paso 6 del procesamiento de las imágenes funcionales, descrito en el apartado 5.1.

Una vez se dispuso de las imágenes estructurales preparadas, se utilizó a la función *RANDOMISE* (Winkler *et al.*, 2014) del programa FSL para el análisis de las diferencias en el grosor de la materia gris entre los distintos grupos de estudio. Esta función usa modelos lineales generales, que se diseñaron específicamente para realizar las comparaciones estadísticas entre grupos de sujetos. Se usó la versión *Threshold-free cluster enhancement* (TFCE) de la función, con un total de 5000 permutaciones para cada comparación realizada. Todos los resultados obtenidos fueron corregidos usando *Family-Wise Error* (FWE) para evitar la distorsión de resultados debida a la gran cantidad de comparaciones realizadas a lo largo de todos los vóxeles de sustancia gris presentes. Solamente se consideraron significativos los resultados con $p < 0,05$ tras la corrección.

5.3. Análisis de la conectividad funcional de las redes neuronales

Para analizar los cambios y diferencias de la conectividad funcional de cada red neuronal se recurrió, nuevamente, a la herramienta MELODIC. No obstante, mientras que durante el procesamiento de las imágenes en el apartado 5.1 esta herramienta fue aplicada a cada paciente individualmente, en este caso se aplicó a nivel grupal para la obtención de un conjunto de componentes comunes cuya distribución e intensidad en los distintos grupos de estudio pudiese ser comparada. En la figura 34 se puede encontrar un diagrama resumen de los procesos descritos a continuación.

En este caso se llevaron a cabo distintas versiones del proceso para dividir la señal funcional en componentes independientes, con una división de la señal que varió desde los 20 hasta los 80 componentes, aumentando de 10 en 10. Durante una observación manual de cada versión se estudió la distribución espacial de los componentes, las series temporales de su señal, y la calidad y cantidad de componentes relacionados con redes neuronales. Finalmente, se seleccionó la versión que separaba la señal en 60 componentes, y a partir de esta se seleccionaron 14 componentes cuyas características eran indicativas de su relación con la señal de una red neuronal presente en el encéfalo.

Una vez seleccionados los componentes de interés, el conjunto de mapas espaciales resultantes del análisis grupal se usó para generar versiones específicas de los mismos para cada sujeto del estudio, además de las series temporales asociadas a los mismos. Este proceso se llevó a cabo usando la función *Dual Regression*, presente en FSL (Beckmann *et al.*, 2009; Nickerson *et al.*, 2017). Esta función lleva a cabo una regresión de los mapas espaciales grupales sobre cada uno de los sujetos del análisis, resultando en una serie temporal para cada red neuronal de cada paciente. Después, usando dichas series temporales, se lleva a cabo una regresión de nuevo sobre cada paciente, obteniendo finalmente un mapa espacial para cada red neuronal de interés en cada paciente.

Mientras que las series temporales fueron usadas para el análisis descrito más adelante, en el apartado 5.4, los mapas espaciales fueron usados para analizar las diferencias en la distribución e intensidad de la señal de cada red neuronal en cada grupo de análisis. Para este análisis se recurrió nuevamente a la función *RANDOMISE*, ya descrita en el apartado 5.2. Al igual que con el análisis previo, se usó la versión TFCE de la función, con un total de 5000 permutaciones para cada comparación, y todos los resultados obtenidos fueron corregidos mediante FWE. Solamente se consideraron significativos los resultados con $p < 0,05$ tras la corrección.

5.4. Análisis de la relación funcional entre redes neuronales

depara analizar los cambios y diferencias en la relación funcional entre las distintas redes neuronales se recurrió a la versión 0.6 de FSLNets, una herramienta externa, disponible en MATLAB y Python, desarrollada expresamente para llevar a cabo este tipo de análisis junto al programa FSL (<https://github.com/cindeem/fslnets>).

Para este análisis se usaron las series temporales obtenidas en el apartado 5.3. Estas series temporales indican la evolución, a lo largo del tiempo que dura la adquisición de imágenes funcionales, de la actividad de la red neuronal con el que está asociado el componente en cuestión. FSLNets recurre a la teoría de grafos para estudiar las relaciones entre estas señales.

Para llevar a cabo este análisis se obtuvieron las correlaciones entre las distintas señales neuronales, a las cuales se les aplicó la transformación de Fisher para obtener los valores Z de Fisher correspondientes. Para garantizar que se obtenía un valor que se correspondía con la conexión directa entre dos redes neuronales, sin la influencia de conexiones indirectas a través de otras redes neuronales, se obtuvieron los valores Z de Fisher a partir de la correlación parcial regularizada L2, con un valor de $\rho=0,01$.

Al disponer de 14 componentes relacionados con redes neuronales, se obtuvo un total de 91 valores Z de Fisher distintos para cada paciente; correspondiéndose cada valor con una conexión entre dos redes neuronales distintas. Debido a la naturaleza de estos datos, se desconoce la direccionalidad de las conexiones entre redes neuronales. Estos valores fueron posteriormente exportados para su análisis estadístico con otras herramientas estadísticas, descritas en el apartado 6.

5.5. Identificación de áreas cerebrales de interés

Para identificar áreas cerebrales en las que se mostraban resultados estadísticamente significativos, tanto estructurales como funcionales, y para conocer qué áreas estaban asociadas con las redes neuronales obtenidas durante el procesamiento de las imágenes funcionales, se recurrió principalmente a dos atlas funcionales: el atlas funcional de Glasser de las áreas de la corteza cerebral (Glasser *et al.*, 2016), y el atlas funcional de Yeo del cerebelo (Xue *et al.*, 2021). Otras áreas subcorticales fueron identificadas gracias a mapas de parcelación ya integrados en FSLEyes, la herramienta de visualización de imágenes y resultados de FSL.

Además de otras fuentes bibliográficas, para estudiar las funciones asociadas a cada región cerebral de interés, además de sus conexiones y otras características, se recurrió a los capítulos 2 a 9 del libro *A Connectomic Atlas of the Human Cerebrum* (Baker *et al.*, 2018).

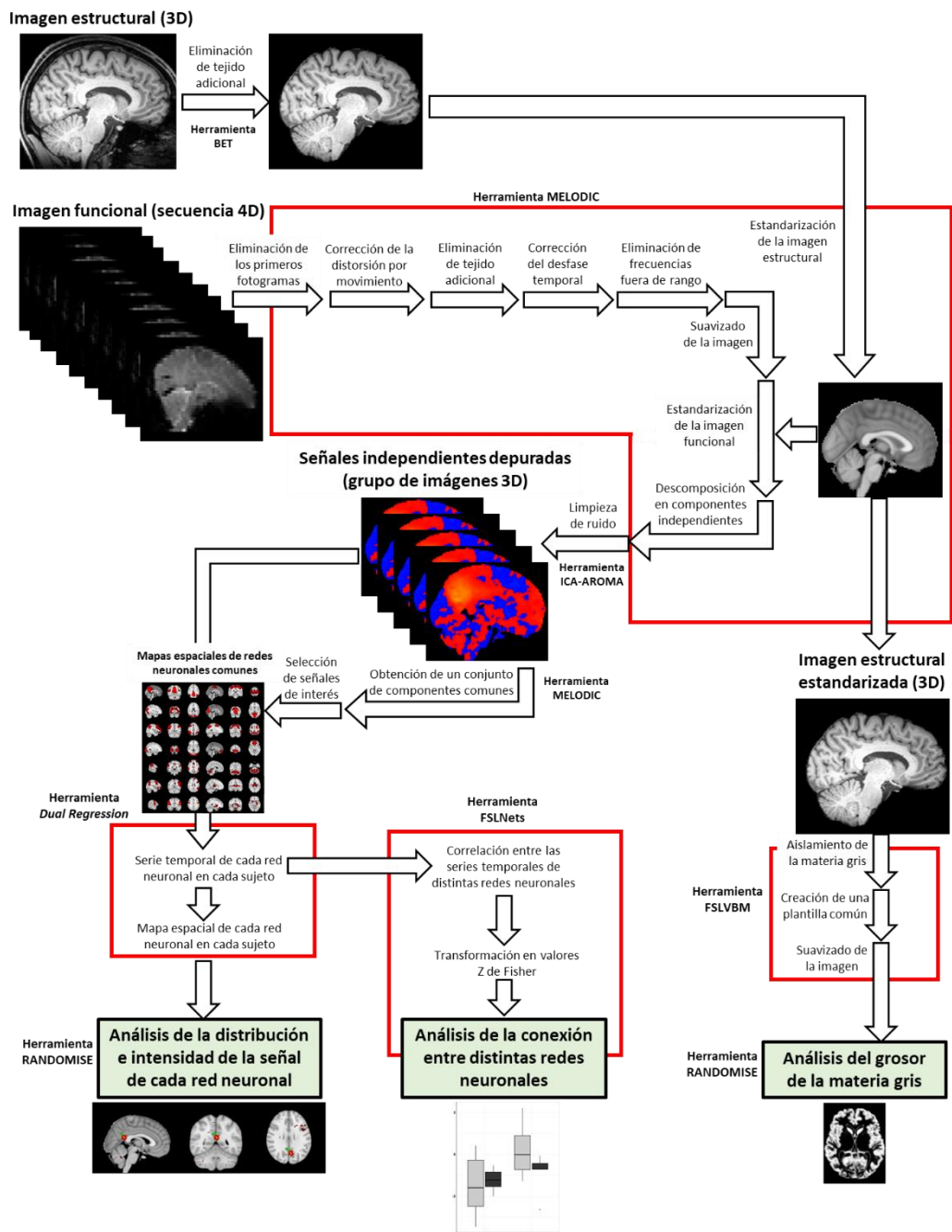


Figura 34. Diagrama de flujo resumen de los pasos seguidos durante el procesamiento y análisis de las imágenes de resonancia magnética.

6. Metodologías y herramientas estadísticas

Comparaciones realizadas entre grupos

Para todos los datos recopilados a lo largo de este estudio, y según la disponibilidad de los mismos en cada grupo de estudio, se llevaron a cabo, esencialmente, las siguientes comparaciones:

- Estudio de las diferencias en la ejecución de los test psicométricos y movimientos oculares entre controles sanos, pacientes sin EHM y pacientes con EHM.
- Estudio de los efectos de la rifaximina sobre el conjunto de los pacientes tratados, comparando las diferencias entre los pacientes antes y después del tratamiento.
- Estudio de los efectos diferenciales de la rifaximina en los pacientes tratados, según si pertenecían al grupo de pacientes *Responder* o *Non-responder*, comparando las diferencias en la evolución de cada grupo de respuesta.
- Estudio de las diferencias preexistentes entre pacientes tratados con rifaximina, según si pertenecían al grupo de pacientes *Responder* o *Non-responder*, comparando las diferencias en el estado basal de cada grupo de respuesta.
- Estudio de las diferencias existentes entre controles sanos y pacientes con EHM que han respondido satisfactoriamente al tratamiento con rifaximina, tomando como referencia las observaciones de García-García en estudios previos (García-García *et al.*, 2017).

En las comparaciones en que fue factible se incluyeron el género y/o la edad de los sujetos como covariables para estudiar su efecto sobre las variables analizadas.

Métodos de análisis univariante

Los principales análisis estadísticos fueron realizados usando modelos lineales generales. En los casos en que fue posible, en las comparaciones estadísticas que incluían más de 2 grupos de estudio se usó ANOVA, ANOVA de Welch o Kruskal-Wallis, según si la distribución de los datos a analizar cumplía los principios de parametricidad y/o homocedasticidad. De forma similar, y también según las características de la distribución de los datos, en los casos que incluían solamente 2 grupos de estudio se usó el test de la T o el test de Mann-Whitney. En los casos en que hizo falta llevar a cabo

análisis longitudinales, en los que se comparaba el estado de un mismo conjunto de pacientes antes y después de su tratamiento con Rifaximina, se tuvo en cuenta esta longitudinalidad a la hora de diseñar los modelos estadísticos usados, incluyendo el uso del test de Wilcoxon como alternativa al test de Mann-Whitney.

Para cada conjunto de datos, y para cada análisis realizado sobre los mismos, se llevó a cabo una corrección FWE, ya presentada en el apartado 5.2, o de Benjamini y Hochberg, sobre los p valores obtenidos, según lo permitiesen las características del software y el análisis realizado. En consecuencia, los resultados de cualquier análisis se consideraron como estadísticamente significativos únicamente si $p < 0,05$ tras aplicar la corrección pertinente.

Análisis de correlación y búsqueda de patrones de similitud

Sobre los datos estudiados también se llevaron a cabo análisis de correlación de Spearman para determinar si datos pertenecientes a distintas facetas de estudio mostraban similitudes en su distribución o evolución. En los casos en que la muestra incluía medidas realizadas sobre los mismos pacientes antes y después del tratamiento se recurrió a la correlación ajustada para medidas repetidas de Backdash y Marusich (Backdash y Marusich, 2017), que evalúa la similitud en los patrones de evolución de las variables correlacionadas teniendo en cuenta el sujeto estudiado como factor.

En estos análisis también se aplicaron correcciones a los p valores obtenidos, similares a las descritas en la sección de análisis univariante.

Análisis del poder discriminatorio de las variables

Para determinar la capacidad de una determinada variable para discriminar correctamente los distintos grupos de sujetos analizados se realizó un análisis de curvas ROC (*del inglés, Receiver Operating Characteristic*), y se obtuvo el área bajo la curva (AUC). Estos análisis fueron, en todos los casos, acompañados de medidas de sensibilidad y especificidad.

Exploración de la distribución de la muestra mediante aprendizaje no supervisado

Con el objetivo de encontrar patrones comunes de distribución dentro de los conjuntos de datos de gran dimensionalidad con los que se trabajó durante esta tesis, se recurrió a modelos de aprendizaje automático no supervisado. Los algoritmos no supervisados se usan para explorar la estructura inherente en conjuntos de datos sin etiquetas

predefinidas (por ejemplo, la pertenencia a un grupo de pacientes u otro). Estas técnicas sirven para descubrir, mediante la identificación de similitudes o diferencias entre sujetos, la existencia de patrones, relaciones o agrupamientos presentes en los datos que, debido a la existencia de una gran cantidad de variables, pueden permanecer ocultos si se usa otro tipo de análisis más clásicos.

Existen múltiples métodos de aprendizaje no supervisado, como el análisis de componentes principales (PCA) (Jolliffe y Cadima, 2016), al que se recurrió en este estudio. Esta técnica se usa para reducir la dimensionalidad en el análisis de conjuntos de datos de alta complejidad, y su objetivo es la transformación de dicho conjunto de datos multivariado para la obtención de variables linealmente independientes, llamadas componentes principales. Estas componentes principales resultan de la combinación lineal de las variables originales, y se ordenan según la cantidad de varianza original de los datos que retienen, siendo el primer componente el que más varianza de la muestra explica.

El objetivo de aplicar PCA fue la proyección de los datos de estudio en un espacio de menor dimensionalidad que mantuviese la mayor cantidad posible de información relevante; facilitando así la visualización, el análisis, y la interpretación de dichos datos. Para la visualización de estos análisis se recurrió los gráficos de dispersión generados con las dos primeras componentes principales.

Para realizar el análisis de componentes principales se recurrió a la función *prcomp* (Becker *et al.*, 1988), incluida en el lenguaje de programación R, y todas las variables usadas fueron previamente estandarizadas.

Exploración de la separación entre pacientes mediante aprendizaje supervisado

Con el objetivo de estudiar que variables presentaban un mayor peso a la hora de distinguir a pacientes con EHM y sin EHM, se recurrió a modelos de aprendizaje automático supervisado. A diferencia de los algoritmos no supervisados descritos previamente, los algoritmos supervisados requieren, explícitamente, de la etiquetación previa de los datos proporcionados, para así poder entrenar modelos predictivos y de clasificación.

La técnica de aprendizaje supervisado usada en este caso fue el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) (Tenenhaus *et al.*, 2005). Esta es una técnica de análisis multivariado que combina el PCA con un modelo de regresión logística, para

así clasificar a las muestras en distintos grupos o categorías. En el contexto del PLS-DA, el objetivo es el hallazgo de relaciones lineales entre un conjunto de variables predictoras y una variable dependiente de naturaleza categórica, como el grupo al que pertenece un paciente.

El objetivo de aplicar PLS-DA fue la reducción de la dimensionalidad de la muestra, además de hallar la distribución que optimizase la separación entre grupos. Como resultado de esta técnica se obtuvieron gráficos que mostraban la distribución de los sujetos del estudio dentro del espacio generado por las componentes principales.

Como parte de esta metodología, también se obtuvo información del papel y relevancia de cada una de las variables originales que fueron combinadas para obtener las componentes principales resultantes. Para ejemplificar dicha relevancia en la separación de los grupos estudiados se recurrió al peso de las variables originales en el análisis PLS-DA, un valor numérico proporcionado por esta metodología. Cuanto mayor es el valor numérico absoluto del peso de una variable, más relevante es su aportación a la combinación de variables necesaria para generar las componentes principales y, por tanto, a la separación entre grupos. Según si la aportación de una variable a las componentes del análisis PLS-DA es positiva o negativa, el peso de la misma será mayor o menor que 0, respectivamente. Si la aportación de una variable a la componente 1 es positiva, su peso en dicha componente será superior a 0, y cuanto mayor sea el valor que presenta un sujeto en dicha variable, mayor será también el valor de dicho sujeto en la componente 1. Por el contrario, si la aportación de una variable es negativa, su peso será inferior a 0, y cuanto mayor sea el valor de dicha variable en un sujeto, menor será el valor de dicho sujeto en la componente correspondiente.

Para realizar el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales se recurrió a la función *plsda*, incluida en el paquete *mixOmics* (versión 6.24.0) para el lenguaje de programación R (Rohart *et al.*, 2017), y todas las variables usadas fueron previamente estandarizadas.

Técnicas de imputación

Debido a la naturaleza de las técnicas PCA y PLS-DA previamente descritas, que requieren de un conjunto de datos sin valores perdidos, fue necesario llevar a cabo un proceso de imputación para los valores perdidos en los datos de movimientos oculares usados en estos análisis (Rubin, 1987; Lall, 2017).

Para llevar a cabo dicha imputación se recurrió a la imputación múltiple con ecuaciones encadenadas (MICE). La imputación múltiple es un método que aborda el problema de los valores perdidos en un conjunto de datos generando múltiples conjuntos de datos completos, cada uno con valores imputados de forma distinta. Luego, los resultados obtenidos se combinan para obtener estimaciones finales que reflejen la incertidumbre de la imputación. Para llevar a cabo esta imputación se utilizó el método *Predictive mean matching* (Morris *et al.*, 2014), presente en la herramienta *mice* del paquete homónimo para el lenguaje de programación R (van Buuren y Groothuis-Oudshoorn, 2011).

Como parte del estricto control de calidad necesario para asegurar que la imputación realizada era correcta, y que los datos resultantes eran similares a los datos iniciales, solamente se incluyó a los sujetos con un porcentaje de valores perdidos menor al 30%, y que habían podido completar con éxito todas las pruebas de movimientos oculares. Los sujetos que no cumplían estos requisitos fueron eliminados del proceso de imputación y, por consiguiente, de los análisis realizados con modelos de aprendizaje automático ya descritos. Adicionalmente, gracias a que se realizó una imputación múltiple, fue posible comprobar que la distribución de los datos permanecía estable a lo largo de varias iteraciones, y que su distribución no difería de la distribución de los datos originales (Figura 35).

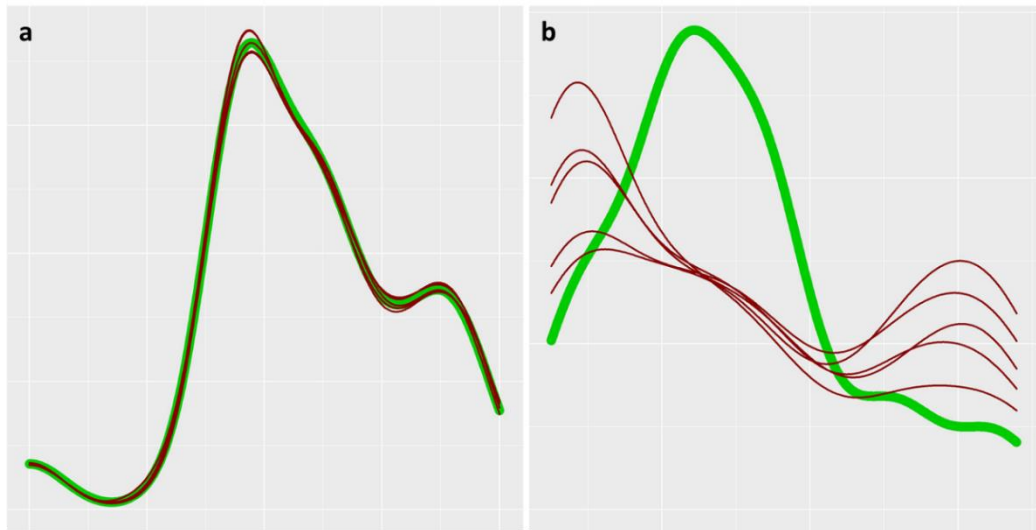


Figura 35: Ejemplos de imputaciones de buena y mala calidad. Gráficos de densidad representando las diferencias observadas entre una variable bien imputada (a), y una mal imputada (b). Mientras que en la imputación de buena calidad la distribución de valores de los sujetos tras cada una de las imputaciones (líneas rojas) permanece estable y tiene un patrón muy similar al de la muestra original (línea verde); en la imputación de mala calidad (b) la distribución de valores de cada imputación varía drásticamente respecto de las demás, y respecto de la distribución original de valores.

Herramientas informáticas

A excepción de aquellos análisis que, debido a sus requerimientos computacionales o características inherentes, se realizaron con el programa FSL, todo el procesamiento de datos y análisis estadístico de los mismos se llevó a cabo usando el lenguaje de programación R en sus versiones 3.6 a 4.3 (R core team, 2023). En la Tabla 5 se indican los paquetes de R usados en estos análisis.

Tabla 5. Paquetes de R usados. Versiones de los paquetes de R usados en este estudio, además de las referencias correspondientes.

Paquete	Versión	Referencia	Uso
ggplot2	3.4.2	Wickham, 2016	Elaboración de figuras y representaciones gráficas
lme4	1.1-33	Bates <i>et al.</i> , 2015	Análisis estadístico usando modelos lineales generales
mice	3.16.0	van Buuren y Groothuis-Oudshoorn, 2011	Técnicas de imputación múltiple
mixOmics	6.24.0	Rohart <i>et al.</i> , 2017	Técnicas de aprendizaje supervisado
rmcorr	0.5.4	Backdash y Marusich, 2017	Análisis de correlación con medidas repetidas

V. Resultados

1. Estudio de los movimientos oculares en pacientes con encefalopatía hepática mínima

En este estudio se caracterizaron las alteraciones de los movimientos oculares sufridas por los pacientes con encefalopatía hepática mínima (EHM)

De la muestra completa de sujetos reclutados, que incluía 124 pacientes con cirrosis y 35 Controles, se descartaron 6 pacientes con EHM, debido a una mala ejecución del conjunto de test de movimientos oculares o a un error de medición por parte del dispositivo. Estos 6 sujetos, no obstante, participaron en el estudio descrito en el apartado 2 de Resultados.

1.1. Características demográficas y etiológicas de la muestra de estudio

A partir de los datos disponibles de los sujetos del estudio fue posible conocer las características demográficas y etiológicas de la muestra a analizar, y de los distintos grupos que la componen. Toda la información presentada en este apartado se encuentra en la Tabla 6.

Ninguno de los grupos de estudio mostró diferencias significativas en la edad media de sus participantes, encontrándose esta entre los 60 y los 65 años en todos los casos. En el caso de los años de formación académica, por el contrario, sí se observó que los pacientes con EHM mostraban valores significativamente más bajos que los sujetos sanos ($p = 0,013$).

En todos los grupos se observó una mayor proporción de participantes masculinos. Esta proporción estaba más equilibrada en el grupo de controles que en los dos grupos de pacientes con cirrosis.

En cuanto a las características etiológicas de los pacientes, se observó una predominancia de cirrosis derivadas del consumo de alcohol, seguidas por las cirrosis debidas al virus de la hepatitis y aquellas causadas por trastornos metabólicos, como la esteatosis hepática no alcohólica (EHNA).

Al estudiar la severidad de la cirrosis de los pacientes mediante las escalas Child-Pugh y MELD se observó una situación similar en pacientes con y sin EHM. Ambos grupos

presentaban una puntuación MELD media de alrededor de 9, y una predominancia de pacientes con una cirrosis compensada (grupo A en la escala Child-Pugh), seguidos de una pequeña proporción de pacientes cuya función hepática se encontraba comprometida (grupo B en la escala Child-Pugh).

Tabla 6. Características demográficas y etiológicas de la muestra del estudio de movimientos oculares.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM
Número de sujetos (Hombre/Mujer)	35 (23/12)	86 (71/15)	32 (23/9)
Edad ^(a)	62,1 ± 9,3 (35-77)	60,8 ± 8,5 (42-80)	65 ± 8,5 (48-77)
Años de formación académica ^(a)	13,4 ± 3,9	12,2 ± 3,8	10,3 ± 4,9 *
Etiología			
Alcohol	-	37	13
VHB/VHC	-	26	8
Hígado graso no alcohólico (EHNA/EHGNA)	-	19	8
Otras etiologías	-	4	3
Puntuación Child-Pugh (A/B/C)	-	70/16/0	24/8/0
Puntuación MELD ^(a)	-	8,9 ± 2,9	9,2 ± 2,2

(a) Todas las variables mostraron una distribución paramétrica. Los valores se expresaron como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se usaron ANOVA de una vía, seguido del test post-hoc de Tukey. *: indica un $p < 0,05$ para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y los sujetos Control. En la línea de edad, entre paréntesis, se muestra el rango de edad de cada grupo. A partir de la puntuación Child-Pugh de un paciente se puede considerar su cirrosis más o menos severa (grupos A, B y C en orden ascendente de severidad). La puntuación MELD (*model end stage liver disease*) es también indicativa de una mayor severidad según aumenta su valor. EHM: encefalopatía hepática mínima. EHNA: esteatohepatitis no alcohólica. EHGNA: enfermedad del hígado graso no alcohólico. VHB, VHC: virus de la hepatitis B y C, respectivamente.

1.2. Parámetros bioquímicos e inflamatorios de la muestra de estudio

A partir de las medidas realizadas de los niveles en sangre de amonio y citocinas proinflamatorias fue posible estudiar la hiperamonemia y el estado inflamatorio de los distintos grupos de estudio. Toda la información presentada en este apartado se encuentra en la tabla 7.

En la mayoría de casos se observaron niveles significativamente alterados en los pacientes con cirrosis al compararlos con sujetos sanos, independientemente de si estos pacientes sufrían EHM o no. Estas alteraciones se observaron en los niveles de amonio, CCL20, CCL5, IL-6 e IL-18. Con la excepción del amonio, en ninguno de estos parámetros se observaron diferencias significativas entre los pacientes con y sin EHM.

Al comparar a los pacientes con y sin EHM se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los niveles de amonio y de CX3CL1. En ambos casos, los pacientes con EHM mostraron niveles significativamente más altos que los pacientes sin EHM, cuyos niveles eran, a su vez, más altos que los de los sujetos sanos.

Aunque no se observaron diferencias significativas entre grupos al analizar los niveles de IL-15 e IL-22, en ambos casos los pacientes con EHM mostraron niveles ligeramente alterados en comparación con los pacientes sin EHM y los sujetos sanos. Los pacientes sin EHM, a su vez, mostraron sutiles diferencias, pero menos pronunciadas que las de los pacientes con EHM, al compararlos con los sujetos sanos.

En el caso de los niveles de CXCL13 tampoco se observaron diferencias significativas entre grupos, pero los pacientes sin EHM mostraron niveles más alterados que los pacientes con EHM en comparación con los sujetos control.

Tabla 7. Niveles de las distintas determinaciones bioquímicas realizadas en sangre de los sujetos del estudio de movimientos oculares.

	Controles sanos	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Amonio	10,8 (6,2)	15,6 (33,7) *	37,3 (51,4) *** α	0,005
CCL20	8 (9,44)	24 (28,1) **	19,9 (29,7) *	0,013
CCL5	9160 (5563)	4159 (4891) **	5116 (4086) **	0,015
CXCL13	58,8 (16,4)	120 (99,8)	78,8 (63,6)	ns
CX3CL1	259 (459)	372 (263)	553 (388) ** $\alpha\alpha\alpha$	0,005
IL-6	1,31 (1)	2,15 (5,3) **	2,29 (1,31) **	0,01
IL-15	5,74 (9,84)	6,43 (14,5)	8,85 (9,15)	ns
IL-18	123 (86,5)	295 (333) ***	294 (391) ***	<0,001
IL-22	56,2 (38,1)	31,4 (53,6)	23,3 (56,3)	ns

Todas las variables mostraron una distribución no paramétrica. Los valores se presentan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores se corrigieron usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y los sujetos control. α : indica un p valor entre 0,01 y 0,05 (α) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y con EHM. Salvo el Amonio, medido en μM , todas las demás variables fueron medidas en pg/ml. EHM: encefalopatía hepática mínima.

1.3. Estado de las capacidades cognitivas y motoras de la muestra de estudio

Gracias a la realización de los diferentes test psicométricos, explicados en detalle en el apartado 3 de Materiales y Métodos, fue posible evaluar con precisión el estado de las capacidades cognitivas y motoras de los sujetos del estudio. Toda la información presentada en este apartado se encuentra en las tablas 8 y 9.

Es importante destacar, en primer lugar, que la propia batería PHES fue la herramienta usada para indicar si los pacientes sufrían EHM ($\text{PHES} \leq -4$) o no ($\text{PHES} > -4$). Debido a esto, se generó una separación clara entre las puntuaciones obtenidas por los pacientes con EHM y los otros dos grupos de estudio, tanto en la puntuación global de la batería PHES como en todos los subtest de la misma, en los que los pacientes con EHM mostraron un peor rendimiento. Esta separación fue, en todos los casos, estadísticamente significativa (Tabla 8).

También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes sin EHM y los controles, cuya separación no dependía de ningún parámetro psicométrico. Estas diferencias se observaron, tanto en la puntuación global de la batería PHES, como en la puntuación de los subtest DST, NCT-B y SD. En todos estos casos el rendimiento de los pacientes sin EHM fue peor que el de los controles.

Atención selectiva y concentración

Para evaluar la atención selectiva de los pacientes, y su capacidad para mantener la concentración, se recurrió a los test Stroop, SDMT Oral y d2. En todos los test, y en prácticamente todas las valoraciones y tareas incluidas en cada uno de estos test, se observó un peor rendimiento en los pacientes con EHM, tanto al compararlos con los controles como con los pacientes sin EHM. Este empeoramiento se detectó en todas las tareas del test Stroop, y en los resultados del test SDMT Oral (Tabla 8).

En el caso de la prueba d2, el rendimiento empeorado de los pacientes con EHM se observó tanto en la cantidad de ítems procesados correctamente (d2 TA) como en la cantidad de ítems procesados en general (d2 TR). La cantidad de errores por comisión cometidos (d2 C), además de los índices de efectividad total y de concentración (d2 TOT y d2 CON) también presentaron peores valores en los pacientes con EHM (Tabla 8).

De forma similar, pero no tan notoria ni generalizada, se observó un rendimiento significativamente peor en los pacientes sin EHM al compararlos con los controles. En este caso, no obstante, la única tarea del test Stroop con una reducción significativa del rendimiento con respecto a los controles fue la tarea neutra, en la que los sujetos debían decir de qué color son las figuras que se les presentan. Asimismo, los pacientes sin EHM tampoco mostraron una cantidad de errores por comisión mayor que la de los controles en el test d2. El resto de medidas obtenidas en el test d2, y los resultados del test SDMT Oral, sí fueron significativamente peores en los pacientes sin EHM en comparación con los controles.

El único caso en el que no se observaron diferencias significativas entre ninguno de los grupos fue al medir el número de errores por omisión que cometían los sujetos en el test d2 (d2 O), aunque los resultados obtenidos por los pacientes con EHM fueron ligeramente peores que los de los pacientes sin EHM, cuyos resultados fueron, a su vez, peores que los de los controles.

Con estas pruebas, adicionalmente, se evaluaron otras capacidades, tales como la flexibilidad cognitiva y capacidad inhibitoria en el test Stroop, la velocidad de procesamiento en los test SDMT Oral y d2, o la capacidad para mantener estas funciones de forma sostenida en el test d2.

Memoria de trabajo

En el caso de la memoria de trabajo se utilizó una selección de subtest de la batería WAIS: el test de dígitos directos, el de dígitos inversos, y el de letras y números. En todos ellos se observó un número significativamente menor de respuestas correctas por parte de los pacientes con EHM al compararlos con cualquiera de los otros dos grupos de estudio. También se observó un empeoramiento significativo al comparar a los pacientes sin EHM con los controles, aunque mucho menos notable que en el caso de los pacientes con EHM (Tabla 9).

Coordinación motora

Finalmente, para evaluar la coordinación motora de los sujetos se utilizaron los test de coordinación bimanual y visomotora de Yela. En ambos casos, los pacientes con EHM necesitaron una cantidad de tiempo significativamente mayor que los pacientes sin EHM o los controles para completar cualquiera de las dos pruebas. Igualmente, los pacientes sin EHM mostraron también una ejecución significativamente más lenta que los controles, aunque no tanto como los pacientes con EHM (Tabla 9).

Tabla 8. Puntuaciones obtenidas en los test psicométricos realizados por los sujetos del estudio de movimientos oculares.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Batería PHES				
Puntuación global PHES ^(a)	1 (1)	0 (2) *	-5 (4,5) *** ααα	<0,001
DST (respuestas correctas) ^(b)	39,7 ± 12,2	33,3 ± 10,5 *	18,2 ± 6,9 *** ααα	<0,001
NCT-A (segundos) ^(a)	30 (16)	35 (18,2)	81 (53) *** ααα	<0,001
NCT-B (segundos) ^(a)	68 (44)	97 (56) *	208 (116) *** ααα	<0,001
SD (segundos) ^(a)	59 (18)	69 (32) **	110 (48) *** ααα	<0,001
LTT (segundos+errores) ^(a)	110 (45)	119 (46)	194 (72) *** ααα	<0,001
Test Stroop				
Tarea congruente (ítems completados) ^(b)	108 ± 16	100 ± 19	78 ± 15 *** ααα	<0,001
Tarea neutra (ítems completados) ^(b)	83,9 ± 11,4	74,4 ± 12,5 **	56,8 ± 9,3 *** ααα	<0,001
Tarea incongruente (ítems completados) ^(b)	46,3 ± 10,5	41,5 ± 10,4	30 ± 7,9 *** ααα	<0,001
SDMT Oral (respuestas correctas) ^(b)	50,1 ± 11	40,1 ± 10,2 ***	23,4 ± 9,7 *** ααα	<0,001
Test d2				
TR ^(b)	407 ± 94	326 ± 82 ***	245 ± 76 *** ααα	<0,001
TA ^(b)	158 ± 36	121 ± 33 ***	83 ± 34 *** ααα	<0,001
O ^(a)	8,5 (10)	10 (17)	12 (16)	ns
C ^(a)	1 (2)	1 (4)	6 (20) ** αα	0,002
TOT ^(b)	391 ± 90	306 ± 83 ***	209 ± 77 *** ααα	<0,001
CON ^(b)	156 ± 37	117 ± 36 ***	68 ± 44 *** ααα	<0,001

(a): En las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron con el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. (b): en las variables con una distribución paramétrica los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando ANOVA de una vía, seguido del test post-hoc de Tukey. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. PHES: *Psychometric hepatic encephalopathy score*. DST: *Digit symbol test*. NCT-A: *Number connection test A*. NCT-B: *Number connection test B*. SD: *Serial dotting*. LTT: *Line tracking test*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α: indica un $p < 0,01$ (αα) o $p < 0,001$ (ααα) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

Tabla 9. Puntuaciones obtenidas en los test de memoria y coordinación realizados por los sujetos del estudio de movimientos oculares.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Subtest de la batería WAIS				
Test de dígitos directo (respuestas correctas) ^(a)	9 (3,2)	8 (3) *	6 (2) *** $\alpha\alpha\alpha$	<0,001
Test de dígitos inverso (respuestas correctas) ^(a)	6 (3,2)	5 (2) *	4 (2) ** α	0,005
Test de letras y números (respuestas correctas) ^(b)	9,75 $\pm$ 2,23	6,88 $\pm$ 3,03 ***	4,85 $\pm$ 3,21 *** $\alpha\alpha$	<0,001
Test de coordinación de Yela				
Coordinación Bimanual (minutos) ^(a)	2,12 (0,39)	2,31 (0,44) *	3,04 (0,72) *** $\alpha\alpha\alpha$	<0,001
Coordinación Visomotora (minutos) ^(a)	2,33 (0,46)	2,6 (0,56) **	3,88 (1,42) *** $\alpha\alpha\alpha$	<0,001

(a): En las variables con una distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. (b): en las variables con una distribución paramétrica los valores se expresan como Media $\pm$ Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando ANOVA de una vía, seguido del test post-hoc de Tukey. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *WAIS: Wechsler adult intelligence scale*. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α), $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) o $p < 0,001$ ($\alpha\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

1.4. Alteraciones de los movimientos oculares

Para el estudio de las alteraciones que los pacientes con EHM sufren en sus movimientos oculares se recurrió a un conjunto de 10 test, que incluyen un total de 164 variables, realizados con un dispositivo de seguimiento ocular basado en video-oculografía. Estos test se describen en detalle en el apartado 4 de la sección de Materiales y Métodos.

Además de tener en cuenta el grupo de análisis al que pertenecían los sujetos del estudio (Controles, pacientes sin EHM y pacientes con EHM) también se incluyeron la edad y el género de los sujetos como covariables a tener en cuenta. No obstante, en ningún caso se observó un efecto significativo de la edad, ni diferencias significativas entre hombres y mujeres.

1.4.1. Test de sácdas visuales

En los test de sácdas visuales el sujeto debía dirigir la mirada, en todo momento, hacia la posición en la que se encontraba el estímulo visual, que saltaba a intervalos regulares entre una posición central y una periférica. Se realizó una versión horizontal del test, cuyos resultados se exponen en la Tabla 10, y otra vertical, cuyos resultados se exponen en la Tabla 11.

En ambas versiones del test se observó un aumento significativo de la latencia en los pacientes con EHM, en comparación tanto con los pacientes sin EHM como con los controles. Este aumento de la latencia se observó también en los movimientos sacádicos de retorno (movimientos de la mirada desde la periferia hacia el centro). En el caso de los movimientos sacádicos de retorno de la versión vertical del test, no obstante, los pacientes sin EHM también mostraron un aumento significativo de la latencia en comparación con los controles, y los pacientes con EHM, a su vez, vieron aumentada su latencia en comparación con los pacientes sin EHM. De forma más limitada, también se observó un aumento de la desviación típica de la latencia en la versión horizontal del test en los pacientes con EHM, al compararlos con los otros dos grupos de estudio (Tabla 10). Esta desviación típica aumentada se observó también en la latencia de los movimientos sacádicos de retorno, aunque solamente fue significativamente superior en la versión vertical del test, donde todos los pacientes mostraron una desviación típica aumentada respecto de los controles (Tabla 11).

Los pacientes con EHM mostraron una disminución de la velocidad máxima de los movimientos sacádicos. No obstante, dicha disminución solamente fue estadísticamente significativa en los movimientos sacádicos principales (movimientos de la mirada desde el centro hacia la periferia) de la versión vertical del test. En este caso específico, los pacientes sin EHM también mostraron una velocidad máxima disminuida en comparación con los controles.

No se observaron diferencias significativas en la ganancia, pero sí se observó un ligero aumento del error positivo de la mirada (error cuando la mirada sobrepasa al estímulo visual) en la versión horizontal del test en los pacientes con EHM con respecto a los pacientes sin EHM.

Tabla 10. Test de sácdas visuales horizontales. Valores de los parámetros del test de sácdas visuales horizontales obtenidos en los distintos grupos de estudio.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Latencia media (ms)	225 (26)	230 (36)	247 (61) * α	0,048
Desviación típica de la latencia (ms)	38 (20)	35 (25)	49 (51) ** $\alpha\alpha$	0,007
Ganancia media	1,03 (0,08)	1,03 (0,05)	1,05 (0,07)	ns
Desviación típica de la ganancia	0,071 (0,055)	0,071 (0,082)	0,082 (0,054)	ns
Velocidad máxima media (°/s)	340 (151)	348 (113)	322 (119)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima (°/s)	137 (63)	134 (57)	130 (53)	ns
Error positivo medio (°)	0,555 (0,476)	0,52 (0,361)	0,791 (0,801) α	ns
Desviación típica del error positivo (°)	0,307 (0,28)	0,325 (0,308)	0,487 (0,33)	ns
Error negativo medio (°)	-0,18 (0,228)	-0,27 (0,561)	-0,33 (0,671)	ns
Desviación típica del error negativo (°)	0,187 (0,334)	0,186 (0,326)	0,184 (0,366)	ns
Recuento de parpadeos	2 (6)	1 (5)	4 (7)	ns
Recuento de sácdas anticipadas	0 (1)	0 (1)	1 (1)	ns
Latencia media de retorno (ms)	201 (34)	212 (33)	239 (47) ** α	0,019
Desviación típica de la latencia de retorno (ms)	32 (20)	34 (19)	42 (33)	ns
Velocidad máxima de retorno media (°/s)	373 (138)	331 (114)	315 (95)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima de retorno (°/s)	162 (70)	161 (57)	156 (49)	ns

Todas las variables mostraron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*) o $p < 0,01$ (**) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α) o $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

Tabla 11. Test de sácadas visuales verticales. Valores de los parámetros del test de sácadas visuales verticales obtenidos en los distintos grupos de estudio.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Latencia media (ms)	247 (33)	255 (38)	276 (56) ** α	0,017
Desviación típica de la latencia (ms)	45 (23)	41 (27)	46 (23)	ns
Ganancia media	1,036 (0,081)	1,026 (0,086)	1,011 (0,096)	ns
Desviación típica de la ganancia	0,109 (0,105)	0,123 (0,092)	0,115 (0,119)	ns
Velocidad máxima media (°/s)	272 (61)	254 (78) *	234 (100) *	0,047
Desviación típica de la velocidad máxima (°/s)	88 (46)	93 (59)	86 (48)	ns
Error positivo medio (°)	0,64 (0,456)	0,515 (0,518)	0,548 (0,682)	ns
Desviación típica del error positivo (°)	0,382 (0,398)	0,281 (0,333)	0,341 (0,264)	ns
Error negativo medio (°)	-0,27 (0,2)	-0,32 (0,484)	-0,37 (0,577)	ns
Desviación típica del error negativo (°)	0,228 (0,297)	0,182 (0,312)	0,199 (0,26)	ns
Recuento de parpadeos	2 (2)	2 (4)	3 (5)	ns
Recuento de sácadas anticipadas	0 (0)	0 (1)	0 (1)	ns
Latencia media de retorno (ms)	221 (39)	237 (48) **	261 (52) *** $\alpha\alpha$	<0,001
Desviación típica de la latencia de retorno (ms)	30 (19)	38 (30) **	42 (40) **	0,006
Velocidad máxima de retorno media (°/s)	256 (77)	250 (101)	231 (106)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima de retorno (°/s)	91 (39)	94 (40)	81 (45)	ns

Todas las variables mostraron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α) o $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

1.4.2. Test de sácadass de memoria

En los test de sácadass de memoria el sujeto debía dirigir la mirada hacia el último punto de la periferia en el que hubiese visto el estímulo visual en el momento en que este desapareciese de la pantalla. Los resultados de estos test se exponen en las tablas 12 y 13 para las versiones horizontal y vertical, respectivamente.

De forma similar a los test de sácadass visuales, en ambas versiones de los test de sácadass de memoria se observó un aumento significativo de la latencia en todos los pacientes, independientemente de si sufrían o no deterioro cognitivo. Adicionalmente, en la versión vertical los pacientes con EHM mostraron una latencia significativamente mayor que la de los pacientes sin EHM (Tabla 13). Este aumento de la latencia se observó también en la latencia de los movimientos sacádicos de retorno, aunque dicho aumento solamente llegó a ser significativo en la versión vertical del test, y en todos los pacientes, independientemente de su deterioro cognitivo, al compararlos con los controles.

Se detectó un aumento similar de la desviación típica de la latencia de los movimientos sacádicos principales en la versión vertical del test, que fue significativo al comparar a cualquiera de los dos grupos de pacientes con los controles (Tabla 13). En la versión horizontal del test se halló la misma alteración, aunque en este caso el incremento fue significativo solamente al comparar a los pacientes sin EHM con los controles (Tabla 12).

Se observó una disminución de la velocidad máxima en los pacientes, tanto de los movimientos sacádicos iniciales como de los de retorno, en ambas versiones del test. Estas alteraciones, no obstante, en ningún caso llegaron a ser estadísticamente significativas.

En la versión horizontal del test se observó una diferencia significativa entre los pacientes con EHM y los controles al analizar la ganancia media de los movimientos sacádicos (Tabla 12). En este caso, mientras que los controles mostraron una ligera tendencia a posicionar su mirada más allá de la posición óptima, los pacientes con EHM mostraron la tendencia contraria. Adicionalmente, se observó un aumento del error negativo medio de todos los pacientes en ambas versiones del test. Este aumento, no obstante, solamente fue significativo durante la versión vertical del test al comparar a los pacientes sin EHM con los controles. También en la versión vertical del test se observó un aumento significativo del error positivo en los pacientes con EHM con

respecto a los pacientes sin EHM, pero no con respecto a los controles, que mostraron resultados intermedios en este parámetro (Tabla 13).

Los pacientes con EHM mostraron, también, un menor número de movimientos sacádicos realizados correctamente en ambas versiones del test.

Tabla 12. Test de sácdas de memoria horizontales. Valores de los parámetros del test de sácdas de memoria horizontales obtenidos en los distintos grupos de estudio.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Latencia media (ms)	288 (88)	323 (136) **	372 (168) **	0,002
Desviación típica de la latencia (ms)	83 (85)	121 (121) *	127 (92)	0,039
Ganancia media	1,046 (0,131)	1,01 (0,146)	0,971 (0,185) *	0,042
Desviación típica de la ganancia	0,156 (0,106)	0,165 (0,095)	0,162 (0,222)	ns
Velocidad máxima media (°/s)	324 (140)	325 (139)	300 (90)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima (°/s)	136 (63)	135 (60)	119 (84)	ns
Error positivo medio (°)	1,629 (1,333)	1,514 (1,091)	1,376 (0,545)	ns
Desviación típica del error positivo (°)	0,72 (0,868)	0,975 (0,662)	0,705 (0,447)	ns
Error negativo medio (°)	-0,78 (0,948)	-1,01 (1,124)	-1,11 (1,750)	ns
Desviación típica del error negativo (°)	0,779 (0,968)	0,665 (0,563)	1,224 (1,119)	ns
Recuento de parpadeos	4 (8)	4 (10)	7 (17)	ns
Recuento de sácdas anticipadas	3 (4)	1 (2)	2 (3)	ns
Recuento de sácdas correctas	11 (2)	10 (6)	4 (6) *** ^{aaa}	<0,001
Latencia media de retorno (ms)	285 (137)	287 (149)	326 (121)	ns
Desviación típica de la latencia de retorno (ms)	91 (74)	93 (94)	93 (91)	ns
Velocidad máxima de retorno media (°/s)	365 (199)	329 (170)	319 (118)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima de retorno (°/s)	170 (59)	162 (72)	134 (80)	ns

Todas las variables mostraron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. ^a: indica un $p < 0,001$ (^{aaa}) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

Tabla 13. Test de sácadas de memoria verticales. Valores de los parámetros del test de sácadas de memoria verticales obtenidos en los distintos grupos de estudio.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Latencia media (ms) ^(a)	244 (81)	314 (145) **	422 (248) *** $\alpha\alpha$	<0,001
Desviación típica de la latencia (ms) ^(a)	51 (56)	98 (142) *	150 (130) *	0,016
Ganancia media ^(a)	1,021 (0,189)	0,972 (0,21)	1,005 (0,291)	ns
Desviación típica de la ganancia ^(a)	0,134 (0,098)	0,168 (0,133)	0,241 (0,283)	ns
Velocidad máxima media (°/s) ^(a)	257 (71)	244 (100)	243 (129)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima (°/s) ^(a)	101 (56)	90 (36)	60 (102)	ns
Error positivo medio (°) ^(a)	1,512 (0,983)	0,977 (0,99)	2,128 (1,022) α	0,03
Desviación típica del error positivo (°) ^(a)	0,761 (0,517)	0,658 (0,65)	1,519 (1,383)	ns
Error negativo medio (°) ^(a)	-0,77 (0,902)	-1,20 (1,182) *	-1,08 (1,451)	ns
Desviación típica del error negativo (°) ^(a)	0,348 (0,566)	0,589 (0,539)	0,359 (0,726)	ns
Recuento de parpadeos ^(a)	5 (6)	4 (9)	6 (11)	ns
Recuento de sácadas anticipadas ^(a)	2 (3)	1 (3)	1 (1)	ns
Recuento de sácadas correctas ^(a)	8 (1)	7 (4) *	2 (3) *** $\alpha\alpha\alpha$	<0,001
Latencia media de retorno (ms) ^(a)	241 (91)	280 (131) *	317 (143) *	0,03
Desviación típica de la latencia de retorno (ms) ^(a)	70 (60)	64 (106)	130 (99)	ns
Velocidad máxima de retorno media (°/s) ^(b)	259 $\pm$ 74	235 $\pm$ 83	219 $\pm$ 107	ns
Desviación típica de la velocidad máxima de retorno (°/s) ^(a)	114 (74)	98 (40)	111 (43)	ns

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. (b): en las variables con distribución paramétrica, los valores se expresaron como Media $\pm$ Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando ANOVA de una vía, seguido del test post-hoc de Tukey. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α), $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$), o $p < 0,001$ ($\alpha\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

1.4.3. Test de antisácadas

En los test de antisácadas, siempre que el estímulo visual se desplazase hacia la periferia de la pantalla el sujeto debía fijar la mirada en el punto opuesto de la misma. Los resultados de estos test se muestran en las tablas 14 y 15 para la versión horizontal del test, y en las tablas 16 y 17 para la versión vertical.

Al estudiar la latencia de los movimientos antisacádicos se observó, nuevamente, un aumento significativo de la latencia en los pacientes con EHM al compararlos con los otros dos grupos de sujetos. Por el contrario, en los movimientos sacádicos de retorno, aunque todos los pacientes mostrasen una mayor latencia, dicho aumento solamente fue significativo en la versión horizontal del test al comparar a los pacientes sin EHM con los controles (Tabla 15). En la versión vertical del test, al comparar a los pacientes con y sin EHM, se observó que los primeros presentaban una desviación típica de la velocidad máxima de retorno significativamente mayor (Tabla 17).

En el caso de los movimientos sacádicos reflexivos (aquellos realizados instintivamente en la misma dirección que el estímulo visual en lugar de la contraria), se observó un aumento significativo de la latencia media de los pacientes con EHM, en comparación tanto con los pacientes sin EHM como con los controles. En la versión horizontal del test, la latencia de los pacientes sin EHM en estos movimientos específicos también fue significativamente mayor que la de los controles, aunque en menor medida que en los pacientes con EHM (Tabla 14). Estas alteraciones afectaron, también, a la desviación típica de la latencia de los pacientes con EHM en la versión horizontal del test.

También se detectó un aumento de la duración de estas sácadas reflexivas en todos los pacientes, pero especialmente aquellos con EHM, en ambas versiones del test. En la versión horizontal del test, esta duración también fue significativamente mayor en los pacientes sin EHM al compararlos con los controles, aunque no tanto como en los pacientes con EHM (Tabla 14). De forma más limitada, en la versión horizontal del test también se observó una mayor desviación típica de la duración de estas sácadas en los pacientes con EHM, en comparación con los otros dos grupos.

En cuanto a la precisión de los movimientos antisacádicos, en ambas versiones del test los pacientes con EHM mostraron niveles de error, tanto positivo como negativo, significativamente mayores que los de los pacientes sin EHM y controles (Tablas 14 y 16). Este aumento fue detectado también en la desviación típica de dichos parámetros. En

los pacientes sin EHM se observó un aumento limitado a la desviación típica del error positivo de la versión horizontal del test al compararlos con los controles (Tabla 14).

En cuanto al número de movimientos sacádicos de cada tipo realizados, los pacientes con EHM realizaron un número significativamente menor de antisácadas correctas en ambas versiones del test, en comparación con los otros dos grupos de estudio (Tablas 15 y 17). El menor número de antisácadas correctas quedó reflejado, a su vez, en el número significativamente mayor de antisácadas incorrectas y sácadas reflexivas de segundo orden realizadas por los pacientes con EHM en ambas versiones del test, y en el número significativamente menor de antisácadas corregidas en la versión vertical del test.

Tabla 14. Test de antisácadas horizontales (I). Valores los parámetros del test de antisácadas horizontales obtenidos en los distintos grupos de estudio (I).

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Latencia media (ms)	387 (91)	397 (183)	480 (444) ** α	0,029
Desviación típica de la latencia (ms)	82 (70)	77 (113)	81 (102)	ns
Latencia media de las sácadas reflexivas (ms)	550 (163)	613 (276) *	728 (360) *** $\alpha\alpha$	<0,001
Desviación típica de la latencia de las sácadas reflexivas (ms)	120 (69)	140 (148)	212 (92) ** α	0,022
Duración media de las sácadas reflexivas (ms)	194 (90)	237 (206) *	345 (286) *** α	<0,001
Desviación típica de la duración de las sácadas reflexivas (ms)	113 (73)	118 (148)	195 (91) * α	0,028
Error positivo medio (°)	2,09 (2,58)	2,45 (4,34)	5,27 (4,53) ** α	0,004
Desviación típica del error positivo (°)	0,909 (1,18)	2,028 (2,563) **	3,598 (3,067) *** α	<0,001
Error negativo medio (°)	-2,11 (2,3)	-2,83 (5,44)	-4,65 (6,4) ** α	0,009
Desviación típica del error negativo (°)	1,62 (2,1)	1,85 (3,78)	4,97 (6,96) ** $\alpha\alpha$	0,006

Todas las variables presentaron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α) o $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

Tabla 15. Test de antisácadas horizontales (II). Valores los parámetros del test de antisácadas horizontales obtenidos en los distintos grupos de estudio (II).

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Recuento de parpadeos	6 (8)	2 (4)	4 (8)	ns
Recuento de antisácadas correctas	3 (5)	2 (4)	0 (2) *** $\alpha\alpha$	0,001
Recuento de antisácadas corregidas	5 (7)	6 (5)	4 (6)	ns
Recuento de antisácadas incorrectas	0 (1)	0 (2)	2 (6) ** $\alpha\alpha$	0,003
Recuento de sácadas reflexivas de segundo orden	0 (0)	0 (0)	0 (1) * α	0,036
Recuento de antisácadas anticipadas	0 (1)	1 (2)	1 (3)	ns
Latencia media de retorno (ms)	320 (147)	384 (188) *	359 (168)	0,034
Desviación típica de la latencia de retorno (ms)	99 (56)	117 (117)	158 (148)	ns
Velocidad máxima de retorno media (°/s)	288 (150)	335 (119)	312 (112)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima de retorno (°/s)	166 (79)	158 (85)	171 (78)	ns

Todas las variables presentaron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α) o $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

Tabla 16. Test de antisácadas verticales (I). Valores los parámetros del test de antisácadas verticales obtenidos en los distintos grupos de estudio (I).

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Latencia media (ms)	393 (68)	405 (154)	584 (242) ** $\alpha\alpha$	0,003
Desviación típica de la latencia (ms)	72 (87)	83 (96)	90 (127)	ns
Latencia media de las sácadas reflexivas (ms)	527 (105)	559 (187)	959 (521) *** $\alpha\alpha\alpha$	<0,001
Desviación típica de la latencia de las sácadas reflexivas (ms)	95 (74)	100 (83)	95 (147)	ns
Duración media de las sácadas reflexivas (ms)	174 (63)	208 (120)	272 (360) ** α	0,021
Desviación típica de la duración de las sácadas reflexivas (ms)	77 (88)	99 (80)	98 (94)	ns
Error positivo medio (°)	1,59 (1,43)	1,7 (1,87)	3,11 (1,96) ** $\alpha\alpha$	0,003
Desviación típica del error positivo (°)	0,88 (0,97)	1,11 (1,37)	2,09 (1,21) * α	0,022
Error negativo medio (°)	-2,51 (2,39)	-2,61 (3,1)	-5,47 (6,04) ** $\alpha\alpha$	0,003
Desviación típica del error negativo (°)	1,45 (1,77)	1,38 (2,09)	4,34 (5,04) * α	0,029

Todas las variables presentaron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α), $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) o $p < 0,001$ ($\alpha\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

Tabla 17. Test de antisácadas verticales (II). Valores los parámetros del test de antisácadas verticales obtenidos en los distintos grupos de estudio (II).

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Recuento de parpadeos	3 (6)	2 (3)	4 (4)	ns
Recuento de antisácadas correctas	2 (3)	1 (3)	1 (2) *	0,026
Recuento de antisácadas corregidas	3 (4)	4 (3)	2 (3) * α	0,044
Recuento de antisácadas incorrectas	0 (1)	0 (1)	1 (3) *** $\alpha\alpha\alpha$	<0,001
Recuento de sácadas reflexivas de segundo orden	0 (0)	0 (0)	0 (1)	ns
Recuento de antisácadas anticipadas	0 (1)	0 (1)	1 (2) ** α	0,016
Latencia media de retorno (ms)	337 (165)	370 (152)	355 (195)	ns
Desviación típica de la latencia de retorno (ms)	84 (66)	89 (107)	107 (101)	ns
Velocidad máxima de retorno media (°/s)	240 (102)	203 (98)	224 (99)	ns
Desviación típica de la velocidad máxima de retorno (°/s)	113 (60)	94 (57)	145 (57) $\alpha\alpha$	0,022

Todas las variables presentaron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α), $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) o $p < 0,001$ ($\alpha\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM.

1.4.4. Test de seguimiento

En los test de seguimiento el sujeto debía seguir con la mirada un estímulo visual que, al contrario que en los test anteriormente descritos, no saltaba entre distintas posiciones de su campo visual, sino que se desplazaba con un movimiento estable y continuo a lo largo de la pantalla. Además de las versiones horizontal y vertical, este test incluyó una tercera versión, también de movimiento horizontal, en la que la velocidad del estímulo visual aumentaba y disminuía a un ritmo regular, siguiendo una función sinusoidal. Los resultados de estos test se exponen en las tablas 18, 19 y 20 para las versiones horizontal, vertical y sinusoidal respectivamente.

En las tres versiones de los test de seguimiento destacó un mayor número de sácadas catch-up (realizadas para reposicionar la mirada tras quedarse rezagado respecto del estímulo visual) en los pacientes con EHM en comparación con los pacientes sin EHM y controles. Este aumento, no obstante, solamente fue estadísticamente significativo en las versiones vertical y sinusoidal del test (Tablas 19 y 20). En la versión sinusoidal el aumento solamente fue estadísticamente significativo al comparar a los pacientes con EHM con aquellos sin EHM. En el caso de las sácadas back-up (realizadas para reposicionar la mirada tras adelantarse al estímulo visual), que fueron mucho menos abundantes, en la versión horizontal del test los pacientes con EHM realizaron estas con más frecuencia que los pacientes sin EHM y los controles (Tabla 18). En cuanto al último tipo de movimiento corrector, los *Square wave jerks* (SWJ) (la realización de dos movimientos sacádicos muy seguidos en direcciones opuestas para reposicionar la mirada), se observó también un mayor número de los mismos en los pacientes en comparación con los controles en todas las versiones del test. Este aumento, no obstante, solamente fue estadísticamente significativo al comparar a los pacientes con EHM con los controles en la versión horizontal del test, y al comparar a ambos grupos de pacientes con los controles en la versión vertical.

En cuanto al porcentaje de tiempo que los sujetos mantuvieron el seguimiento del estímulo visual, aunque en todos los casos la mediana se mantuvo alrededor del 90%, en los pacientes con EHM se observó una disminución de este valor. Esta disminución fue estadísticamente significativa en las versiones tanto horizontal como vertical del test, en comparación con los pacientes sin EHM y los controles (Tablas 18 y 19).

En estos test, al no disponer de momentos puntuales para medir la posición de la mirada, sino de un seguimiento continuo, se recurrió al error cuadrático medio (ECM) de posicionamiento como medida de la precisión de la mirada. En todas las versiones del test se observó un aumento significativo del ECM de posicionamiento en los pacientes con EHM al compararlos, tanto con los controles como con los pacientes sin EHM. El aumento del ECM de posicionamiento fue estadísticamente significativo en los pacientes con EHM, tanto a nivel general (ECM de posición total), como al limitar la medición del error a los momentos en que el sujeto seguía activamente el estímulo visual (ECM de posición durante el seguimiento).

Debido también a la naturaleza de estas pruebas, en este caso la medida de ganancia hacía referencia a la relación entre la velocidad de la mirada del sujeto y la velocidad del estímulo visual. En todas las versiones del test, los pacientes con EHM mostraron una ganancia significativamente menor que los controles y pacientes sin EHM. Adicionalmente, estos pacientes también mostraron un ECM de velocidad mayor, aunque dicha diferencia solamente fue estadísticamente significativa en la versión vertical del test (Tabla 19).

De forma puntual, se observó un mayor número de parpadeos en los pacientes con EHM durante la versión horizontal del test (Tabla 18), además de una mayor latencia para iniciar el seguimiento del estímulo visual en estos mismos pacientes durante la versión sinusoidal del test (Tabla 20).

Tabla 18. Test de seguimiento horizontal. Valores los parámetros del test de seguimiento horizontal obtenidos en los distintos grupos de estudio.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Recuento de Parpadeos ^(a)	2 (5)	1 (3)	3 (4) ^α	0,039
Recuento de sácadas catch-up ^(b)	22,4 ± 9,7	21,2 ± 7,2	25,2 ± 10,9	ns
Recuento de sácadas back-up ^(a)	0 (0)	0 (1)	1 (2) ** ^{αα}	0,005
Recuento de SWJ ^(a)	3 (4)	4 (6)	5 (4) *	0,044
Tiempo de seguimiento (%) ^(a)	92,5 (5,4)	91,6 (6,2)	88,3 (4,5) ** ^α	0,019
Latencia (ms) ^(a)	305 (53)	304 (102)	304 (211)	ns
ECM de posición total ^(a)	1,979 (1,511)	2,443 (2,696)	3,187 (3,555) ** ^α	0,013
ECM de posición durante el seguimiento ^(a)	1,956 (1,408)	2,345 (2,644)	2,991 (3,471) ** ^α	0,017
Ganancia media ^(a)	0,872 (0,167)	0,837 (0,225)	0,733 (0,144) *** ^α	0,002
ECM de velocidad durante el seguimiento ^(a)	8,7 (2,5)	8,4 (2,6)	9 (1,9)	ns

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. (b): en las variables con distribución paramétrica, pero no homocedásticas, los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando ANOVA de Welch de una vía, seguido del test post-hoc de Games-Howell. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. ^α: indica un $p < 0,05$ (^α) o $p < 0,01$ (^{αα}) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM. SWJ: *Square wave jerk*. ECM: Error cuadrático medio.

Tabla 19. Test de seguimiento vertical. Valores los parámetros del test de seguimiento vertical obtenidos en los distintos grupos de estudio.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Recuento de Parpadeos ^(a)	2 (5)	2 (4)	3 (8)	ns
Recuento de sácadas catch-up ^(b)	14,1 ± 6,9	14,2 ± 5,8	18,1 ± 4,3 * ^{αα}	0,008
Recuento de sácadas back-up ^(a)	0 (1)	0 (2)	1 (3)	ns
Recuento de SWJ ^(a)	1 (2)	2 (4) *	3 (3) *	0,026
Tiempo de seguimiento (%) ^(a)	93,1 (5,6)	92,1 (6,2)	90 (9) ** ^α	0,013
Latencia (ms) ^(a)	396 (208)	364 (173)	444 (235)	ns
ECM de posición total (°) ^(a)	1,504 (1,639)	1,760 (2,099)	2,724 (2,015) ** ^{αα}	0,003
ECM de posición durante el seguimiento (°) ^(a)	1,443 (1,487)	1,72 (1,882)	2,626 (1,928) ** ^{αα}	0,003
Ganancia media ^(a)	0,825 (0,226)	0,797 (0,197)	0,699 (0,183) ** ^{αα}	0,003
ECM de velocidad durante el seguimiento (°/s) ^(a)	6 (2,1)	6,2 (2,2)	7,3 (3,5) * ^α	0,042

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. (b): en las variables con distribución paramétrica los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando ANOVA de una vía, seguido del test post-hoc de Tukey. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*) o $p < 0,01$ (**) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. ^α: indica un $p < 0,05$ (^α) o $p < 0,01$ (^{αα}) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM. SWJ: *Square wave jerk*. ECM: Error cuadrático medio.

Tabla 20. Test de seguimiento sinusoidal. Valores los parámetros del test de seguimiento sinusoidal obtenidos en los distintos grupos de estudio.

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Recuento de Parpadeos ^(a)	1 (3)	2 (5)	2 (3)	ns
Recuento de sácadas catch-up ^(b)	17,6 ± 7,7	16,6 ± 8,2	21,4 ± 6,9 ^α	0,031
Recuento de sácadas back-up ^(a)	0 (1)	0 (1)	0 (2)	ns
Recuento de SWJ ^(a)	1 (5)	3 (5)	3 (4)	ns
Tiempo de seguimiento (%) ^(a)	93,3 (7,1)	92,2 (6,1)	90,2 (6,9)	ns
Latencia (ms) ^(a)	260 (36)	272 (58)	308 (78) *	0,04
ECM de posición total (º) ^(a)	1,652 (2,795)	2,352 (2,397)	3,856 (2,935) * ^α	0,019
ECM de posición durante el seguimiento (º) ^(a)	1,63 (2,69)	2,294 (2,26)	3,72 (2,828) * ^α	0,023
Ganancia media ^(a)	0,863 (0,222)	0,827 (0,362)	0,674 (0,301) * ^α	0,038
ECM de velocidad durante el seguimiento (º/s) ^(a)	8,803 (1,876)	8,639 (2,893)	9,462 (2,17)	ns

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. (b): en las variables con distribución paramétrica los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando ANOVA de una vía, seguido del test post-hoc de Tukey. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. ^α: indica un $p < 0,05$ (^α) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM. SWJ: *Square wave jerk*. ECM: Error cuadrático medio.

1.4.5. Test de fijación

Durante el test de fijación, al sujeto se le solicitó que mantuviese la mirada fija sobre un estímulo visual, que permanecía inmóvil en el centro de la pantalla durante un tiempo determinado. Los resultados obtenidos en este test se exponen en las tablas 21 y 22.

Uno de los principales parámetros medidos en este test fue el número de movimientos oculares realizados de forma espontánea por el ojo. Aunque estos parámetros hacían referencia, en su mayoría, a movimientos oculares involuntarios, también se incluyeron las sácadas realizadas voluntariamente. Los pacientes con EHM mostraron una mayor cantidad de movimientos involuntarios de todos los tipos en comparación con los otros dos grupos de estudio (Tabla 21). Este incremento fue estadísticamente significativo para las sácadas voluntarias al comparar a los pacientes con EHM con los controles. En el caso de los *drifts* (movimientos involuntarios de mayor duración y amplitud que las microsácadas), las distracciones, y los SWJ bifásicos (la realización de 3 movimientos rápidos muy seguidos en direcciones opuestas) se observó un aumento estadísticamente significativo en los pacientes con EHM al compararlos tanto con los pacientes sin EHM como con los controles. También se observó un mayor número de parpadeos en los pacientes con EHM al compararlos con los pacientes sin EHM (Tabla 21).

En cuanto a las características de cada tipo de movimiento involuntario, se observó un aumento estadísticamente significativo de la amplitud de las microsácadas realizadas por todos los pacientes, independientemente de si sufrían deterioro cognitivo o no, al compararlos con los controles (Tabla 22). Los pacientes con EHM mostraron un aumento aún mayor de dicha amplitud, que fue estadísticamente significativo al compararlo con los pacientes sin EHM. También se observó un incremento similar de la amplitud de los *drifts* en los pacientes con EHM al compararlos con los otros dos grupos de estudio. En relación con la realización de microsácadas, en los pacientes con EHM se observó un aumento estadísticamente significativo de la velocidad, tanto media como máxima, de las mismas en comparación tanto con los controles como con los pacientes sin EHM (Tabla 22).

En todos los pacientes, independientemente de si sufrían deterioro cognitivo o no, se observó un aumento no significativo de la desviación típica, tanto de la amplitud como de la velocidad máxima de las microsácadas, y de la desviación típica de la velocidad

máxima de los *drifts*. Los pacientes con EHM también mostraron un aumento no significativo de la amplitud y duración de los SWJ, y de la velocidad media de los *drifts*.

Para medir la precisión de la fijación de los sujetos se recurrió a la *Bivariate Contour Ellipse Area* (BCEA). En este caso, se observó un aumento significativo de la BCEA en los pacientes con EHM, en comparación tanto con los controles como con los pacientes sin EHM (Tabla 21). Al medir la distancia media del posicionamiento de la mirada respecto del estímulo visual, en la dimensión vertical los pacientes con EHM mostraron un error, y por tanto distanciamiento, significativamente mayor que los controles. En la dimensión horizontal, por otro lado, los pacientes sin EHM fueron los que mostraron un mayor distanciamiento en comparación con los controles, con los pacientes con EHM mostrando unos resultados intermedios, y significativamente menores que los de los pacientes sin EHM. Estas alteraciones se extendieron a la desviación típica del posicionamiento, tanto horizontal como vertical, en los que los pacientes con EHM mostraron una mayor variabilidad que los controles en cualquiera de las dos dimensiones medidas. En el caso de la dimensión horizontal, la variabilidad de los pacientes con EHM también fue significativamente mayor que la de los pacientes sin EHM (Tabla 21).

Tabla 21. Test de fijación (I). Valores de los parámetros del test de fijación obtenidos en los distintos grupos de estudio (I).

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Recuento de parpadeos	2 (4)	2 (5)	5 (5) ^α	0,031
Recuento de sácadas	1 (3)	2 (6)	4 (6) *	ns
Recuento de microsácadas	5 (6)	5 (10)	8 (13)	ns
Recuento de drifts	1 (2)	1 (3)	2 (6) * ^α	0,049
Recuento de SWJ monofásicos	0 (3)	1 (3)	1 (3)	ns
Recuento de SWJ bifásicos	0 (0)	0 (2)	1 (3) * ^α	0,032
Recuento de distracciones	0 (0)	0 (0)	0 (1) * ^α	0,044
BCEA (°²)	0,439 (0,462)	0,465 (1,623)	1,386 (2,5) *** ^{ααα}	<0,001
Error horizontal del posicionamiento medio (°)	0,079 (0,263)	0,253 (0,448) *	0,124 (0,204) ^α	0,01
Error vertical del posicionamiento medio (°)	0,258 (0,332)	0,487 (0,586)	0,723 (0,784) *	0,048
Desviación típica del posicionamiento horizontal (°)	0,265 (0,12)	0,265 (0,286)	0,474 (0,499) ** ^{αα}	0,01
Desviación típica del posicionamiento vertical (°)	0,224 (0,193)	0,245 (0,318)	0,447 (0,373) *	0,046
Amplitud media de las microsácadas (°)	0,343 (0,163)	0,391 (0,212) *	0,444 (0,104) ** ^α	0,004
Desviación típica de la amplitud de las microsácadas (°)	0,116 (0,099)	0,167 (0,134)	0,182 (0,069)	ns
Velocidad media de las microsácadas (°/s)	13,8 (6,1)	14,4 (5,8)	16,3 (2,6) ** ^{αα}	0,015
Desviación típica de la velocidad media de las microsácadas (°/s)	3,020 (2,723)	3,249 (3,066)	3,073 (2,068)	ns
Velocidad máxima media de las microsácadas (°/s)	24,5 (10,9)	26,1 (10,6)	28,8 (5,9) ** ^α	0,017
Desviación típica de la velocidad máxima de las microsácadas (°/s)	4,478 (5,416)	6,396 (7,82)	7,977 (5,771)	ns

Todas las variables presentaron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. ^α: indica un $p < 0,05$ (^α), $p < 0,01$ (^{αα}) o $p < 0,001$ (^{ααα}) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM. BCEA: *Bivariate contour ellipse area*.

Tabla 22. Test de fijación (II). Valores de los parámetros del test de fijación obtenidos en los distintos grupos de estudio (II).

	Controles	Pacientes sin EHM	Pacientes con EHM	P valor global corregido
Amplitud media de los Drift (°)	0,192 (0,211)	0,208 (0,154)	0,289 (0,109) * α	0,03
Desviación típica de la amplitud de los drift (°)	0,189 (0,212)	0,105 (0,099)	0,168 (0,092)	ns
Velocidad media de los drift (°/s)	2,581 (2,996)	2,329 (1,831)	3,122 (2,581)	ns
Desviación típica de la velocidad de los drift (°/s)	1,164 (1,672)	0,937 (1,222)	0,707 (1,013)	ns
Velocidad máxima media de los drift (°/s)	10,73 (7,712)	7,832 (6,165)	9,556 (4,898) α	ns
Desviación típica de la velocidad máxima de los drift (°/s)	2,598 (3,537)	3,706 (3,046)	3,753 (2,611)	ns
Amplitud media de los SWJ (°)	0,687 (0,352)	0,675 (0,464)	0,772 (0,417)	ns
Desviación típica de la amplitud de los SWJ (°)	0,351 (0,355)	0,394 (0,494)	0,448 (0,46)	ns
Duración media de los SWJ (ms)	227 (182)	245 (167)	286 (93)	ns
Desviación típica de la duración de los SWJ (ms)	174 (87)	131 (142)	168 (117)	ns

Todas las variables presentaron una distribución no paramétrica. Los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Kruskal-Wallis, seguido del test post-hoc de Dunn. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. *: indica un $p < 0,05$ (*) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes con cirrosis y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α) para una comparación estadística entre los pacientes sin EHM y los pacientes con EHM. SWJ: *Square wave jerks*.

1.4.6. Resumen de las alteraciones de los movimientos oculares

Durante el análisis de los test de movimientos oculares se halló un gran número de alteraciones, que afectaron a una gran cantidad y diversidad de variables. En esta sección se sintetizan y representan estos resultados de forma cohesiva.

Latencia

La velocidad de reacción de los sujetos fue una de las variables más afectadas en los pacientes con EHM, y a un nivel más limitado, también en los pacientes sin EHM.

En todas las medidas de latencia de los movimientos oculares principales se observó un aumento significativo de la misma en los pacientes con EHM en comparación con los controles (Figura 36a). De forma similar, este aumento de la latencia también fue significativo al comparar a los pacientes con EHM con los pacientes sin EHM, exceptuando en este caso las sácadas de memoria horizontales.

En los movimientos oculares de retorno se observaron alteraciones significativas principalmente en el test de sácadas visuales (Figura 36b). En ambas versiones de los test de sácadas visuales, los pacientes con EHM presentaron una latencia de retorno significativamente mayor que la de los otros dos grupos analizados. En el caso de la versión vertical del test, también se observó un aumento significativo en los pacientes sin EHM al compararlos con los controles. En los test de sácadas de memoria y antisácadas este aumento de la latencia de retorno no fue tan evidente, con la excepción del test de sácadas de memoria vertical, en el que ambos grupos de pacientes presentaron una latencia de retorno significativamente más alta que la de los controles.

También se estudiaron las alteraciones en la latencia de las sácadas reflexivas de los test de antisácadas (Figura 36c). En ambas versiones del test se observó un aumento significativo de esta latencia en los pacientes con EHM respecto de los otros dos grupos de estudio. En la versión horizontal del test las diferencias entre los pacientes sin EHM y los controles también fueron significativas.

Al estudiar las medidas de latencia de todos los test de movimientos sacádicos se observó un remarcable cambio en la escala de las variables entre los distintos test. En todos los casos la latencia en los test de sácadas visuales fue la más baja, seguida por la

latencia en los test de sácadadas de memoria y, finalmente, los test de antisácadadas. En el caso de los movimientos sacádicos de retorno no se observó un cambio tan claro entre los test de sácadadas de memoria y de antisácadadas. Finalmente, la latencia de las sácadadas reflexivas realizadas durante los test de antisácadadas fue la más alta en todos los casos.

En el caso de la variabilidad de esta latencia, analizada a través de la desviación típica, también se observaron algunas diferencias significativas entre los distintos grupos de estudio, pero de forma mucho más limitada. Se observaron diferencias significativas entre los pacientes con EHM y el resto de grupos de estudio en la versión horizontal del test de sácadadas visuales (Tabla 10), y en ambos grupos de pacientes en comparación con los controles en los movimientos de retorno en la versión vertical de este mismo test (Tabla 11). En la versión vertical del test de sácadadas de memoria ambos grupos de pacientes también mostraron una mayor variabilidad en comparación con los controles (Tabla 13). Por último, en los movimientos reflexivos del test de antisácadadas horizontales los pacientes con EHM mostraron una mayor variabilidad que los controles y pacientes sin EHM (Tabla 14).

En cuanto a la variabilidad de la latencia, solamente se observó una diferencia en la escala de la misma entre los test de sácadadas visuales y el resto de medidas.

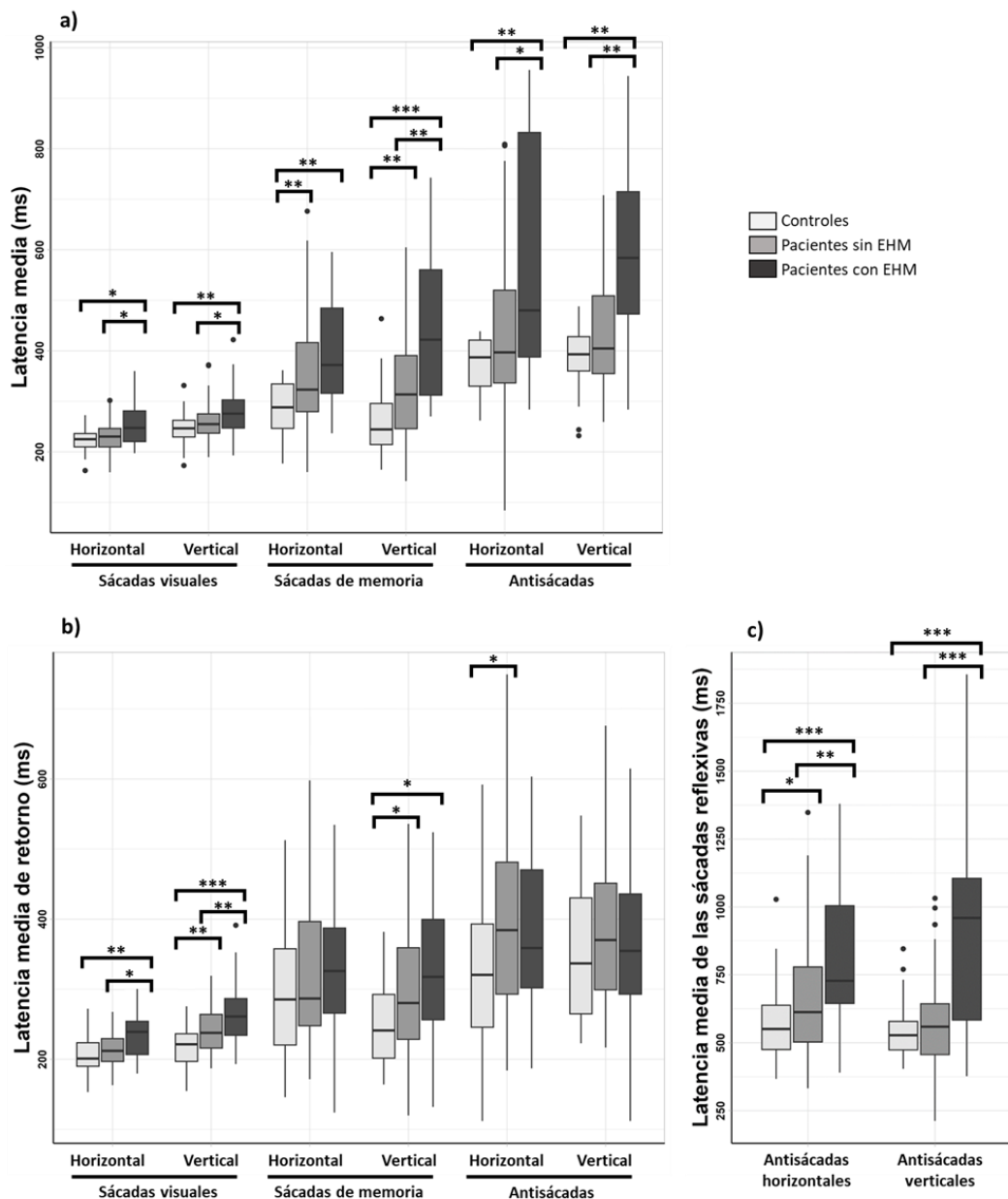


Figura 36. Diagramas de caja de las principales medidas de latencia. Diagramas de caja con las medidas de latencia de los movimientos oculares principales (a), de retorno (b) y reflexivos (c) realizados en los test de sácdas visuales, de memoria y antisácdas. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) al comparar dos grupos de estudio.

Velocidad

La velocidad que alcanzaban los movimientos sacádicos realizados por los sujetos no sufrió alteraciones significativas en la mayoría de casos. A pesar de esto, en muchos casos sí se observó una ligera diferencia entre los distintos grupos, con los los controles alcanzando, generalmente, las velocidades más altas, seguidos por los pacientes sin EHM y, finalmente, los pacientes con EHM.

Sí se observaron diferencias significativas en la velocidad máxima en la versión vertical del test de sácadas visuales (Tabla 11), donde ambos grupos de pacientes mostraron una velocidad significativamente menor que la de los controles.

Al comparar las velocidades alcanzadas en cada test se observó que, en todos los casos, se alcanzaba una velocidad máxima más alta en la versión horizontal de los test que en la versión vertical.

En cuanto al nivel de variabilidad de la velocidad de los movimientos oculares, tampoco se hallaron diferencias significativas. La única excepción fue la desviación típica de los movimientos de retorno en el test de antisácadas verticales (Tabla 17), donde los pacientes con EHM mostraron un nivel de variabilidad mayor que los pacientes sin EHM, con los controles en una situación intermedia.

También se observó que la variabilidad de la velocidad era, por lo general, mayor en los test horizontales que en los verticales.

Precisión de la mirada

Para estudiar la precisión de la mirada se recurrió a las distintas medidas de error. En los test de sácadas visuales, de memoria y antisácadas estas medidas se separaron en sus valores positivos (cuando la mirada sobrepasaba al estímulo) y negativos (cuando la mirada no llegaba al estímulo). En el test de fijación se midió la precisión de la mirada con la BCEA, y el error de posicionamiento en las dimensiones horizontal y vertical. En los test de seguimiento la precisión se midió a través del ECM de posicionamiento.

En los test de sácadas visuales y de memoria no se observaron diferencias significativas de forma consistente en el error de la mirada entre los distintos grupos de estudio (Figura 37a y 36b). Excepcionalmente, en el error positivo del test de sácadas visuales horizontal y del test de sácadas de memoria vertical los pacientes con EHM mostraron

un error significativamente mayor que los pacientes sin EHM. En el caso del error negativo del test de sácadas de memoria vertical se observó un aumento significativo en los pacientes sin EHM en comparación con los controles.

En los test de antisácadas (Figura 37a y 36b), por el contrario, los pacientes con EHM mostraron un aumento significativo en todas las medidas de error al compararlos, tanto con los controles, como con los pacientes sin EHM.

En las medidas del error, tanto positivo como negativo, se observó una evolución en el rango de valores dependiendo de la naturaleza del test. En los test de sácadas visuales los niveles de error fueron los más bajos, seguidos de los test de sácadas de memoria y, en último lugar, los test de antisácadas. En las medidas de error de los test de antisácadas se observó una considerable diferencia entre el error positivo del test de antisácadas verticales y el resto de medidas de error.

En cuanto a los test de seguimiento se observó, de forma consistente, un aumento del error cuadrático medio (ECM) de posición total en los pacientes con EHM en comparación con los otros grupos de estudio (Figura 37d). En las tres versiones del test de seguimiento, el ECM de los pacientes con EHM fue significativamente más alto que el de los pacientes sin EHM y controles. En el test de seguimiento vertical se observó un rango de valores menor que en las versiones horizontal y sinusoidal del mismo. El ECM de posición durante el seguimiento tuvo, en todo momento, un patrón de evolución muy similar al del ECM de posición total.

Finalmente, en el test de fijación se observaron también alteraciones estadísticamente significativas en todas las medidas realizadas (Figura 37c). En el área ocupada por la mirada del sujeto, medida a través de la BCEA, se observó un aumento estadísticamente significativo en los pacientes con EHM en comparación, tanto con los pacientes sin EHM, como con los controles. Este mismo patrón se observó, también, en el error de posicionamiento de la mirada en la dimensión vertical. En la dimensión horizontal, no obstante, los pacientes sin EHM fueron quienes presentaron una medida de error más alta, y cuyas diferencias respecto de los controles y los pacientes con EHM fueron estadísticamente significativas.

En el test de fijación se observó un rango de error más amplio en la dimensión vertical que en la horizontal.

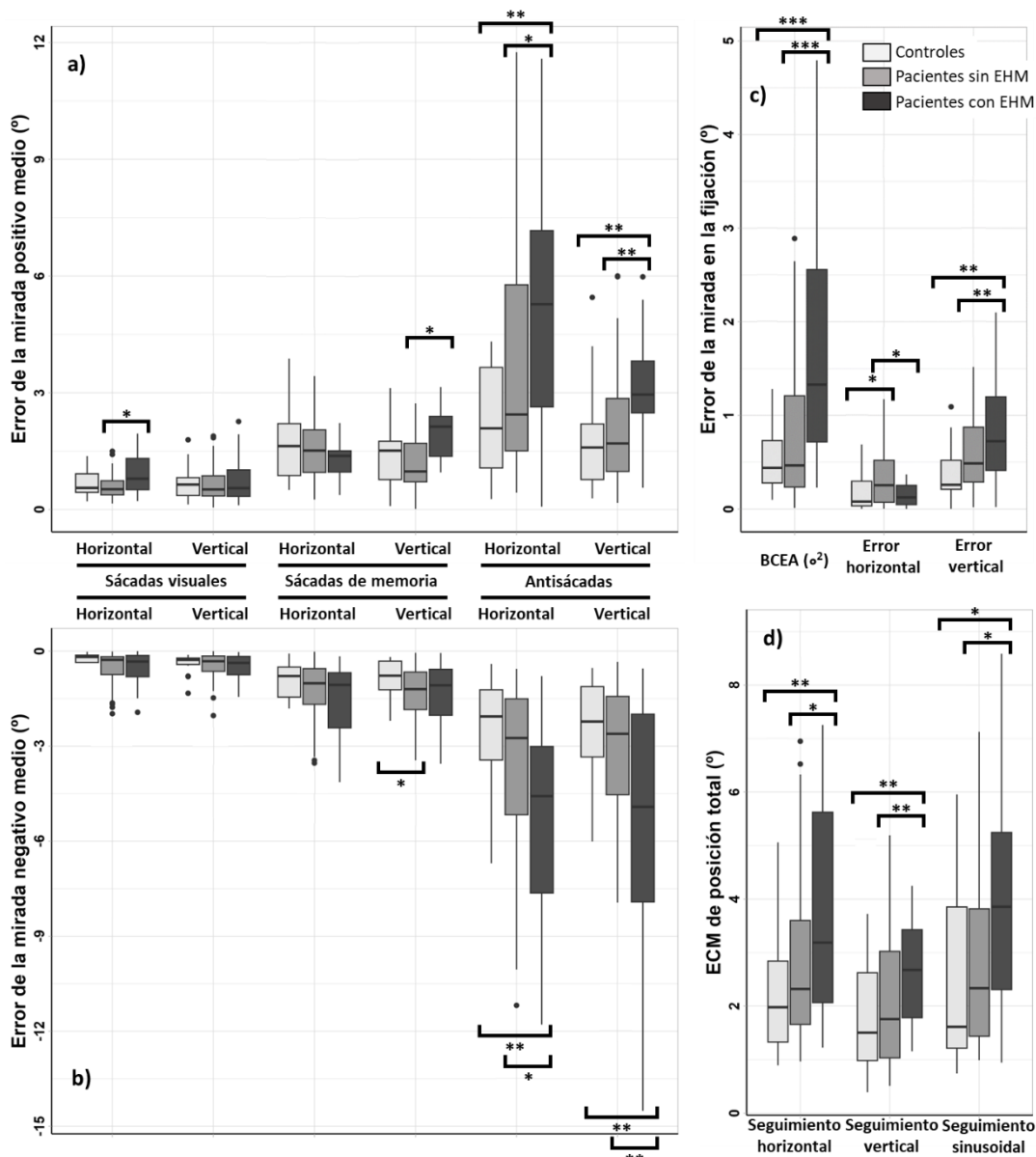


Figura 37. Diagramas de caja de las principales medidas de precisión. Diagramas de caja con las medidas de error positivo de la mirada en los test de sácdas visuales, de memoria y antisácdas (a); el error negativo de la mirada en los test de sácdas visuales, de memoria y antisácdas (b); la BCEA y el error en las dimensiones horizontal y vertical en el test de fijación (c); y el ECM de posición total de los test de seguimiento (d). La medida de BCEA se realizó en grados cuadrados en lugar de grados. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) al comparar dos grupos de estudio. ECM: error cuadrático medio. BCEA: *bivariate contour ellipse area*.

Durante el estudio de la variabilidad del error de la mirada, en el que se recurrió a la desviación típica del mismo, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en ninguna de las medidas de los test de sácadas visuales ni sácadas de memoria. No fue así en el caso de los test de antisácadas (Figura 38a).

Tanto en el test de antisácadas vertical, como horizontal, y tanto en la medida de desviación típica del error positivo, como del negativo, los pacientes con EHM mostraron una desviación típica significativamente mayor que los otros dos grupos de estudio. En el caso específico de la desviación típica del error positivo de las antisácadas horizontales, los pacientes sin EHM también mostraron valores significativamente más altos que los controles.

Para estas medidas se observó una evolución del rango de valores similar a la vista en otras categorías de variables, con los test de sácadas visuales en un rango menor, seguidos por los test de sácadas de memoria y, finalmente, los test de antisácadas.

En el caso del error de posicionamiento de la mirada en el test de fijación (Figura 38b), los pacientes con EHM mostraron una desviación típica significativamente mayor que los controles tanto en la dimensión horizontal del posicionamiento como en la vertical. En el caso de la desviación típica del error de posicionamiento horizontal, las diferencias de estos respecto de los pacientes sin EHM también fueron estadísticamente significativas.

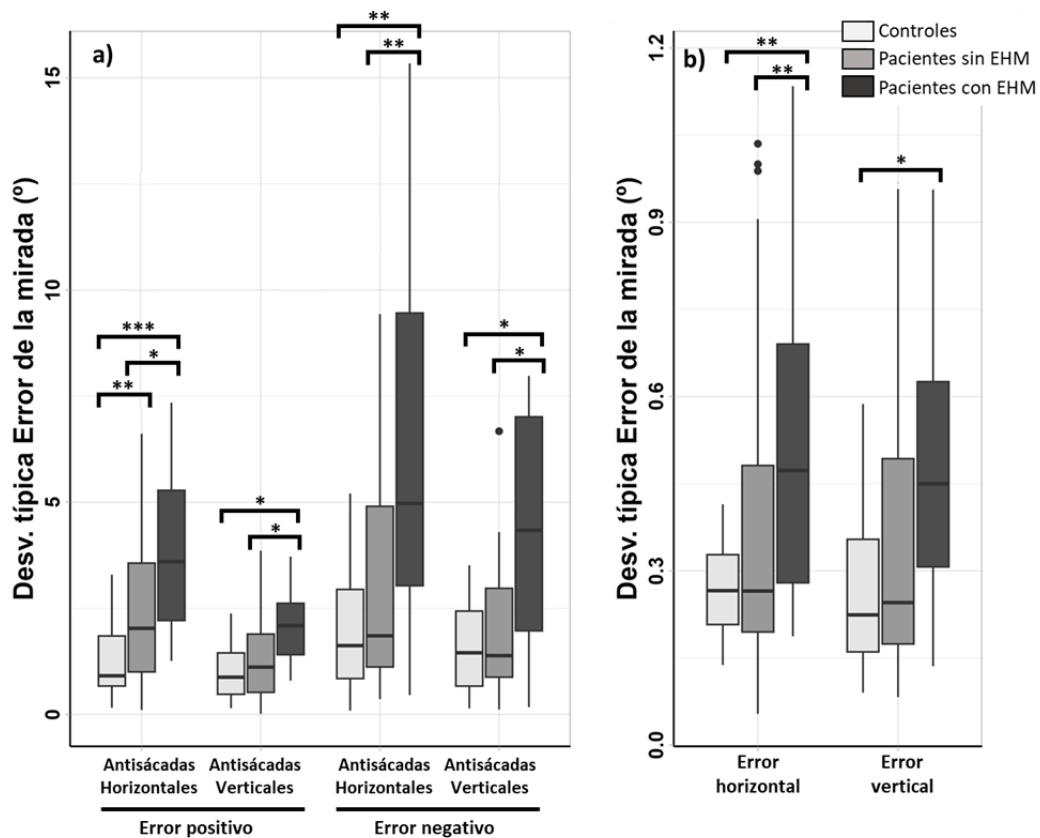


Figura 38. Diagramas de caja de las medidas de desviación típica de la precisión con alteraciones significativas. Diagramas de caja con las medidas de desviación típica del error positivo y negativo de la mirada en los test de antisácadas (a), y con la desviación típica del error de posicionamiento horizontal y vertical durante el test de fijación (b). *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) al comparar dos grupos de estudio.

Ejecución de las pruebas

Al analizar correcta ejecución, en sí misma, de los test de movimientos sacádicos, fue usual observar los resultados más altos en los controles, seguidos por los pacientes sin EHM y, finalmente, los pacientes con EHM.

En el caso específico de los movimientos sacádicos realizados correctamente (Figura 39a), en el test de sácadas de memoria, tanto en los controles como en los pacientes sin EHM, una gran proporción de la muestra realizó correctamente todos los movimientos sacádicos; mientras que los pacientes con EHM obtuvieron resultados significativamente peores. En el test de antisácadas, sin embargo, se observó una proporción considerable de errores en los tres grupos de estudio, aunque los controles también realizaron bastantes menos.

En cuanto a los tipos de movimientos medidos exclusivamente en los test de antisácadas, se observaron también múltiples alteraciones (Figura 39b). En la versión vertical del test, los pacientes con EHM realizaron una cantidad significativamente menor de sácadas corregidas en comparación con los otros dos grupos de estudio. En este mismo sentido, los pacientes con EHM llevaron a cabo, también, una cantidad significativamente mayor de sácadas incorrectas, y no corregidas posteriormente, en ambas versiones del test en comparación con el resto de sujetos del estudio. En la versión horizontal del test, los pacientes con EHM realizaron una mayor cantidad de sácadas reflexivas de 2º orden (realizar un movimiento sacádico reflexivo por segunda vez tras corregir un movimiento reflexivo previo), aunque estas fueron igualmente testimoniales.

En cuanto a la cantidad de sácadas anticipadas, no se observaron diferencias significativas entre grupos en los test de sácadas visuales ni de sácadas de memoria. En el test de antisácadas, sin embargo, sí se observó un número mayor de sácadas anticipadas en los pacientes con EHM. Esta diferencia fue estadísticamente significativa en la versión vertical del test.

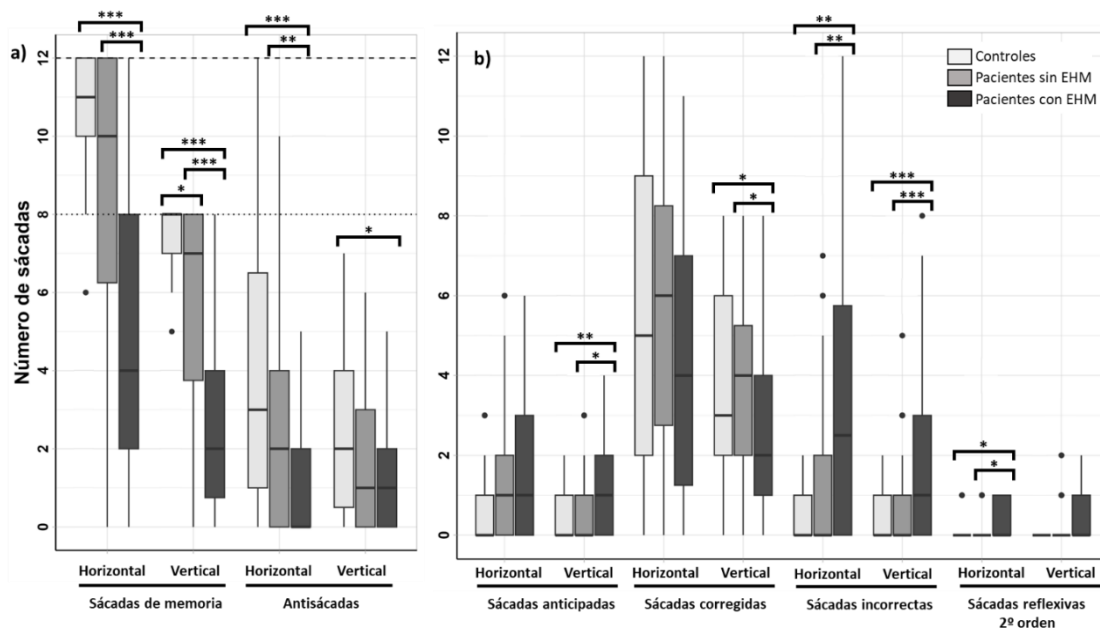


Figura 39. Diagramas de caja del recuento de los distintos tipos de movimientos sacádicos. Diagramas de caja con el recuento de los movimientos sacádicos realizados correctamente en los test de sácadas de memoria y antisácadas (a), y con el recuento del resto de tipos de movimientos sacádicos realizados en el test de antisácadas (b). En la figura a se muestra con una línea discontinua el número máximo de sácadas realizadas en la versión horizontal de los test (12), y con una línea de puntos el número máximo de sácadas realizadas en la versión vertical (8). *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) al comparar dos grupos de estudio.

Movimientos correctores durante el seguimiento

En los test de seguimiento, específicamente, se estudió la cantidad de movimientos sacádicos realizados con el objetivo de corregir la trayectoria de la mirada y mantenerla sobre el estímulo visual en movimiento.

En las tres versiones del test se observaron notables diferencias en el rango de valores de cada tipo de movimiento corrector. Los movimientos realizados con mayor frecuencia fueron las sácadas *catch-up* (regresar a la posición del estímulo tras retrasarse), seguidas por los SWJ (realización de dos movimientos correctores muy seguidos en direcciones opuestas) y, por último, las sácadas *back-up* (regresar a la posición del estímulo tras adelantarlos) (Figura 40).

En cuanto al recuento de sácadass *catch-up* realizadas, se observó que, en la versión vertical del test, los pacientes con EHM realizaron una cantidad de estos movimientos correctores significativamente mayor que el resto de grupos del estudio. En la versión sinusoidal del test, las diferencias fueron significativas únicamente al comparar a los pacientes con EHM y sin EHM. En la versión horizontal del test, aunque no se detectaron diferencias significativas, los pacientes con EHM también llevaron a cabo una cantidad ligeramente mayor de estos movimientos correctores.

En el caso de las sácadass *back-up*, solamente se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la versión horizontal del test, en la que los pacientes con EHM realizaron una cantidad mayor de movimientos correctores en comparación con los otros dos grupos del estudio. En las otras versiones del test también se detectó una cantidad ligeramente mayor de estos movimientos correctores en los pacientes con EHM, pero este incremento no fue significativo.

Finalmente, en cuanto al número de SWJ, los pacientes con EHM realizaron una cantidad significativamente mayor de los mismos en comparación con los controles, tanto en la versión horizontal como en la versión vertical del test. En la versión vertical las diferencias entre los pacientes sin EHM y los controles también fueron estadísticamente significativas.

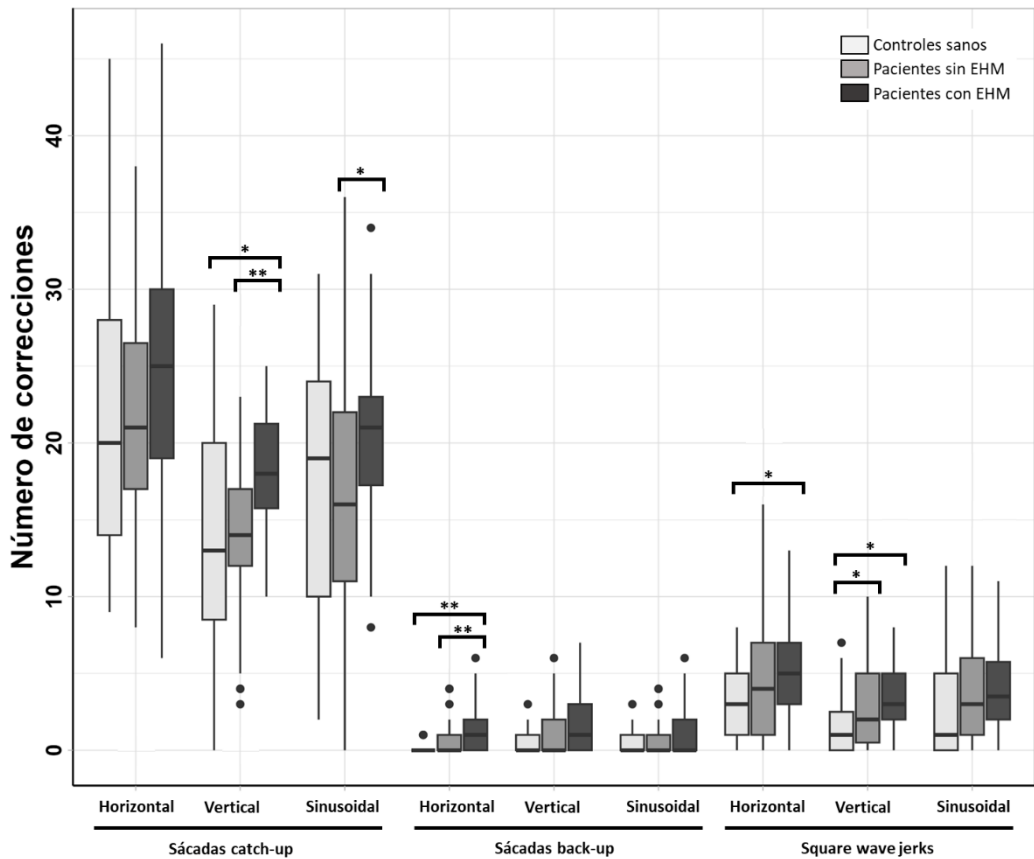


Figura 40. Diagramas de caja del recuento de correcciones durante los test de seguimiento. Diagramas de caja con el recuento de los movimientos sacádicos correctores realizados durante los test de seguimiento. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) al comparar dos grupos de estudio.

Características de los movimientos realizados durante la fijación

En el caso específico del test de fijación, se analizó la cantidad de movimientos oculares realizados, además de las características de los mismos. La mayoría de estos movimientos oculares fueron espontáneos (Figura 41).

En todos los casos se observó un mayor número de movimientos oculares en los pacientes con EHM en comparación con los demás sujetos del estudio (Figura 41a). Este aumento fue estadísticamente significativo en el número de sácdas voluntarias, *drifts*, SWJ bifásicos y distracciones.

A nivel general, los movimientos más frecuentes fueron las microsácadas, seguidas por las sácadas voluntarias y los *drifts*, los SWJ monofásico y bifásicos; y finalmente las distracciones, apenas observadas.

En cuanto a la amplitud de estos movimientos (Figura 41b), tanto con las microsácadas como con los *drifts* los pacientes con EHM realizaron movimientos significativamente más amplios que los pacientes sin EHM y los controles. La amplitud de las microsácadas de los pacientes sin EHM también fue significativamente mayor que la de los controles.

En contraposición con el patrón observado en la velocidad de los movimientos oculares de test previos, en los movimientos oculares realizados durante el test de fijación se observó una mayor velocidad en los pacientes con EHM en comparación con los demás grupos de estudio. Este aumento de la velocidad fue estadísticamente significativo tanto para la velocidad media como para la velocidad máxima de las microsácadas (Figura 41c).

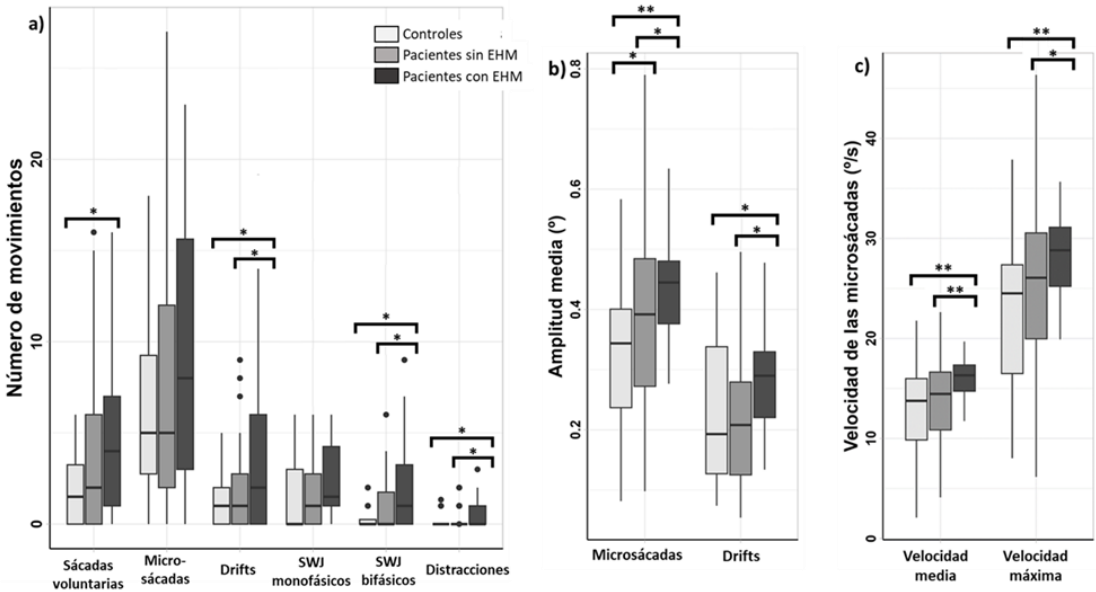


Figura 41. Diagramas de caja del recuento y características de los movimientos oculares realizados durante el test de fijación. Diagramas de caja con el recuento de los movimientos oculares realizados durante la fijación (a), su amplitud (b), y la velocidad media y máxima de las microsácadas (c). SWJ: *Square wave jerk*. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) al comparar dos grupos de estudio.

1.5. Correlación entre las alteraciones de los movimientos oculares y otros parámetros

Tras estudiar y caracterizar las alteraciones de los movimientos oculares, se realizaron análisis de correlación entre el conjunto completo de variables de estos test, los niveles de amonio y parámetros inflamatorios medidos en sangre, y los resultados de los test psicométricos realizados. De esta forma, se intentó determinar hasta qué punto las variables pertenecientes a distintas facetas de este estudio evolucionaban de forma similar.

Al realizar análisis de correlación entre los niveles de amonio y parámetros inflamatorios medidos en sangre, y las variables de los test de movimientos oculares, no se halló ninguna correlación estadísticamente significativa. Por ello, los resultados mostrados en esta sección se centraron en los resultados obtenidos al correlacionar las variables de los test de movimientos oculares con los test psicométricos realizados.

Al correlacionar las variables de movimientos oculares con los resultados de los test psicométricos se llegaron a hallar 946 correlaciones significativas tras realizar las correcciones pertinentes de los p valores.

Se puede observar una relación completa de las correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros de los test de movimientos oculares y de los test psicométricos en las tablas del anexo 1.

Sácadas visuales

En el test de sácadas visuales horizontales la desviación típica de la latencia mostró correlaciones significativas tanto con la puntuación global de la batería PHES como con todos los subtest de la misma, además de la puntuación del test SDMT Oral y ambos test de coordinación. En el caso de la latencia media, también se observaron correlaciones significativas con parte de la batería PHES, el test SDMT Oral, varios parámetros del test d2, y los test de coordinación (Tabla A1 del anexo 1).

En el test de sácadas visuales verticales, tanto la latencia media de los movimientos sacádicos principales, como la de los movimientos sacádicos de retorno, mostraron correlaciones significativas con prácticamente todos los parámetros de los test psicométricos. En el caso de la latencia media de retorno esto incluyó, también, el test de letras y números de la batería WAIS (Tabla A2 del anexo 1).

Sácadas de memoria

En el test de sácadas de memoria horizontales destacaron la latencia media y el recuento de sácadas correctas, que mostraron correlaciones significativas con prácticamente todos los parámetros de los test psicométricos. En el caso del recuento de sácadas correctas esto también incluyó los tres test de la batería WAIS. Resultó llamativo el caso de la desviación típica de la latencia, que correlacionó de forma significativa casi en exclusiva con los parámetros del test d2 (Tabla A3 del anexo 1).

En el test de sácadas de memoria verticales se mantuvo una predominancia del recuento de sácadas correctas, que correlacionó, nuevamente, con prácticamente todos los parámetros de los test psicométricos. La latencia media, en este caso, correlacionó con una menor cantidad de variables que en el caso de la versión horizontal del test; aunque esto incluyó, igualmente, a la mayoría de subtest de la batería PHES, además del test SDMT Oral, el test de letras y números de la batería WAIS, y el test de coordinación bimanual (Tabla A4 del anexo 1).

Antisácadas

En el test de antisácadas horizontales fue donde se observó un mayor número de correlaciones estadísticamente significativas a nivel general. Todas las variables centradas en las características de las sácadas reflexivas mostraron correlaciones significativas con la práctica totalidad de los parámetros de los test psicométricos. Esta gran cantidad de correlaciones significativas también se observó en los parámetros del error de la mirada negativo, y en los recuentos de antisácadas correctas y sácadas incorrectas. En menor medida, la latencia media de los movimientos antisacádicos principales, y las variables del error de la mirada positivo también correlacionaron con gran cantidad de parámetros psicométricos. Fue llamativo el patrón de correlaciones de la desviación típica de la latencia de las antisácadas principales y de la latencia media de las sácadas de retorno, ya que sus correlaciones significativas se centraron casi en exclusiva en los parámetros del test d2 (tablas A5 y A6 del anexo 1).

En el test de antisácadas verticales, tanto el recuento de antisácadas correctas, como el recuento de sácadas incorrectas, mostraron un nivel de correlación significativo con todas las variables de los test psicométricos; de forma similar a lo ocurrido con las variables homólogas de la versión horizontal del test. En el caso de la latencia media de las antisácadas principales, y de la latencia y duración medias de las sácadas reflexivas, también se observaron correlaciones significativas con casi todas las variables de los test

psicométricos. Un patrón similar fue hallado en las dos medidas de error, aunque el error positivo medio no correlacionó con ningún test de la batería WAIS, al contrario que el error negativo medio (tablas A7 y A8 del anexo 1).

Seguimiento

En el test de seguimiento horizontal, la ganancia media y el ECM de posición, tanto total como durante el seguimiento, correlacionaron con prácticamente todos los parámetros psicométricos. La latencia también mostró correlaciones significativas con una gran cantidad de parámetros psicométricos (Tabla A9 del anexo 1).

En la versión vertical del test volvió a observarse una predominancia de las correlaciones en las que estaban implicadas las variables del ECM de posición. En este caso, la ganancia media también correlacionó de forma significativa con gran cantidad de variables psicométricas, aunque en ningún caso esto incluyó variables del test d2, al contrario que en la variable homóloga de la versión horizontal. El recuento de SWJ también mostró una gran cantidad de correlaciones significativas (Tabla A10 del anexo 1).

En el caso de la versión sinusoidal del test, de forma similar a la versión horizontal, tanto la ganancia media como las variables del ECM de posición correlacionaron de forma significativa con la gran mayoría de variables psicométricas. Los parámetros de tiempo de seguimiento y ECM de velocidad durante el seguimiento también correlacionaron significativamente con gran cantidad de variables psicométricas (Tabla A11 del anexo 1).

Fijación

En el test de fijación fue donde las correlaciones significativas alcanzaron valores absolutos de r más bajos. Esto quedó reflejado también en el hecho de que ninguna correlación llegase a tener un p valor inferior a 0,01 tras la corrección de estos.

La mayor cantidad de correlaciones significativas se observó con las variables de BCEA y de la desviación típica del posicionamiento horizontal, que correlacionaron con casi todos los parámetros psicométricos. El recuento de sácadas voluntarias también correlacionó con gran cantidad de parámetros psicométricos (tablas A12 y A13 del anexo 1).

Resumen de las correlaciones más elevadas

La mayoría de correlaciones significativas se encontraron en los test de antisácadas (Tabla 23). A nivel general, la correlación más alta observada se dio entre la latencia media de las sácadas reflexivas del test de antisácadas horizontales y la cantidad de respuestas correctas durante el test SDMT Oral ($r = -0,613$; $p < 0,001$).

En el test de antisácadas horizontales fue donde se halló un mayor número de correlaciones significativas y, de entre estas, correlaciones con un $|r| > 0,5$. Por el contrario, en el test de fijación fue donde las correlaciones significativas alcanzaron un valor máximo más bajo, considerablemente inferior a los valores máximos alcanzados en el resto de test.

Tabla 23. Resumen de las correlaciones significativas entre los test de movimientos oculares y los test psicométricos Número de correlaciones significativas entre las alteraciones de movimientos oculares y los test psicométricos en cada uno de los test de movimientos oculares; y correlación más alta hallada en cada uno de los test.

Test de movimientos oculares	Nº de correlaciones significativas	Nº de correlaciones con $ r > 0,5$	Correlación más alta de cada test		
			r	Variable de movimientos oculares	Variable psicométrica
Sácadas visuales horizontales	27	1	0,515	Desviación típica de la latencia	NCT-A
Sácadas visuales verticales	33	2	0,525	Latencia media de retorno	NCT-B
Sácadas de memoria horizontales	64	4	-0,55	Recuento de sácadas correctas	Coordinación visomotora
Sácadas de memoria verticales	32	4	-0,604	Recuento de sácadas correctas	Coordinación visomotora
Antisácadas horizontales	243	20	-0,613	Latencia media de las sácadas reflexivas	SDMT Oral
Antisácadas verticales	167	4	-0,601	Latencia media de las sácadas reflexivas	SDMT Oral
Seguimiento horizontal	102	-	-0,489	Ganancia media	NCT-B
Seguimiento vertical	84	3	0,51	ECM de posición durante el seguimiento	NCT-B
Seguimiento sinusoidal	105	-	-0,466	ECM de posición total	Test de letras y números
Fijación	89	-	-0,363	BCEA	Tarea incongruente stroop

En todos los casos se usó la correlación de Spearman. NCT-A: *Number connection test A*. NCT-B: *Number connection test B*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. Con la excepción del ejemplo del test de fijación, todas las correlaciones mostradas presentaron p valor < 0,001. La correlación mostrada del test de fijación presentó un p valor < 0,05.

Una de las principales facetas de los movimientos oculares en la que se observaron correlaciones más altas fue la cantidad de movimientos sacádicos realizados correctamente (Tabla 24 y Figura 42). En los test de sácadas de memoria, un mayor número de movimientos sacádicos realizados correctamente correlacionó con una mejor ejecución del test de coordinación visomotora de Yela (Figura 42a y 41c), y una mejor ejecución del subtest DST de la batería PHES (Figura 42b y 41d). En la versión vertical del test se vio una alta correlación entre este parámetro y los resultados del test SDMT Oral (Figura 42e). En el test de antisácadas horizontal, un alto número de antisácadas realizadas correctamente correlacionó tanto con el subtest NCT-B de la batería PHES, como con el test SDMT Oral (Figura 42f y 41g). En todos los casos, un alto número de movimientos sacádicos realizados correctamente correlacionó con un mejor resultado en test que evaluaran la velocidad de procesamiento y la concentración, y en el caso de las sácadas de memoria, también con una mejor coordinación motora.

Las correlaciones con un valor de r más elevado incluyeron también la latencia de las sácadas realizadas reflexivamente durante los test de antisácadas (Tabla 24 y Figura 43). En ambas versiones del test, esta variable mostró niveles de correlación similares con los mismos parámetros de los test psicométricos. En todos los casos, una latencia más alta en este tipo de movimientos se correlacionó con un peor resultado en el test SDMT Oral (Figura 43a y 42b), en el subtest NCT-B de la batería PHES (Figura 43c y 42d), y en los test de coordinación visomotora (Figura 43e y 42f) y bimanual de Yela (Figura 43g y 42h). De forma similar a los resultados observados con el recuento de movimientos sacádicos correctos, una menor latencia en las sácadas reflexivas correlacionó con un mejor resultado en test que evaluaran la concentración, la velocidad de procesamiento, y la coordinación motora.

Tabla 24. Correlaciones observadas con un valor absoluto de r más alto.

Test de movimientos oculares	Variable de movimientos oculares	Variable psicométrica	r
Sácadas de memoria horizontales	Número de sácadas correctas	Coordinación visomotora	-0,55
		DST	0,535
Sácadas de memoria verticales	Número de sácadas correctas	Coordinación visomotora	-0,604
		SDMT Oral	0,588
		DST	0,543
		SDMT Oral	-0,613
Antisácadas horizontales	Latencia media de las sácadas reflexivas	NCT-B	0,604
		Coordinación visomotora	0,554
	Número de antisácadas correctas	Coordinación bimanual	0,547
		NCT-B	-0,571
		SDMT Oral	0,554
		SDMT Oral	-0,601
Antisácadas verticales	Latencia media de las sácadas reflexivas	Coordinación visomotora	0,585
		NCT-B	0,55
		Coordinación bimanual	0,55

En todos los casos se usó la correlación de Spearman. DST: *Digit symbol test*. NCT-B: *Number connection test*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. Todas las correlaciones mostradas presentaron un p valor < 10⁻⁹.

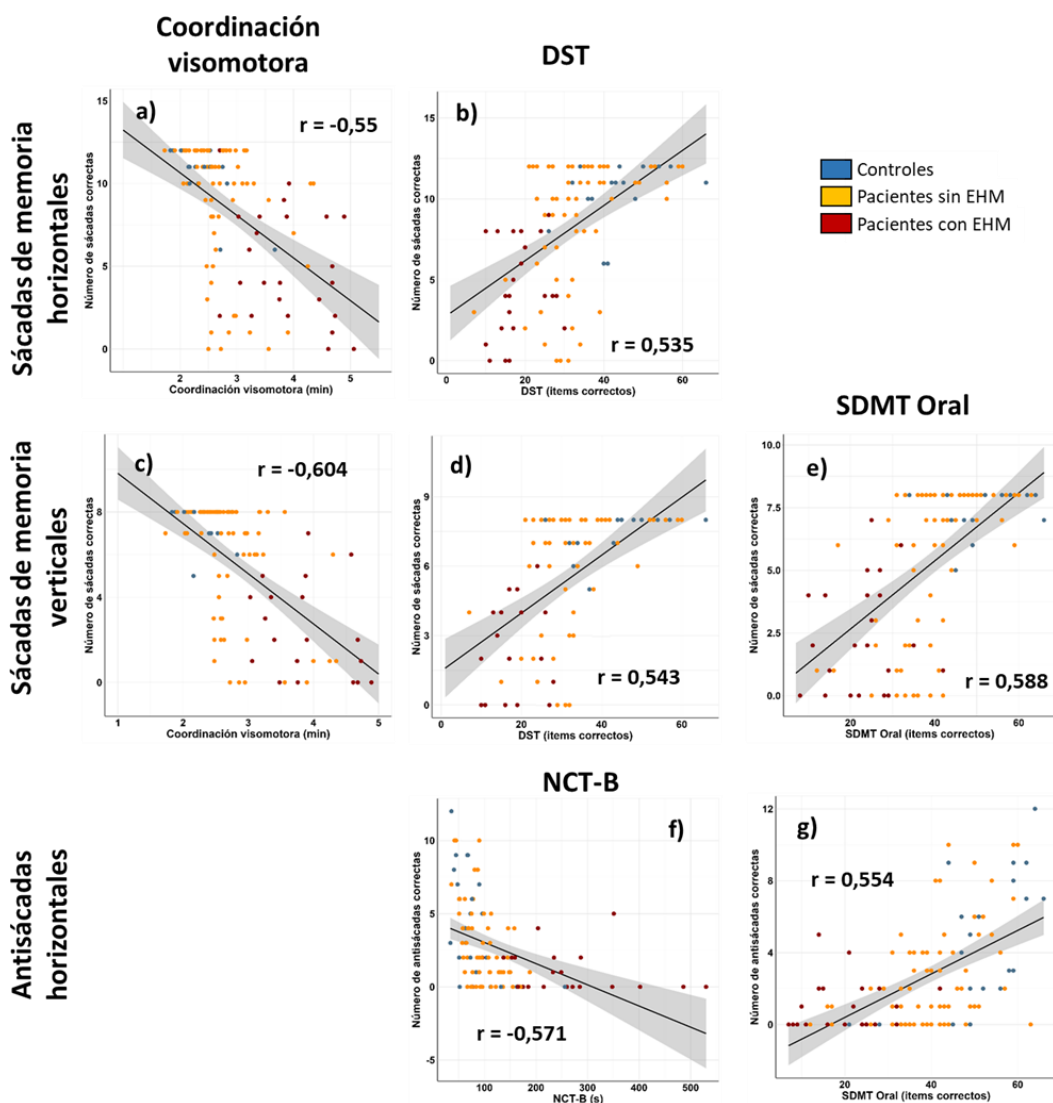


Figura 42. Gráficos de correlación del recuento de movimientos sacádicos correctos. Gráficos de puntos, y líneas de regresión con rangos de confianza, para las correlaciones con $|r|$ más alto entre el número de movimientos sacádicos correctos y los test psicométricos. Entre los test de movimientos oculares cuyas variables se muestran se encuentran: test de sacadas de memoria horizontales (a y b), test de sacadas de memoria verticales (c-e), y test de antisacadas horizontales (f y g). Entre las variables de los test psicométricos correlacionadas se encuentran: coordinación visomotora (a y d), subtest DST de la batería PHES (b y d), SDMT oral (e y g), y subtest NCT-B de la batería PHES (f). Se muestra el valor de r para las correlaciones de Spearman realizadas. DST: *Digit symbol test*. NCT-B: *Number connection test B*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. Todas las correlaciones mostraron un p valor $< 10^{-9}$.

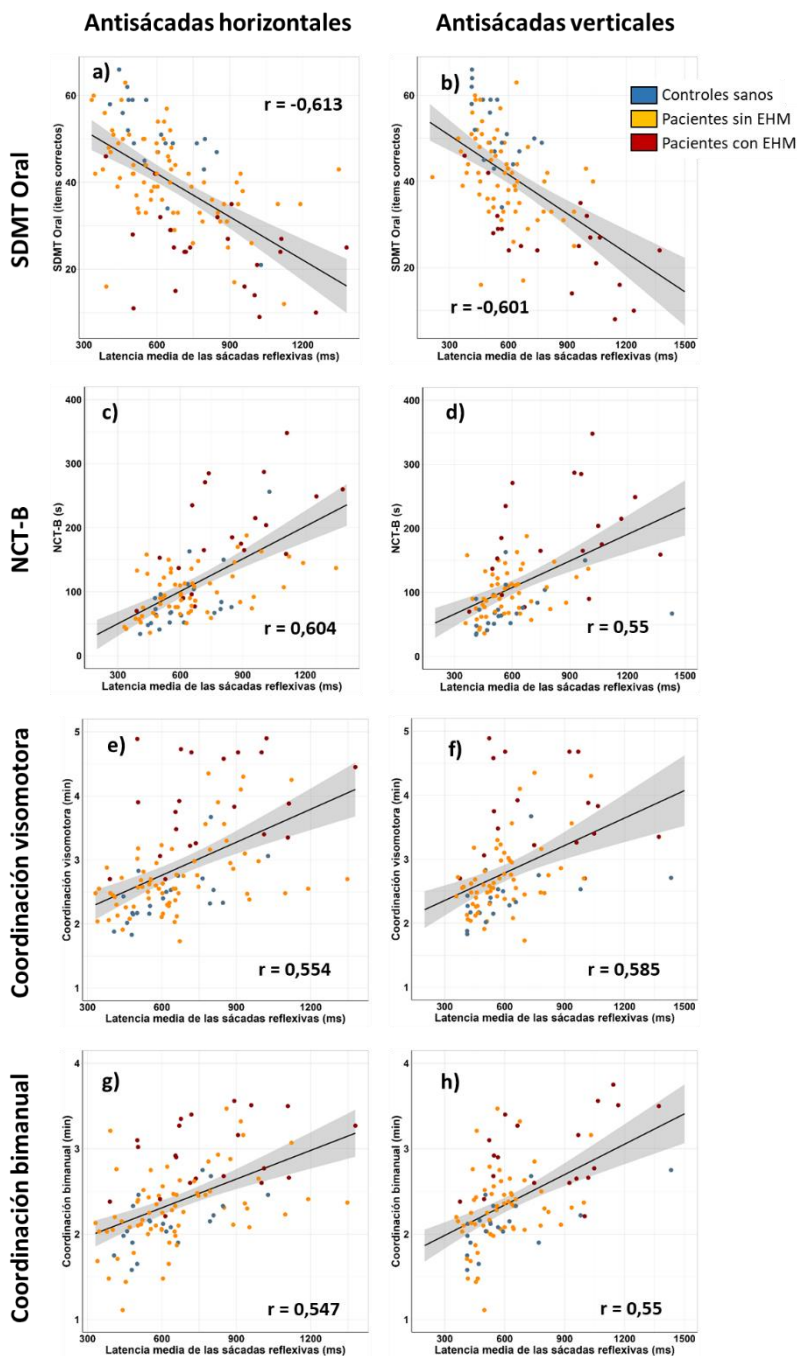


Figura 43. Gráficos de correlación de la latencia media de las sácadas reflexivas. Gráficos de puntos, y líneas de regresión con rangos de confianza, para las correlaciones con mayor $|r|$ entre la latencia media de las sácadas reflexivas y los test psicométricos. Se incluyen variables de los test de antisácadas horizontales (a, c, e y g) y verticales (b, d, f y h). De los test psicométricos se incluyen: SDMT Oral (a y b), el subtest NCT-B de la batería PHES (c y d), coordinación visomotora (e y f), y coordinación bimanual (g y h). Se muestra el valor de r para las correlaciones de Spearman realizadas. DST: *Digit symbol test*. NCT-B: *Number connection test B*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. Todas las correlaciones mostraron un p valor $< 10^{-9}$.

1.6. Poder discriminatorio de las alteraciones de los movimientos oculares

Con el objetivo de determinar la capacidad diagnóstica para EHM de los parámetros de movimientos oculares, se llevaron a cabo análisis de curvas ROC (del inglés, *Receiver Operating Characteristic*).

Estos análisis se realizaron únicamente sobre los parámetros en los que se había observado una diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes sin EHM y con EHM, y solamente se tuvieron en cuenta los dos grupos de pacientes, sin incluir a los controles sin cirrosis.

Para cada variable analizada se obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad, además del valor del área bajo la curva ROC (AUC) y el rango de confianza del mismo.

1.6.1. Alteraciones de las sácadas visuales

En las 5 variables de los test de sácadas visuales analizadas se obtuvieron valores de AUC bastante similares, entre 0,63 y 0,7 (Tabla 25). En todos los casos, estas variables estaban relacionadas con la latencia.

Para las mediciones de la latencia media, en ambas versiones del test se obtuvieron puntos de corte óptimos similares. En ambos casos, el punto de corte óptimo para la latencia media de los movimientos sacádicos principales fue aproximadamente 10 ms más alta que para los movimientos sacádicos de retorno. A su vez, los puntos de corte óptimos obtenidos en la versión horizontal del test fueron aproximadamente 15 ms más bajos que en la versión vertical.

La variable con los mejores resultados fue la desviación típica de la latencia en la versión horizontal del test, con una AUC de 0,703 (Figura 44). Los pacientes con EHM presentaban una mayor variabilidad en su latencia, siendo el punto de corte óptimo 37,6 ms. A partir de estos valores, aunque la mayoría de pacientes con EHM quedaban clasificados correctamente como tales (79,2% de sensibilidad), los pacientes sin EHM quedaban clasificados en casi la mitad de casos como falsos positivos (56,9% de especificidad).

Tabla 25. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las sácadas visuales para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos.

Parámetro	AUC (95% IC)	Punto de corte	P valor	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Latencia media (H)	0,652 (0,515-0,789)	252 ms	0,026	50	83,3
Desviación típica de la latencia (H)	0,703 (0,583-0,822)	37,6 ms	0,003	79,2	56,9
Latencia media de retorno (H)	0,654 (0,505-0,804)	241 ms	0,024	50	87,5
Latencia media (V)	0,631 (0,494-0,768)	267 ms	0,056	58,3	68,5
Latencia media de retorno (V)	0,671 (0,544-0,799)	258 ms	0,012	69,1	58,3

Se muestran los valores del área bajo la curva ROC (AUC), sensibilidad y especificidad asociados al potencial discriminatorio de todas las variables con alteraciones significativas entre pacientes sin EHM y EHM en los test de sácadas visuales. H: Versión horizontal del test. V: Versión vertical del test. IC: Intervalo de confianza.

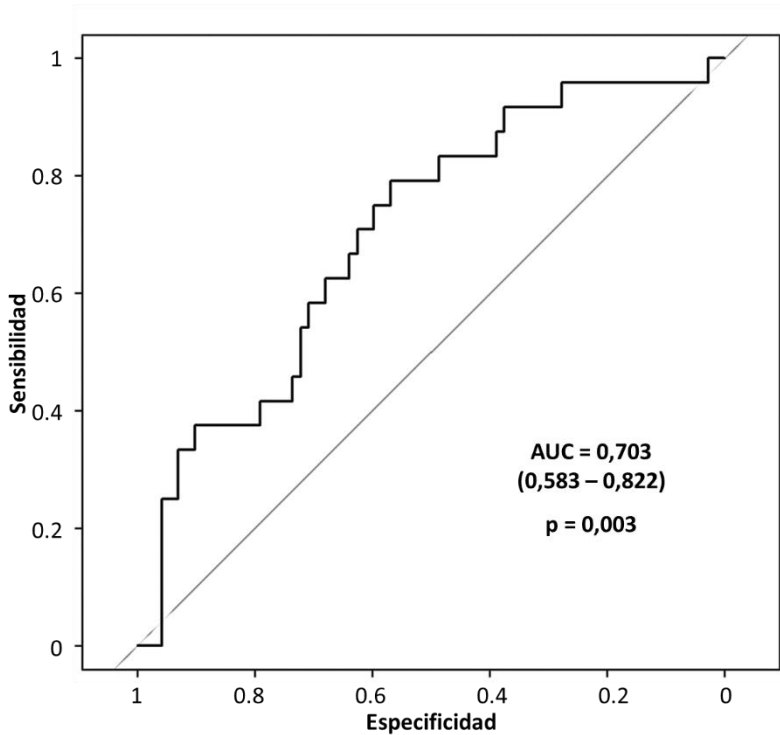


Figura 44. Curva ROC de la desviación típica de la latencia del test de sácadas visuales horizontales para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis. AUC, área bajo la curva; entre paréntesis, intervalo de confianza.

1.6.2. Alteraciones de las sácadadas de memoria

En las 4 variables de los test de sácadadas de memoria analizadas se obtuvieron valores de AUC bastante similares, entre 0,72 y 0,79 (Tabla 26).

Destaca la presencia de la latencia media de las sácadadas de memoria verticales, cuyo punto de corte óptimo (270 ms) proporcionaba un 100% de sensibilidad, a costa de una especificidad del 39%. Con estos resultados, aunque todos los pacientes con EHM quedaban clasificados como tales, la mayoría de pacientes sin EHM también eran clasificados como falsos positivos.

La variable con los mejores resultados fue el recuento de sácadadas realizadas correctamente en la versión vertical del test, con una AUC de 0,789 (Figura 45). Los pacientes con EHM realizaron correctamente un menor número de movimientos sacádicos, siendo el punto de corte óptimo 6 sácadadas correctas (los movimientos totales realizados en este test son 8). A partir de estos valores se obtuvo un 69,7% de sensibilidad y un 87,5% de especificidad.

Tabla 26. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las sácadadas de memoria para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos.

Parámetro	AUC (95% IC)	Punto de corte	P valor	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Recuento de sácadadas correctas (H)	0,747 (0,648-0,846)	9	<0,0001	67,9	85,7
Latencia media (V)	0,724 (0,576-0,872)	270 ms	0,015	100	39,3
Error positivo medio (V)	0,786 (0,635-0,937)	2,07 ^a	0,01	62,5	88,5
Recuento de sácadadas correctas (V)	0,789 (0,697-0,882)	6	<0,0001	69,7	87,5

Se muestran los valores del área bajo la curva ROC (AUC), sensibilidad y especificidad asociados al potencial discriminatorio de todas las variables con alteraciones significativas entre pacientes sin EHM y EHM en los test de sácadadas de memoria. H: Versión horizontal del test. V: Versión vertical del test. IC: Intervalo de confianza.

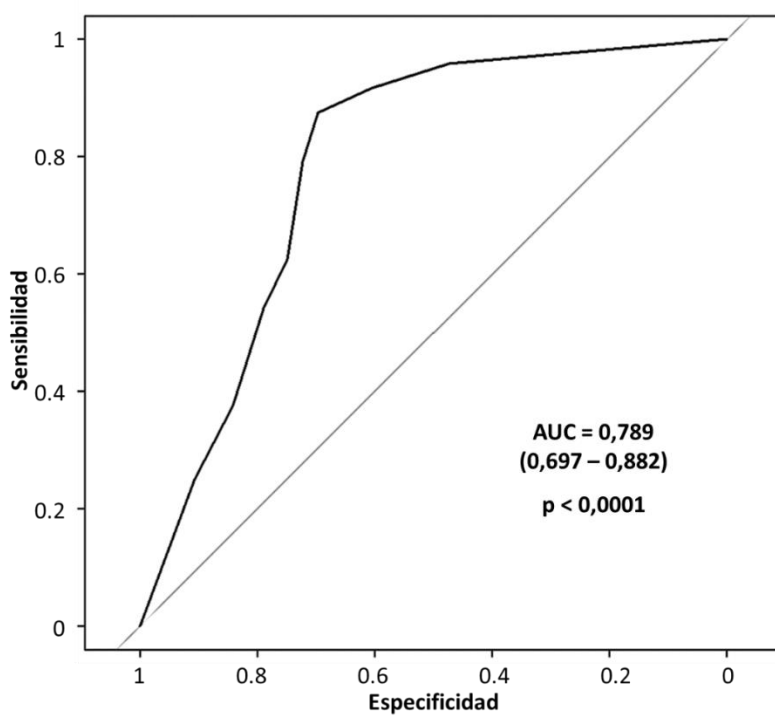


Figura 45. Curva ROC del recuento de sácdas realizadas correctamente en el test de sácdas de memoria verticales para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis. AUC, área bajo la curva; entre paréntesis, intervalo de confianza.

1.6.3. Alteraciones de las antisácadas

En los test de antisácadas se hallaron 22 variables con diferencias significativas entre pacientes con y sin deterioro cognitivo. Como resultado de los análisis de la capacidad discriminatoria llevados a cabo en estas variables se obtuvieron valores de AUC más diversos que en otros test, y que en los casos más altos llegaron prácticamente a 0,8 (Tablas 27 y 28).

En el caso de los parámetros de recuento, y especialmente en aquellos asociados con algún tipo de movimiento erróneo, se observaron puntos de corte muy restrictivos. En la mayoría de estos casos, cualquier paciente que realizase uno de estos movimientos más de una vez durante la prueba sería clasificado como EHM.

Al estudiar la latencia media de las sácadas reflexivas de la versión vertical del test se obtuvo una AUC de 0,792 (Figura 46). Esta fue la variable con el valor de AUC más alto de entre todas las que fueron analizadas. Los pacientes mostraron una mayor latencia para este tipo de movimientos oculares, con un punto de corte óptimo en 924 ms. Con este punto de corte se obtuvo un 56,5% de sensibilidad y un 93,6% de especificidad, lo cual indicaría que esta variable presentaba una gran capacidad para clasificar a los pacientes sin EHM como tales, pero que clasificaba a casi la mitad de pacientes con EHM de forma errónea.

En general, se observaron valores de AUC sutilmente superiores en los parámetros pertenecientes a la versión vertical del test que en los de la versión horizontal.

Tabla 27. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las antisácadas horizontales para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos.

Parámetro	AUC (95% IC)	Punto de corte	P valor	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Latencia media de las sácadas reflexivas	0,69 (0,565-0,815)	655 ms	0,006	75	61,1
Desviación típica de la latencia de las sácadas reflexivas	0,66 (0,522-0,797)	166 ms	0,033	80	57,1
Duración media de las sácadas reflexivas	0,667 (0,54-0,794)	218 ms	0,015	87,5	40,8
Desviación típica de la duración de las sácadas reflexivas	0,64 (0,499-0,781)	166 ms	0,062	75	60,3
Error positivo medio	0,661 (0,532-0,789)	2,46 °	0,021	83,3	52,4
Desviación típica del error positivo	0,679 (0,551-0,807)	1,97 °	0,023	83,3	50
Error negativo medio	0,656 (0,524-0,788)	-2,9 °	0,035	53,7	80
Desviación típica del error negativo	0,716 (0,573-0,858)	2,97 °	0,009	81,2	62,1
Recuento de antisácadas correctas	0,668 (0,561-0,775)	3	0,006	39,5	90
Recuento de antisácadas incorrectas	0,662 (0,549-0,776)	3	0,006	50	77,6
Recuento de sácadas reflexivas de segundo orden	0,595 (0,505-0,685)	1	0,017	30	89,5

Se muestran los valores del área bajo la curva ROC (AUC), sensibilidad y especificidad asociados al potencial discriminatorio de todas las variables con alteraciones significativas entre pacientes sin EHM y EHM en el test de antisácadas horizontal. IC: Intervalo de confianza.

Tabla 28. Potencial diagnóstico de las alteraciones de las antisácadas verticales para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos.

Parámetro	AUC (95% IC)	Punto de corte	P valor	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Latencia media	0,759 (0,598-0,92)	464 ms	0,003	78,6	68
Latencia media de las sácadas reflexivas	0,792 (0,672-0,912)	924 ms	<0,0001	56,5	93,6
Duración media de las sácadas reflexivas	0,656 (0,507-0,804)	324 ms	0,028	47,8	84,1
Error positivo medio	0,714 (0,58-0,847)	2,46 °	0,008	82,3	63
Desviación típica del error positivo	0,731 (0,577-0,886)	1,53 °	0,016	75	65
Error negativo medio	0,71 (0,573-0,848)	-4,36 °	0,003	72,3	69,6
Desviación típica del error negativo	0,697 (0,508-0,885)	4,33 °	0,029	61,5	87,3
Recuento de antisácadas corregidas	0,64 (0,524-0,756)	3	0,026	67,1	62,1
Recuento de antisácadas incorrectas	0,69 (0,58-0,8)	1	0,001	72,4	60,5
Recuento de antisácadas anticipadas	0,625 (0,513-0,738)	1	0,031	65,5	59,2
Desviación típica de la velocidad máxima de retorno	0,672 (0,543-0,801)	144 °/s	0,01	53,8	83,3

Se muestran los valores del área bajo la curva ROC (AUC), sensibilidad y especificidad asociados al potencial discriminatorio de todas las variables con alteraciones significativas entre pacientes sin EHM y EHM en el test de antisácadas vertical. IC: Intervalo de confianza.

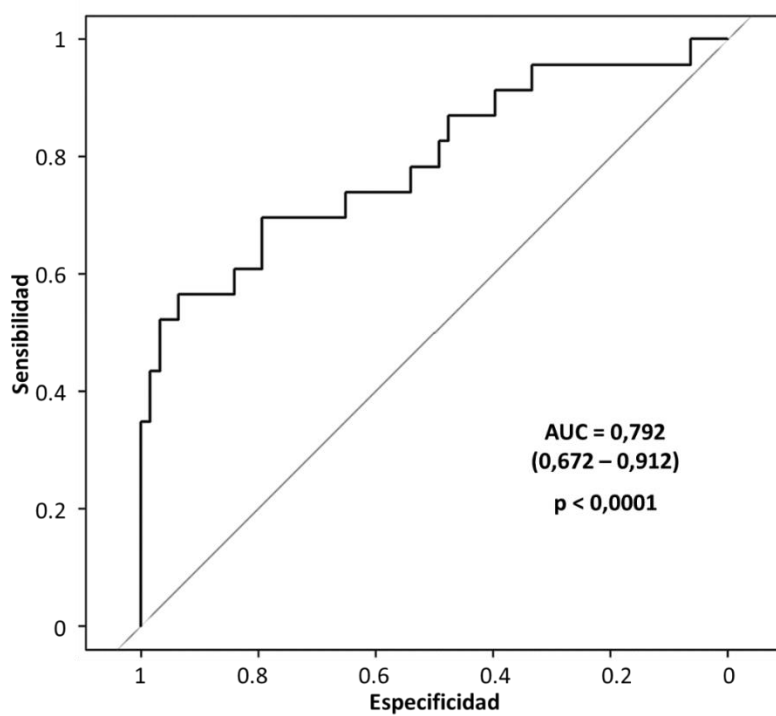


Figura 46. Curva ROC de la latencia media de las sácadasy reflexivas en el test de antisácadasy verticales para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis. AUC, área bajo la curva; entre paréntesis, intervalo de confianza.

1.6.4. Alteraciones del seguimiento

En los test de seguimiento se observaron 16 variables con diferencias significativas entre los pacientes sin EHM y con EHM. En todos los casos, la AUC resultante de los análisis realizados se halló entre 0,6 y 0,7 (Tabla 29).

En las tres versiones del test se observó una presencia predominante de las variables del error cuadrático medio (ECM) de posición. En todos los casos, las diferencias entre el ECM de posición total y el ECM durante el seguimiento de una misma versión del test fueron mínimas, tanto en su potencial discriminatorio como en sus puntos de corte óptimos. En las versiones horizontal y sinusoidal del test estas variables presentaron puntos de corte óptimos similares alrededor de 3º, y una sensibilidad y especificidad equilibradas alrededor del 60%. En la versión vertical del test los puntos de corte óptimos de estas variables estaban más cerca de 1º, y se observaron unos valores muy altos de sensibilidad a costa de una especificidad inferior al 50%.

En las variables de recuento de movimientos sacádicos correctores fue llamativo que el recuento de sácadas *catch-up*, tanto de la versión vertical del test como de la sinusoidal, presentasen el mismo punto de corte óptimo. El recuento de sácadas *catch-up* verticales, además, obtuvo el área bajo la curva más alta de entre todos los parámetros de los test de seguimiento, con un valor de 0,709 (Figura 47).

En cuanto a la ganancia, que también presentaba diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con y sin EHM en todas las versiones del test, se observó un valor mucho menos exigente en las versiones horizontal y vertical del test que en la versión sinusoidal. Esta diferencia podría deberse a los cambios de velocidad inherentes a la versión sinusoidal del test.

Finalmente, los parámetros que medían el tiempo durante el cual el paciente había seguido el estímulo visual fueron considerados también en las versiones horizontal y vertical del test, con un punto de corte más exigente en la versión horizontal. Esto podría deberse a una mayor facilidad de los pacientes para seguir el estímulo visual en el plano horizontal.

Tabla 29. Potencial diagnóstico de las alteraciones del seguimiento para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos.

Parámetro	AUC (95% IC)	Punto de corte	P valor	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Recuento de parpadeos (H)	0,651 (0,536-0,766)	3	0,015	58,6	66,7
Recuento de sácadas back-up (H)	0,649 (0,54-0,758)	1	0,008	62,1	68
Tiempo de seguimiento (H)	0,639 (0,527-0,75)	91,6 %	0,029	50,1	79,3
ECM de posición total (H)	0,603 (0,483-0,724)	2,96 °	0,104	62,1	64
ECM de posición durante el seguimiento (H)	0,602 (0,482-0,721)	2,96 °	0,109	58,6	65,3
Ganancia (H)	0,646 (0,534-0,758)	0,8	0,022	57,3	79,3
Recuento de sácadas catch-up (V)	0,709 (0,594-0,823)	17	0,001	67,8	69
Tiempo de seguimiento (V)	0,652 (0,534-0,771)	86,4 %	0,019	87,3	42,9
ECM de posición total (V)	0,671 (0,565-0,776)	1,39 °	0,008	92,9	40,8
ECM de posición durante el seguimiento (V)	0,68 (0,575-0,784)	1,16 °	0,006	100	35,2
Ganancia (V)	0,68 (0,568-0,791)	0,78	0,006	59,1	82,1
ECM de velocidad durante el seguimiento (V)	0,64 (0,525-0,754)	6,26 °/s	0,031	78,6	53,5
Recuento de sácadas catch-up (S)	0,695 (0,584-0,806)	17	0,004	80,8	56,9
ECM de posición total (S)	0,653 (0,528-0,779)	3,03 °	0,023	65,4	67,2
ECM de posición durante el seguimiento (S)	0,654 (0,529-0,78)	2,96 °	0,022	65,4	67,2
Ganancia (S)	0,644 (0,523-0,765)	0,91	0,034	43,7	88,5

Se muestran los valores del área bajo la curva ROC (AUC), sensibilidad y especificidad asociados al potencial discriminatorio de todas las variables con alteraciones significativas entre pacientes sin EHM y EHM en los test de seguimiento. H: Versión horizontal del test. V: Versión vertical del test. S: versión sinusoidal del test. ECM: Error cuadrático medio. IC: Intervalo de confianza.

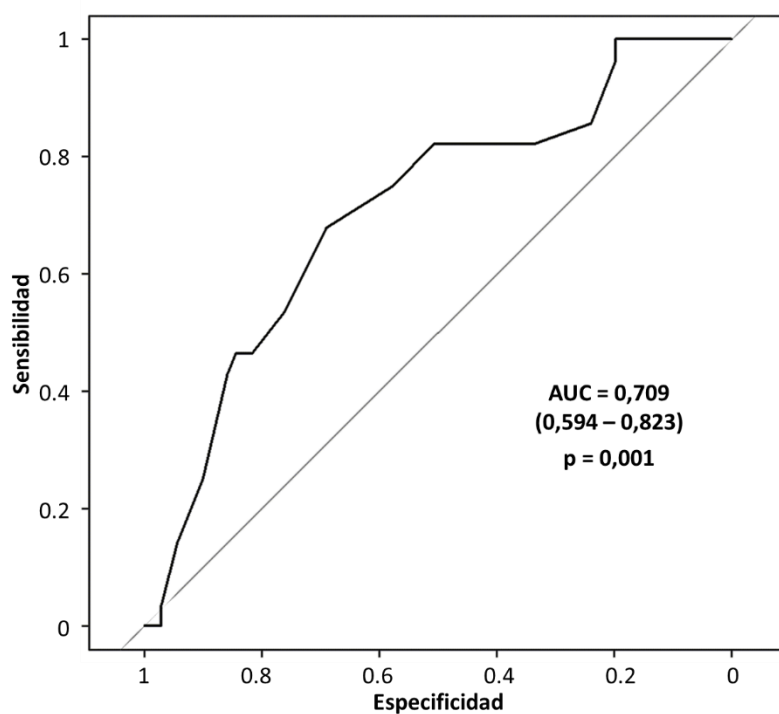


Figura 47. Curva ROC del recuento de sácadass catch-up durante el test de seguimiento vertical para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis. AUC, área bajo la curva; entre paréntesis, intervalo de confianza.

1.6.5. Alteraciones de la fijación

En el test de fijación fueron detectadas 11 variables en las que se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con y sin EHM. En todos los casos, la AUC obtenida a partir de los análisis realizados quedó enmarcada entre 0,6 y 0,7 (Tabla 30).

En las variables centradas en el recuento de movimientos oculares, y también del número de parpadeos, se observaron puntos de corte óptimos muy restrictivos. Según estas variables, se clasificaría a cualquier paciente como EHM si realizaba cualquiera de estos movimientos más de una o dos veces a lo largo del test de fijación.

En cuanto a los parámetros del área de fijación y sus características, la *Bivariate Contour Ellipse Area* (BCEA), que sirve de indicativo para el tamaño del área de fijación, fue una de las variables con una AUC más alta, de 0,698. Esta variable mostró niveles de sensibilidad muy altos, pero una especificidad inferior al 50%.

La medida de la amplitud media de las microsácadas mostró un nivel de sensibilidad del 100%, pero su especificidad fue inferior al 30%. De forma similar, la medida de la amplitud media de los *drifts* obtuvo también una alta sensibilidad y una AUC de 0,71, que fue la más alta de entre todos los parámetros del test de fijación. No obstante, sus niveles de especificidad fueron también inferiores al 50% (Figura 48).

Tabla 30. Potencial diagnóstico de las alteraciones de la fijación para la detección de la encefalopatía hepática mínima en pacientes cirróticos.

Parámetro	AUC (95% IC)	Punto de corte	P valor	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Recuento de parpadeos	0,662 (0,548-0,776)	3	0,011	71,4	58,1
Recuento de drifts	0,626 (0,505-0,748)	2	0,042	64,3	64,9
Recuento de SWJ bifásicos	0,614 (0,498-0,731)	1	0,048	57,1	63,5
Recuento de distracciones	0,618 (0,512-0,725)	1	0,018	42,9	81,1
BCEA	0,698 (0,594-0,802)	0,394 ^{º2}	0,002	92,9	45,2
Error horizontal del posicionamiento medio	0,644 (0,527-0,762)	0,198 ^º	0,025	61,6	71,4
Desviación típica del posicionamiento horizontal	0,65 (0,537-0,763)	0,303 ^º	0,02	75	53,4
Amplitud media de las microsácadas	0,613 (0,499-0,726)	0,277 ^º	0,092	100	27,1
Velocidad media de las microsácadas	0,66 (0,549-0,772)	14,7 ^{º/s}	0,016	76,9	54,3
Velocidad máxima media de las microsácadas	0,621 (0,507-0,735)	22,5 ^{º/s}	0,071	96,1	31,9
Amplitud media de los drifts	0,71 (0,58-0,84)	0,191 ^º	0,008	95	43,9

Se muestran los valores del área bajo la curva ROC (AUC), sensibilidad y especificidad asociados al potencial discriminatorio de todas las variables con alteraciones significativas entre pacientes sin EHM y EHM en el test de fijación. IC: Intervalo de confianza. BCEA: *Bivariate contour ellipse area*. SWJ: *Square wave jerks*.

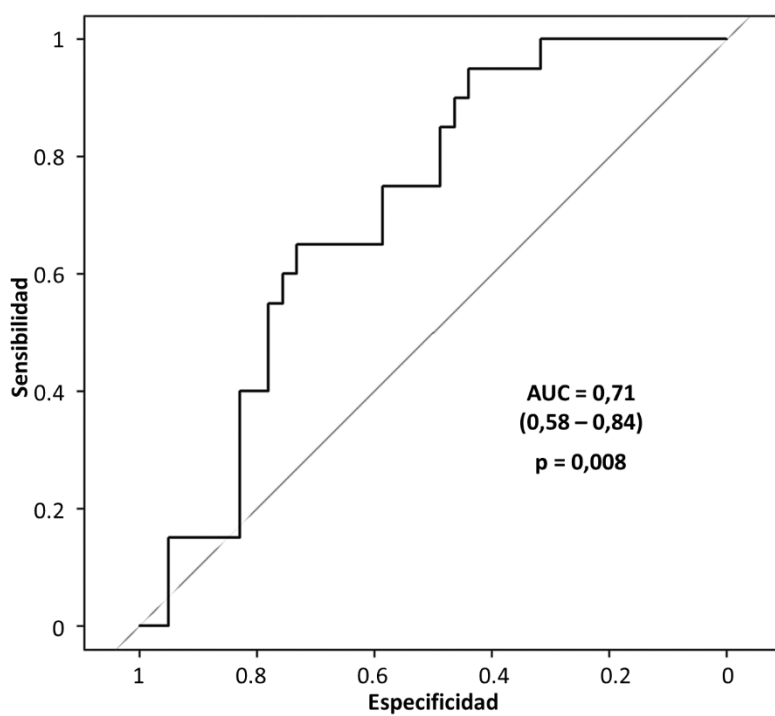


Figura 48. Curva ROC de la amplitud media de los drifts durante el test de fijación para el diagnóstico de la EHM en pacientes con cirrosis. AUC, área bajo la curva; entre paréntesis, intervalo de confianza.

1.7. Análisis de la distribución de los sujetos mediante modelos de aprendizaje automático

Tomando como referencia todas las variables de los test de movimientos oculares en las que se observó alguna diferencia significativa entre los distintos grupos de estudio, se intentó explorar la existencia de patrones de distribución dentro de la muestra, y su capacidad para distinguir, en su conjunto, entre estos grupos. Para llevar a cabo estos análisis se recurrió a métodos de aprendizaje automático, tanto no supervisados como supervisados.

Debido a la naturaleza de los métodos usados en este apartado, fue necesario recurrir a técnicas de imputación múltiple (Rubin, 1987; Lall, 2017), capaces de suplir la existencia de valores perdidos en el conjunto de datos de los test de movimientos oculares, que ocupaban un 20% de los valores totales. Como resultado de este proceso de imputación, y del estricto control de calidad realizado posteriormente para asegurar que la distribución final de los datos era similar a la distribución antes de la imputación, fue necesario limitar la muestra usada a un total de 99 sujetos (24 Controles, 57 pacientes sin EHM y 18 pacientes con EHM).

1.7.1. Exploración de la distribución de sujetos mediante aprendizaje no supervisado

Con el objetivo de explorar los patrones de distribución presentes en la muestra de pacientes, se recurrió al análisis de componentes principales (PCA). Se realizaron tres PCA, incluyendo los test de la batería PHES, el resto de test psicométricos, y el conjunto de variables de los test de movimientos oculares en los que se habían observado diferencias significativas entre los grupos de estudio. En todos los PCA realizados se llevó a cabo una estandarización previa de las variables, y se usaron las dos primeras componentes principales generadas para representar la posición de los sujetos de estudio en un espacio de dos dimensiones. A raíz de estas representaciones se obtuvieron las figuras 49 a 51.

PCA con los subtest de la batería PHES

En primer lugar, y a modo de referencia, se realizó un PCA usando la puntuación de los cinco subtest que componen la batería PHES, además de la edad y los años de formación de los sujetos. Las dos primeras componentes principales obtenidas a partir de esta combinación de parámetros fueron capaces de explicar un 71,1% de la variabilidad de la muestra. La distribución de sujetos resultante se encuentra representada en la Figura 49.

En la representación gráfica obtenida de este análisis se observó una separación clara entre un espacio dominado por pacientes con EHM y un espacio dominado por una combinación de Controles y pacientes sin EHM, entre los que no se apreciaron diferencias en la distribución.

La diferencia en el espacio ocupado por cada grupo de sujetos se observó también en el hecho de que tanto los Controles como los pacientes sin EHM quedaron distribuidos, en su mayoría, dentro de una nube de puntos más bien homogénea, mientras que los pacientes con EHM quedaron separados, ocupando un espacio más amplio y con una distribución mucho menos densa. Esta diferencia sería indicativa, no solo de las diferencias en los valores obtenidos por cada grupo, sino también de la mayor diversidad de valores en los pacientes con EHM. Algunos de los pacientes con EHM quedaron posicionados en la periferia de la nube de puntos dominada por Controles y pacientes sin EHM, mezclándose con algunos pacientes sin EHM.

Al estudiar los valores originales de los sujetos se pudo comprobar que los pacientes con EHM con una posición más alejada de la nube de puntos principal eran también aquellos con un deterioro cognitivo más severo según su puntuación en la batería PHES.

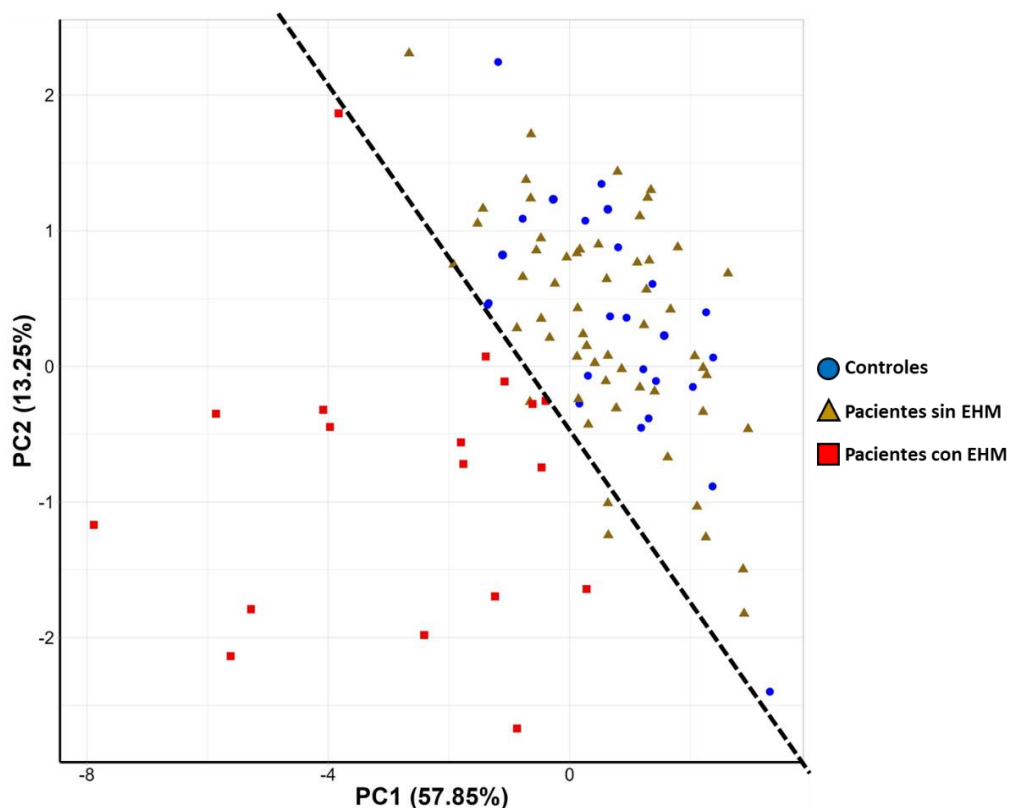


Figura 49. PCA con los subtest de la batería PHES. Representación de la distribución de los sujetos de estudio usando las dos primeras componentes principales resultantes de aplicar un PCA sobre el conjunto de subtest de la batería PHES, además de la edad y los años de formación de los sujetos. Se muestra una línea discontinua que separa visualmente el espacio dominado por los pacientes con EHM y el espacio dominado por los controles y los pacientes sin EHM. En cada eje se muestra el porcentaje de la variabilidad de la muestra que queda explicado por dicha componente principal.

PCA con el resto de test psicométricos

Tras la primera prueba se repitió el proceso una segunda vez, pero en esta ocasión se usaron las 13 variables de los otros test psicométricos realizados. Se excluyeron todos los valores directamente relacionados con la batería PHES, además de las variables TOT y CON del test d2, que eran una combinación lineal de las otras variables de ese mismo test. En este caso también se incluyeron la edad y los años de formación de los sujetos. Las dos primeras componentes principales obtenidas a partir de esta combinación de parámetros fueron capaces de explicar un 65,5% de la variabilidad de la muestra. La distribución de sujetos resultante se encuentra representada en la Figura 50.

Al contrario que en el caso del PCA realizado a partir de los subtest de la batería PHES, en este caso la mayoría de sujetos quedó distribuido dentro de una nube de puntos que ocupaba un espacio amplio. A pesar de formar parte de una misma nube de puntos, los pacientes con EHM y los Controles quedaron posicionados en lados claramente opuestos de la misma. Los pacientes sin EHM quedaron distribuidos de forma más difusa por todo el espacio, pero con una mayoría posicionada más bien alrededor de los Controles.

Resulta llamativo que, en este caso, dos pacientes con EHM quedaron posicionados claramente dentro del área dominada por los controles. Al revisar individualmente la situación de estos pacientes se pudo constatar que, dentro del grupo de pacientes con EHM, habían obtenido unos valores más altos en la batería PHES. En el PCA realizado con los subtest de la batería PHES estos dos pacientes habían quedado posicionados más cerca de los sujetos sin deterioro.

Por otro lado, varios pacientes sin EHM quedaron posicionados cerca de los pacientes con EHM. Al comparar la posición de este subgrupo de pacientes sin EHM en las figuras 49 y 50 se observó que, al tener en cuenta solamente los subtest de la batería PHES, estos quedaban claramente posicionados junto a los controles. También se observó un paciente sin EHM que quedó posicionado totalmente fuera del área dominada por el resto de sujetos, y al estudiar sus resultados en los test psicométricos se halló que esto se debía a una ejecución particularmente lenta de los test de coordinación de Yela, específicamente.

En general, los resultados de este PCA indicarían que, una pequeña proporción de los pacientes sin EHM presenta un comportamiento similar al de los pacientes con EHM al estudiar sus resultados en los test psicométricos no incluidos en la batería PHES.

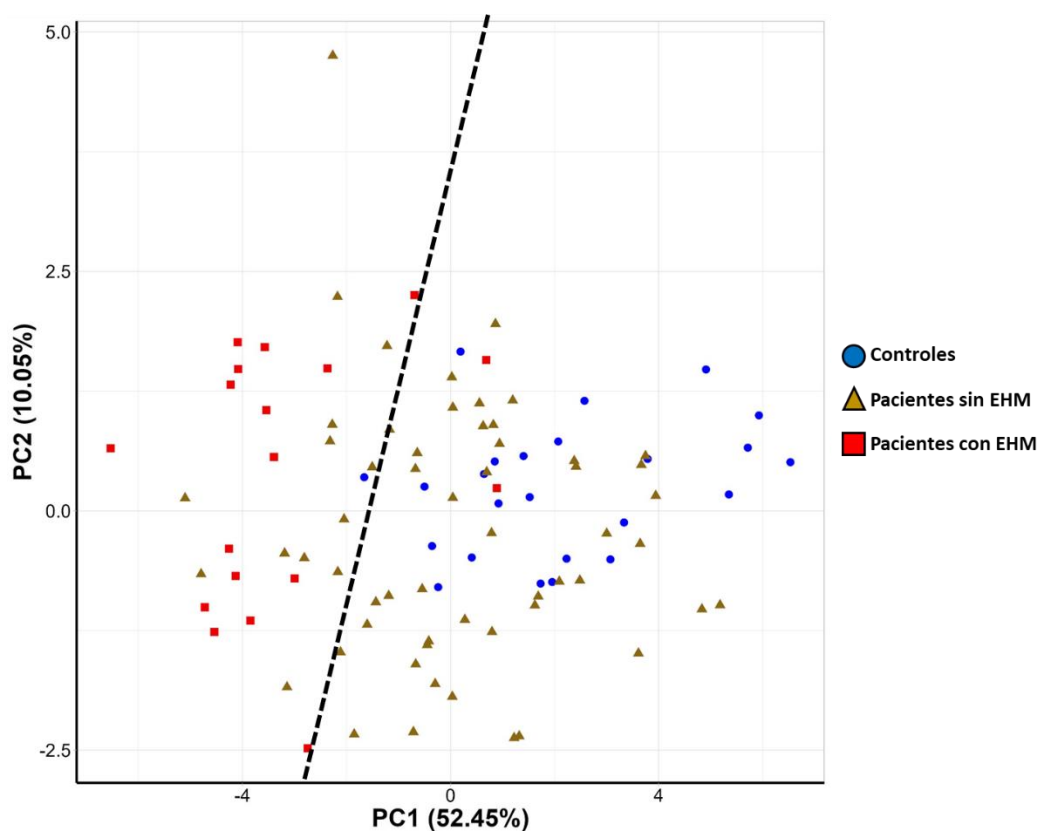


Figura 50. PCA con los test psicométricos no incluidos en la batería PHES. Representación de la distribución de los sujetos de estudio usando las dos primeras componentes principales resultantes de aplicar un PCA sobre el conjunto de parámetros resultantes de todos los test psicométricos no incluidos en la batería PHES, además de la edad y los años de formación de los sujetos. Se muestra una línea discontinua que separa visualmente el espacio en el que predominan los pacientes con EHM del espacio donde predominan los controles. En cada eje se muestra el porcentaje de la variabilidad de la muestra que queda explicado por dicha componente principal.

PCA con las variables de los movimientos oculares

Finalmente, se realizó un PCA en el que se incluyeron las 72 variables de los test de movimientos oculares en las que se habían observado diferencias estadísticamente significativas entre cualquiera de los grupos de estudio, además de la edad y los años de formación de los sujetos. Las dos primeras componentes principales obtenidas a partir

de esta combinación de parámetros fueron capaces de explicar el 30,15% de la variabilidad de la muestra. La distribución de los sujetos resultante se encuentra representada en la Figura 51.

El descenso que se observó en la proporción de la variabilidad que quedaba explicada por las componentes principales respecto de los casos anteriores podría deberse, en parte, a que, en este caso, se incluyó una cantidad mucho mayor de variables.

En esta ocasión los sujetos cayeron también, en su mayoría, dentro de una nube de puntos que ocupaba un área amplia. Dentro de esta nube de puntos, los controles y pacientes con EHM quedaron posicionados, mayormente, en extremos opuestos; mientras que los pacientes sin EHM quedaron distribuidos de forma difusa a lo largo de todo el espacio.

A pesar de que los controles y pacientes con EHM cayeron, mayormente, en coordenadas distintas dentro del espacio generado por las componentes principales, se observó una distribución mucho más entremezclada que en los ejemplos anteriores. Mientras que 3 pacientes con EHM quedaron posicionados muy cerca de la mayoría de controles, otros 6 controles quedaron posicionados alrededor del área dominada por la mayoría de pacientes con EHM. En el caso de los pacientes sin EHM no se observó una tendencia clara a posicionarse más cerca de los controles o de los pacientes con EHM.

En el caso de los pacientes con EHM que quedaron posicionados junto a la mayoría de controles, se observó que dos de estos coincidían con aquellos que ya quedaron posicionados junto a los controles en el PCA realizado con los test psicométricos. En cuanto a los pacientes sin EHM que quedaron posicionados junto a los pacientes con EHM, se observó que todos los pacientes de este grupo que cayeron junto a los pacientes con EHM en el PCA realizado con los test psicométricos, también quedaron posicionados junto a los pacientes con EHM en este caso. Además, algunos pacientes sin EHM que anteriormente no habían quedado posicionados junto a los pacientes con EHM, en este caso también aparecieron junto a este segundo grupo.

En el caso de los controles y pacientes sin EHM que quedaron posicionados en el área dominada por la mayoría de pacientes con EHM no se halló un patrón de distribución o similitud previa que pudiese ser indicativa de los resultados observados en la Figura 51. La única excepción fueron los pacientes sin EHM que, durante el análisis PCA realizado con los test psicométricos (Figura 50), ya habían quedado posicionados en el área dominada por los pacientes con EHM.

En comparación con los análisis PCA previos, se observó una mezcla mucho mayor de los tres grupos de estudio en el PCA de movimientos oculares. Este alto nivel de solapamiento indicaría que, incluso al limitar las variables usadas a aquellas en las que se observaban diferencias significativas entre los distintos grupos de estudio, algunos sujetos mostraban un comportamiento más similar al de miembros de otro grupo de estudio que al de otros sujetos de su mismo grupo de estudio. De forma mucho más limitada, esta mezcla entre grupos ya había sido observada en el análisis previo, en el que se había recurrido a los datos obtenidos de los test psicométricos.

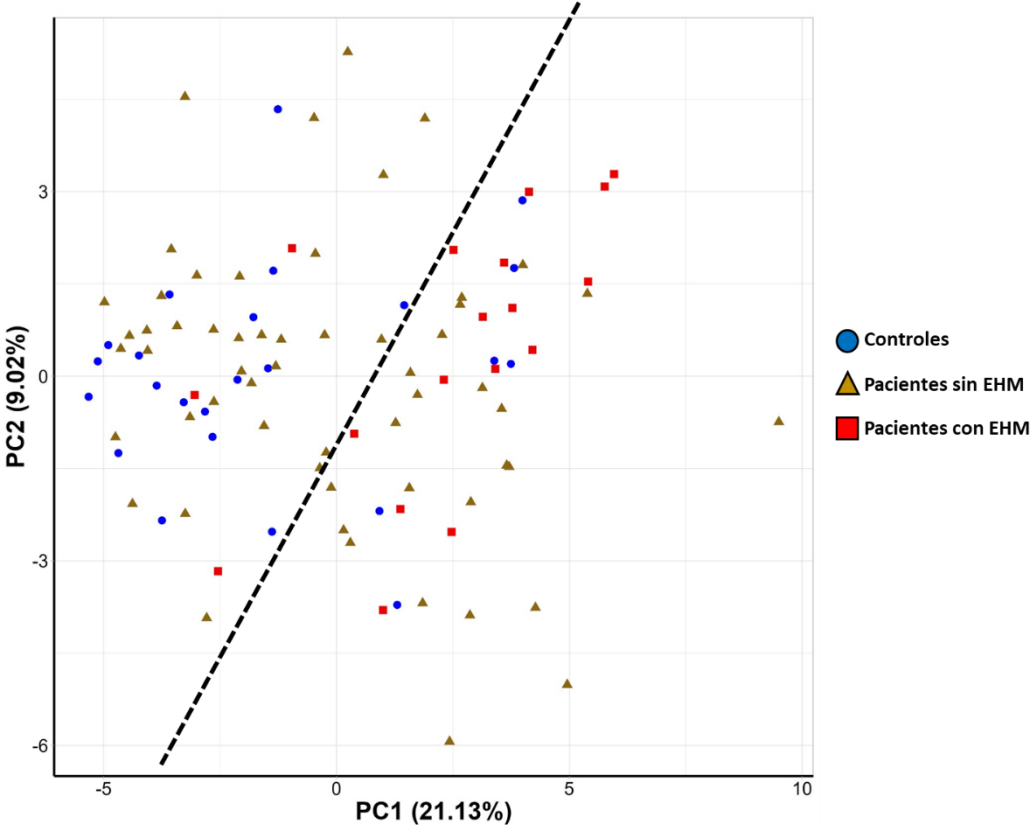


Figura 51. PCA con las variables de movimientos oculares alteradas. Representación de la distribución de los sujetos de estudio usando las dos primeras componentes principales resultantes de aplicar un PCA sobre el conjunto de parámetros de los test de movimientos oculares que habían sufrido alguna alteración estadísticamente significativa, además de la edad y los años de formación de los sujetos. Se muestra una línea discontinua que separa visualmente el espacio en el que predominan los pacientes con EHM del espacio donde predominan los controles. En cada eje se muestra el porcentaje de la variabilidad de la muestra que queda explicado por dicha componente principal.

1.7.2. Exploración de la separación entre pacientes mediante aprendizaje supervisado

Tras estudiar los patrones de distribución generales de la muestra de estudio, se procedió a explorar las diferencias entre los pacientes con EHM y sin EHM, y qué variables, o conjunto de variables, de movimientos oculares tenían un mayor peso a la hora de separar ambos grupos. Para llevar a cabo este estudio se recurrió al análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA).

Para la realización de este PLS-DA se usaron las 58 variables de los test de movimientos oculares en las que existían diferencias significativas entre pacientes con y sin EHM, que fueron previamente estandarizadas. No se tuvieron en cuenta las variables en las que se habían observado diferencias con los controles, pero no entre los pacientes con y sin EHM. También se desestimó a los controles del estudio, reduciendo la muestra a 57 pacientes sin EHM y 18 pacientes con EHM.

Como resultado de este análisis se obtuvo una serie de componentes principales. De forma similar a los casos ya expuestos en el apartado 1.7.1, con los análisis PCA, se representó la distribución de los pacientes en dos dimensiones, recurriendo a las dos primeras componentes generadas por el análisis PLS-DA.

Las dos primeras componentes obtenidas como resultado del análisis PLS-DA fueron capaces de explicar, en su conjunto, un 24,55% de la variabilidad de los pacientes con cirrosis. El bajo nivel de variabilidad explicada se podría deber, en parte, al gran número de variables usadas, además del enfoque de PLS-DA, que busca maximizar la distinción entre los dos grupos analizados, no la variabilidad representada de la muestra en su conjunto. La distribución de los pacientes dentro del espacio bidimensional generado a partir de las dos primeras componentes se puede observar en la Figura 52.

En la distribución resultante del PLS-DA se pudo observar una clara separación entre los pacientes sin EHM, posicionados, en su mayoría, en la mitad superior derecha del gráfico, y los pacientes con EHM, posicionados en la mitad inferior izquierda del gráfico. En general, los valores positivos de las componentes generadas se asociaron con los pacientes sin EHM, mientras que los valores negativos se asociaron con los pacientes con EHM.

A pesar de la existencia de esta separación clara entre ambos grupos de pacientes, se observó un cierto nivel de solapamiento entre algunos pacientes con y sin EHM, con una incursión clara de un subgrupo de pacientes sin EHM en las coordenadas donde predominaban los pacientes con EHM. La mayoría de los pacientes sin EHM posicionados en el área dominada por los pacientes con EHM coincidían con aquellos que, en los análisis PCA, ya habían presentado una distorsión similar en sus coordenadas.

La incursión clara de parte de los pacientes sin EHM en las áreas donde se encontraban los pacientes con EHM, incluso en un caso en que se intentó maximizar la separación entre ambos grupos, indicaría que, efectivamente, una parte de los pacientes sin EHM se comportaba de forma mucho más similar a los pacientes con EHM que al resto de pacientes de su propio grupo.

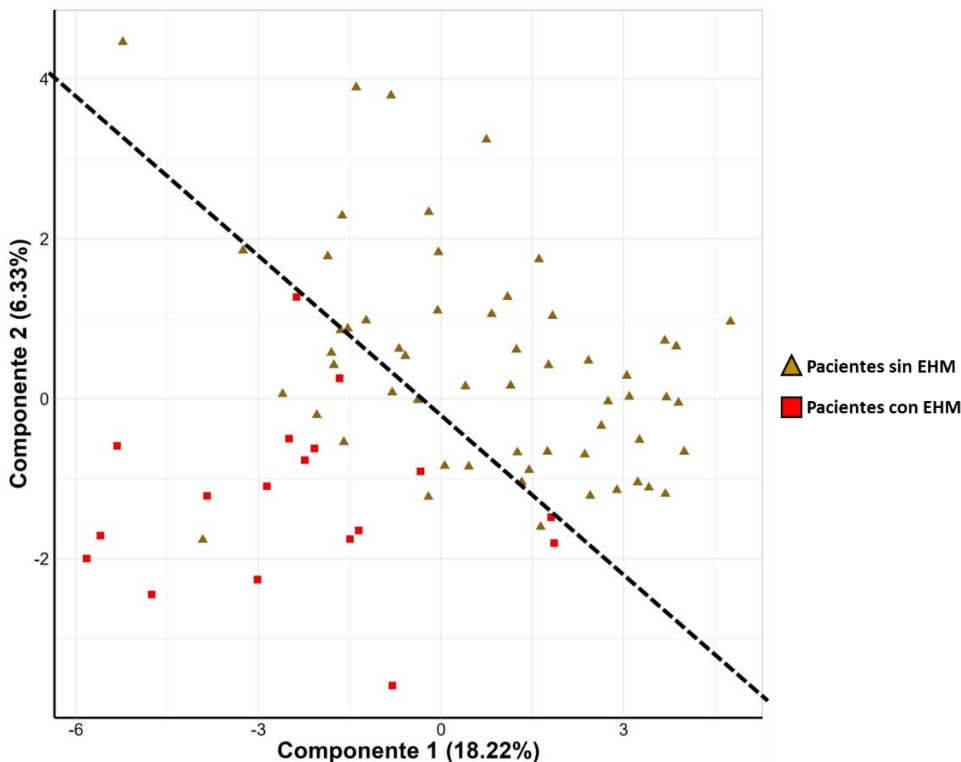


Figura 52. PLS-DA con las variables de movimientos oculares alteradas. Representación de la distribución de los pacientes con cirrosis usando las dos primeras componentes principales resultantes de aplicar un PLS-DA sobre los parámetros de los test de movimientos oculares en los que se observaron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con y sin EHM. Se muestra una línea discontinua que separa visualmente el espacio en el que predominan los pacientes con EHM del espacio donde predominan los pacientes sin EHM. En cada eje se muestra el porcentaje de la variabilidad de la muestra que queda explicado por dicha componente principal.

En cuanto al papel de las variables usadas en este análisis, se estudió la contribución individual de cada una de ellas a la separación de ambos grupos a través de su peso en el análisis PLS-DA. En la Figura 53 se representan, a modo de resumen, las 10 variables con un mayor peso absoluto en el análisis PLS-DA y, por tanto, con una contribución más relevante a la separación de los dos grupos de pacientes.

De las 10 variables seleccionadas, 4 mostraron un peso negativo en ambas componentes: el número de distracciones durante el test de fijación, el número de sácadas reflexivas de 2º orden durante el test de antisácadas horizontales, la latencia media durante el test de sácadas visuales horizontales, y la desviación típica de la latencia en el test de sácadas visuales horizontales. La contribución de todos estos parámetros al análisis PLS-DA indicaba que un valor más alto estaba asociado con la pertenencia al grupo de pacientes con EHM. En todos los casos, los pacientes con EHM habían mostrado valores significativamente más altos durante el estudio de las alteraciones individuales de los movimientos oculares.

Otras 3 variables mostraron un peso positivo en ambas componentes: el número de sácadas correctas en los test de sácadas de memoria horizontales y verticales, y el ECM de posición durante el seguimiento en el test de seguimiento vertical. De forma contraria a las variables comentadas previamente, un valor más alto en cualquiera de estos parámetros estaría asociado con la pertenencia al grupo de pacientes sin EHM. Este patrón se cumplió en el número de sácadas correctas de ambas versiones del test de sácadas de memoria, que durante el estudio de las alteraciones individuales de los test de movimientos oculares habían mostrado valores significativamente más altos en los pacientes sin EHM. No obstante, en el caso del ECM de posición durante el seguimiento del test de seguimiento vertical se observó la tendencia contraria, ya que los pacientes con EHM presentaron valores significativamente más altos para esta variable durante el análisis de las alteraciones realizado anteriormente (Tabla 19). Esta discrepancia entre la distribución de los valores de la variable al analizar las diferencias entre grupos de pacientes, y el papel de la misma durante el análisis PLS-DA, se debería a un sesgo resultante de la limitación en el número de pacientes durante este último análisis.

Por último, en otras 3 variables se observó una discrepancia en las componentes 1 y 2. Estas variables fueron el número de antisácadas incorrectas en el test de antisácadas verticales, el ECM de posición total en el test de seguimiento vertical y la duración media de las sácadas reflexivas en el test de antisácadas verticales. En todos los casos, estas variables tenían un peso negativo para la componente 1, y positivo para la componente

2. En todos los casos se trató de variables que, durante el análisis de las alteraciones en los movimientos oculares, habían presentado valores más altos en los pacientes con EHM. Estos resultados coincidirían con el papel de las variables en la componente 1, ya que un peso negativo en esta componente sería indicativo de que valores más altos estarían asociados con la pertenencia al grupo de pacientes con EHM.

En general, destacó el papel de las variables relacionadas con la correcta ejecución de los test de sácadas de memoria, la realización de movimientos erróneos durante los test de antisácadas, la latencia de las sácadas visuales horizontales, y la precisión de la mirada en el seguimiento vertical.

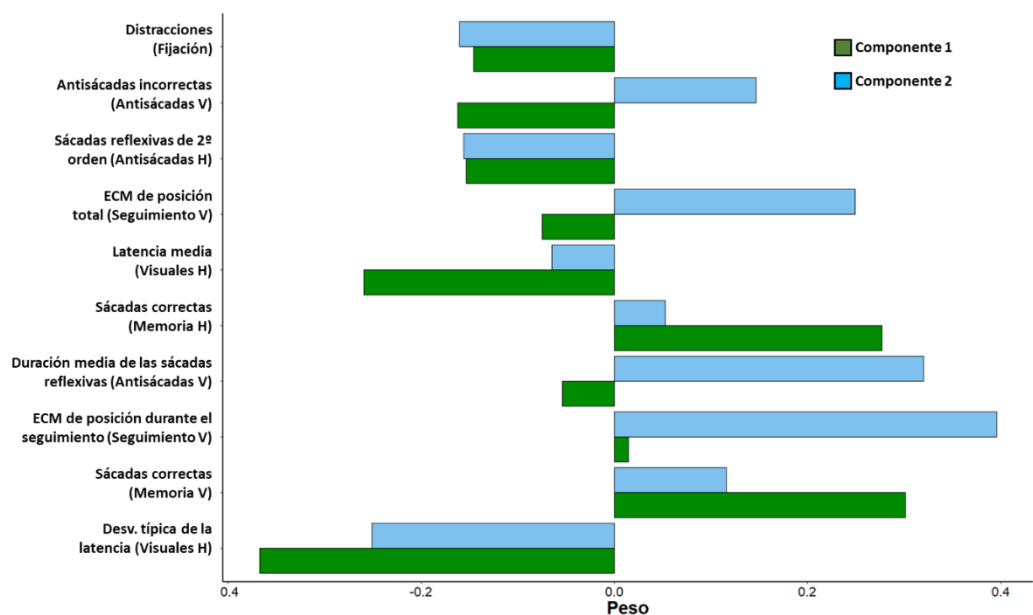


Figura 53. Peso de las 10 variables más influyentes en el análisis PLS-DA. Representación de la influencia relativa de las 10 variables más relevantes en la generación de las dos primeras componentes del análisis PLS-DA. Cuanto mayor sea el peso de una variable para una determinada componente, mayor es su influencia a la hora de determinar la posición de un sujeto dentro del espacio generado por las dos componentes usadas. Para ambas componentes los valores positivos se asociaron con los pacientes sin EHM, y los valores negativos con los pacientes con EHM. H: Horizontal. V: Vertical. ECM: Error cuadrático medio.

2. Estudio del efecto de la rifaximina sobre la función neuronal de pacientes con encefalopatía hepática mínima

De entre todos los sujetos que participaron en esta tesis, 23 Controles y 31 pacientes con EHM realizaron una sesión de adquisición de imágenes por resonancia magnética para estudiar los efectos de la rifaximina sobre el cerebro de los pacientes, además de las diferencias entre los pacientes que responden al tratamiento y los que no.

Tras completar 6 meses de tratamiento con rifaximina la muestra total del estudio quedó reducida a 22 Controles y 18 pacientes con EHM. De estos 18 pacientes, 13 mostraron una respuesta positiva al tratamiento con rifaximina (*Responder*), y los otros 5 no mostraron una respuesta aparente al mismo (*Non-responder*). Este proceso se describe en mayor detalle en el apartado 1.1 de la sección de Materiales y Métodos.

Aunque inicialmente el objetivo de este estudio incluía el análisis tanto de la función como de la estructura cerebral de los pacientes, durante el análisis estructural no se encontró ningún resultado que indicase un efecto estadísticamente significativo de la rifaximina sobre el grosor de la sustancia gris de los pacientes. Tampoco se encontraron diferencias preexistentes en este sentido entre los pacientes que responderían al tratamiento y los que no. Por ello, el resto de este estudio se ha centrado en el estudio y análisis de la función cerebral.

Cabe destacar que 6 de los 18 pacientes que participaron en este estudio no se incluyeron en la muestra del estudio de los movimientos oculares, al no poder realizarse de forma satisfactoria dichos test sobre esos 6 pacientes.

2.1. Características demográficas y etiológicas de la muestra de estudio

A partir de los datos disponibles de los sujetos que permanecieron en el estudio tras realizar el cribado ya descrito, fue posible conocer las características demográficas y etiológicas de la muestra a analizar, y de los distintos grupos de estudio que la componen. Toda la información presentada en este apartado se encuentra en la Tabla 31.

En ningún caso se observaron diferencias significativas de edad entre los distintos grupos de estudio, ni al comparar a los controles con los pacientes con EHM, ni al comparar los dos grupos de respuesta al tratamiento entre sí. Aunque los pacientes *Non-responder* presentaban una mayor edad que los pacientes *Responder* y los controles, esta diferencia no resultó ser estadísticamente significativa. De forma similar, tampoco se observaron diferencias significativas al comparar los años de formación académica de cada grupo.

Respecto a la distribución de hombres y mujeres en los distintos grupos, en todos los casos hubo una predominancia de hombres. Esta predominancia fue especialmente notable en el grupo de pacientes *Non-responder*, donde no había ninguna mujer. Debido a esta situación, no fue posible incluir la perspectiva de género en los análisis de este estudio.

En cuanto a las causas de la cirrosis, en los pacientes *Responder* predominaron las cirrosis causadas por alcohol, seguidas por las cirrosis derivadas de infecciones por hepatitis. En este grupo, no obstante, no se encontró ningún paciente cuya enfermedad hubiese sido causada por EHNA o EHGNA. Por otro lado, en los pacientes *Non-Responder*, teniendo en cuenta el número limitado de pacientes de este grupo, se observó al menos un caso de cualquiera de las principales etiologías de la cirrosis.

Finalmente, al estudiar las escalas Child-Pugh y MELD tampoco se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos de respuesta. En la escala MELD, aunque los pacientes *Non-responder* tenían un valor más bajo, ambos grupos presentaron un valor cercano a 9. Por otro lado, en la escala Child-Pugh se observaron sobre todo pacientes con una cirrosis compensada (grupo A en la escala Child-Pugh), y una menor proporción de pacientes con función hepática comprometida (grupo B en la escala Child-Pugh).

Tabla 31. Características demográficas y etiológicas de la muestra de pacientes y sujetos control incluidos en el estudio de resonancia magnética.

	Controles	Pacientes con EHM	Pacientes <i>Responder</i>	Pacientes <i>Non-responder</i>
Número de sujetos (Hombre/Mujer)	22 (14/8)	18 (16/2)	13 (11/2)	5 (5/0)
Edad ^(a)	60,6 ± 5,9 (50-73)	62,3 ± 7,8 (49-74)	61,2 ± 6,5 (53-74)	65,2 ± 10,7 (49-74)
Años de formación académica ^(a)	13,1 ± 3,2	11,7 ± 3,7	11,4 ± 3	12,6 ± 5,3
Etiología				
Alcohol	-	9	8	1
VHB/VHC	-	5	4	1
Hígado graso no alcohólico (EHNA/EHGNA)	-	2	0	2
Otras etiologías	-	2	1	1
Puntuación Child-Pugh (A/B/C)	-	12/6/0	8/5/0	4/1/0
Puntuación MELD ^(a)	-	9,2 ± 1,8	9,5 ± 1,5	8,4 ± 2,5

(a) Todas las variables mostraron una distribución paramétrica. Los valores se presentan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test T de student. En la línea de edad, entre paréntesis, se muestra el rango de edad de cada grupo. Según la puntuación Child-Pugh de un paciente se puede considerar su cirrosis más o menos severa (grupos A, B y C en orden ascendente de severidad). La puntuación MELD (*model end stage liver disease*) indica también una mayor severidad según aumenta su valor. Las columnas de Pacientes *Responder* y *Non-responder* son subdivisiones del grupo de pacientes que componen la columna de Pacientes con EHM, que mejoran (*Responder*) o no mejoran (*Non-responder*) cognitivamente tras el tratamiento con rifaximina. EHM: encefalopatía hepática mínima. EHNA: esteatohepatitis no alcohólica. EHGNA: enfermedad del hígado graso no alcohólico. VHB, VHC: virus de la hepatitis B y C, respectivamente.

2.2. Parámetros bioquímicos e inflamatorios de la muestra de estudio

A partir de las medidas realizadas de los niveles en sangre de amonio y citocinas pro-inflamatorias fue posible estudiar la hiperamonemia y el estado inflamatorio de los distintos grupos de estudio, además de su evolución tras el tratamiento con rifaximina. Toda la información presentada en este apartado se encuentra en las tablas 32 y 33.

Entre las comparaciones realizadas se incluyó, en primer lugar, la comparación del conjunto de los pacientes, antes y después del tratamiento, con los controles. A raíz de este análisis se observaron alteraciones significativas en los pacientes con EHM con respecto a los controles en todos los parámetros medidos. En todos los casos, los pacientes mostraron niveles significativamente más altos que los controles, con la

excepción de los niveles de CCL5, que en los pacientes eran significativamente más bajos (Tabla 32).

Tras el tratamiento, no obstante, los niveles de algunos de estos parámetros se redujeron hasta ser estadísticamente indistinguibles de los que presentaban los controles, incluyendo la IL-22, IL-15 y CXCL1. Exceptuando los niveles de amonio, tras el tratamiento se observó en todos los parámetros una aproximación de sus niveles en los pacientes a los niveles observados en los controles, incluso aunque siguieran presentando diferencias estadísticamente significativas con respecto a estos. La mayoría de estos cambios fueron estadísticamente significativos al comparar a los pacientes tras del tratamiento con su estado inicial, siendo las únicas excepciones los niveles de CCL5, CXCL13, y CXCL1 (Tabla 32).

Al limitar la muestra estudiada a los pacientes que respondieron de forma positiva al tratamiento, la mayoría de parámetros cuyos niveles mejoraron tras el tratamiento mostraron una mejora incluso más notable, manteniendo un nivel similar de significancia estadística incluso con la reducción de la muestra estudiada. En este grupo de respuesta también se observó una ligera disminución de los niveles de amonio tras el tratamiento (Tabla 33).

Al limitar el análisis al conjunto de pacientes que no respondieron al tratamiento, por otro lado, ninguno de los cambios observados fue estadísticamente significativo. Esta falta de significancia podría atribuirse, en parte, al limitado tamaño de la muestra. A pesar de esto, se observó una evolución similar a la del resto de pacientes, y que aproximaba los niveles de ciertos parámetros a los de los controles, en el caso de la IL-6, IL-22, IL-15, CCL5 y CXCL1. Los niveles de amonio, IL-18, CCL20 y CXCL13 de este grupo de pacientes, sin embargo, estaban incluso más alterados tras el tratamiento que antes del mismo (Tabla 33).

Finalmente, también se analizaron las posibles diferencias entre los pacientes que respondieron al tratamiento y aquellos que no, tanto antes como después del tratamiento. Aunque al comparar a los pacientes en su estado basal (T0) no se observó ninguna diferencia significativa, tras el tratamiento (T6) los pacientes *Non-responder* mostraron niveles de IL-18 y CXCL13 significativamente más altos que los de los pacientes *Responder*. Estos parámetros se corresponden con algunos en los que los pacientes *Non-responder* no solo no mostraron una aproximación a los niveles de los controles, sino una exageración de sus alteraciones preexistentes.

Tabla 32. Determinaciones bioquímicas de los sujetos del estudio de resonancia magnética antes y después del tratamiento. Niveles de amonio en sangre y de las distintas citocinas en plasma de los sujetos del estudio de resonancia magnética, incluido su estado antes y después del tratamiento con rifaximina.

	Controles	Pacientes con EHM	
	sanos	T0	T6
Amonio	8 (3,54)	33,5 (35,7) ***	42,2 (49) ***
CCL20	8,18 (6,02)	69,3 (70,7) ***	39,6 (32,7) *** $\alpha\alpha$
CCL5	9160 (4315)	2617 (4567) ***	4026 (3031) **
CXCL13	56,8 (15,6)	172 (95,9) ***	112 (84,4) ***
CXC3L1	399 (81)	666 (372) ***	602 (541)
IL-6	1,45 (0,329)	3,36 (2,11) ***	1,79 (1,48) * $\alpha\alpha$
IL-15	3,07 (1,45)	4,72 (2,32) ***	2,89 (1,06) $\alpha\alpha$
IL-18	157 (113)	413 (266) ***	260 (144) ** $\alpha\alpha$
IL-22	35,4 (32,7)	82,1 (59,9) *	42,8 (39,3) $\alpha\alpha\alpha$

Todas las variables mostraron una distribución no paramétrica. Los valores se representan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Mann-Whitney, o Wilcoxon en los casos en que se comparó a un mismo grupo de pacientes antes y después del tratamiento. Todos los p valores se corrigieron usando Benjamini-Hochberg. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre un grupo de pacientes y el grupo de Controles. α : indica un $p < 0,05$ (α), $p < 0,01$ ($\alpha\alpha$) o $p < 0,001$ ($\alpha\alpha\alpha$) para una comparación estadística entre los pacientes antes y después del tratamiento. Salvo el amonio, medido en μM , todas las demás variables fueron medidas en pg/ml . EHM: encefalopatía hepática mínima.

Tabla 33. Determinaciones bioquímicas de los pacientes del estudio de fMRI según su respuesta al tratamiento. Niveles de amonio en sangre y de las distintas citocinas en plasma de los pacientes del estudio de resonancia magnética, antes y después del tratamiento, y teniendo en cuenta su grupo de respuesta al mismo.

	Pacientes Responder		Pacientes Non-responder	
	T0	T6	T0	T6
Amonio	40 (38)	34 (42,3)	19 (29)	62 (45,7)
CCL20	73 (60,3)	39,2 (25,9) ^{αα}	27,6 (44,2)	55,8 (36,6)
CCL5	2156 (4973)	3459 (3459)	2747 (3638)	4796 (1061)
CXCL13	173 (96,9)	101 (77,9) ^{αα}	171 (97)	202 (167) *
CXC3L1	676 (385)	609 (404)	636 (378)	329 (570)
IL-6	3,34 (1,29)	1,67 (1,45) ^{αα}	4,56 (2,51)	2,25 (1,22)
IL-15	5,61 (2,53)	2,89 (1,15) ^{αα}	3,94 (1,87)	3,52 (0,68)
IL-18	414 (231)	178 (147) ^{αα}	258 (257)	319 (151) *
IL-22	82,2 (58,1)	39,8 (37) ^{αα}	66,4 (64)	45,9 (32,5)

Todas las variables mostraron una distribución no paramétrica. Los valores se representan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Mann-Whitney, o Wilcoxon en los casos en que se comparó a un mismo grupo de pacientes antes y después del tratamiento. Todos los p valores se corrigieron usando Benjamini-Hochberg. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *Responder*: Pacientes con una respuesta positiva al tratamiento. *Non-responder*: Pacientes sin una respuesta apreciable al tratamiento. *: indica un $p < 0,05$ (*) para una comparación estadística de los pacientes *Non-responder* con los pacientes *Responder* en un mismo punto del tratamiento. ^α: indica un $p < 0,05$ (^α) o $p < 0,01$ (^{αα}) para una comparación estadística de un mismo grupo de pacientes antes y después del tratamiento. Salvo el amonio, medido en μM , todas las demás variables han sido medidas en pg/ml .

2.3. Estado de las capacidades cognitivas y motoras de la muestra de estudio

A través de una batería de test psicométricos se evaluaron las capacidades cognitivas y motoras de los sujetos de este estudio. Toda la información presentada en este apartado se encuentra en las Tablas 34 y 35 para los resultados de los controles y del conjunto general de pacientes antes y después del tratamiento, y en las Tablas 36 y 37 para los resultados desglosados de los pacientes según el grupo de respuesta al que pertenecían.

Hay que remarcar que la batería PHES fue la herramienta usada para indicar el grupo de respuesta al que pertenecían los pacientes tratados. Así, aunque inicialmente todos los pacientes del estudio contaban como EHM ($\text{PHES} \leq -4$), tras 6 meses de tratamiento se

dividió a estos en pacientes *Responder* si habían alcanzado una puntuación coherente con la de pacientes sin EHM ($PHES > -4$), o *Non-responder* si no habían cumplido esta premisa. Debido a esta condición, se generó una separación entre las puntuaciones de los pacientes *Responder* y *Non-responder*, tanto en la puntuación global de la batería PHES como en los subtest de la misma. Estas diferencias se vieron reflejadas en la evolución estadísticamente significativa que mostraron todos los pacientes *Responder* al comparar su estado basal (T0) con su estado tras el tratamiento (T6), y que no se observó en los pacientes *Non-responder* (Tabla 34). También, a raíz de esta separación, aparecieron diferencias significativas entre los pacientes *Responder* y *Non-responder* tras el tratamiento, que no eran aparentes antes del tratamiento (Tabla 36).

Se observaron diferencias significativas entre los pacientes del estudio y los sujetos control, tanto antes como después del tratamiento, a pesar de que todos los resultados obtenidos por los pacientes tras el tratamiento se asemejasen más a los que habían obtenido los controles (Tabla 34). En cuanto a los resultados obtenidos por el conjunto de los pacientes, la evolución de estos fue estadísticamente significativa tanto para la puntuación global de la batería PHES como para la mayoría de los subtest que la componen. Las únicas excepciones fueron los subtest *Serial Dotting* y *Line Tracking Test*, los dos subtest de la batería centrados en analizar la coordinación del sujeto.

Atención selectiva y concentración

Para evaluar la atención selectiva y velocidad de procesamiento de los pacientes, y su capacidad para mantener la concentración, se recurrió a los test Stroop, SDMT Oral y d2. Antes del tratamiento, los pacientes mostraron un deterioro significativo de todos los parámetros y tareas de estos test, con la excepción de la cantidad de errores por omisión del test d2 (d2 O), en comparación con los controles. Tras el tratamiento, aunque todos los valores obtenidos por los pacientes eran más similares a los de los controles, las diferencias estadísticamente significativas seguían presentes (Tabla 34).

Al comparar el conjunto de pacientes tras el tratamiento con su estado previo solamente se observó una evolución estadísticamente significativa en las tareas neutra e incongruente del test Stroop, y en los resultados del test SDMT oral.

Al comparar los dos grupos de respuesta entre sí no se observaron diferencias significativas entre pacientes *Responder* y *Non-responder*, ni antes ni después del tratamiento, para ninguna de las medidas de atención selectiva y concentración. No obstante, al analizar la evolución de los pacientes de un mismo grupo tras el tratamiento

se observó que, en ambos grupos, los pacientes mostraban una mejora estadísticamente significativa de sus resultados en el test SDMT Oral tras el tratamiento (Tabla 36). En el grupo de pacientes *Responder* esta mejora significativa se extendió también a las tareas neutra e incongruente del test Stroop.

Aunque no llegase a ser estadísticamente significativa, en ambos grupos de respuesta se observó una ligera mejora de todos los valores resultantes de los test Stroop y SDMT Oral. Por el contrario, en el test d2, aunque los pacientes *Responder* mostraron una ligera mejora en todas las medidas obtenidas, los pacientes *Non-responder* presentaron una evolución totalmente opuesta, con un empeoramiento de todos los parámetros obtenidos (Tabla 36).

De cara al análisis de las diferencias entre ambos grupos de respuesta es importante tener en cuenta que, mientras que en el test Stroop se analiza también la flexibilidad cognitiva, y en el test SDMT Oral la velocidad de procesamiento; en el test d2, destaca el papel de la capacidad para mantener la atención y la concentración de forma sostenida.

Memoria de trabajo

Para evaluar el estado de la memoria de trabajo de los sujetos se recurrió a una selección de subtest de la batería WAIS: el test de dígitos directos, el de dígitos inversos, y el de letras y números. En este caso, el conjunto de pacientes con EHM mostró diferencias con respecto a los controles, con resultados significativamente peores para los tres subtest evaluados. Estas diferencias se mantuvieron tras el tratamiento, sin una mejoría apreciable en ningún caso (Tabla 35).

Al comparar ambos grupos de respuesta al tratamiento no se observaron diferencias significativas, ni al comparar un grupo con el otro, tanto en su estado basal como tras el tratamiento, ni al estudiar la evolución de los pacientes respecto de su estado inicial (Tabla 37).

Tanto en el test de dígitos directo, como en el de letras y números, los pacientes *Responder* mostraron, desde un inicio, resultados ligeramente mejores que los pacientes *Non-responder*. Mientras que los pacientes *Responder* mostraron una ligera mejora de todos sus resultados tras el tratamiento, en el grupo de *Non-responder* estos resultados empeoraron para el test de dígitos directo y de letras y números, y se mantuvieron igual para el test de dígitos inverso (Tabla 37).

Coordinación motora

Para evaluar la coordinación de los sujetos de estudio se recurrió a los test de coordinación bimanual y visomotora de Yela. En ambos casos los pacientes mostraron resultados significativamente peores que los controles, que se mantuvieron tras el tratamiento a pesar de una ligera mejora, que en ningún caso fue significativa (Tabla 35).

Al comparar los dos grupos de respuesta entre sí, los pacientes *Non-responder* presentaron unos resultados significativamente peores que los pacientes *Responder* ya antes del tratamiento (Tabla 37). Estas diferencias entre ambos grupos siguieron presentes tras el tratamiento, e incluso se exageraron en el caso del test de coordinación bimanual.

Aunque ninguno de los dos grupos de pacientes presentó una evolución significativa de su coordinación tras el tratamiento, sí se observó una ligera mejora en ambos test en los pacientes *Responder*. En los pacientes *Non-responder*, tras el tratamiento, los resultados del test de coordinación visomotora mejoraron, pero en el test bimanual empeoraron.

Tabla 34. Test psicométricos de los sujetos del estudio de fMRI antes y después del tratamiento. Puntuaciones obtenidas en los distintos test psicométricos realizados por los sujetos del estudio de resonancia magnética, incluido su estado antes y después del tratamiento con rifaximina.

	Controles	Pacientes con EHM	
		T0	T6
Batería PHES			
Puntuación global PHES ^(a)	1 (1,75)	-5,5 (6,5) ***	-4 (5,5) *** αα
DST (respuestas correctas) ^(b)	44,1 ± 10,5	20,6 ± 8,6 ***	26,6 ± 8,1 *** ααα
NCT-A (segundos) ^(a)	28,5 (8,5)	56,5 (46,8) ***	51 (39) *** αα
NCT-B (segundos) ^(a)	70,5 (39,8)	160 (238) ***	126 (122) ** α
SD (segundos) ^(a)	58 (16,2)	110 (38) ***	90,5 (46) ***
LTT (segundos+errores) ^(a)	95 (17,5)	190 (87) ***	162 (75) ***
Test Stroop			
Tarea congruente (ítems completados) ^(b)	119 ± 12,9	76,1 ± 17,7 ***	81,8 ± 17,3 ***
Tarea neutra (ítems completados) ^(b)	83,4 ± 14,7	55,7 ± 9,7 ***	62,3 ± 10,6 *** α
Tarea incongruente (ítems completados) ^(b)	46,9 ± 9,4	27,8 ± 8,8 ***	35,5 ± 9 *** α
SDMT Oral (respuestas correctas) ^(b)	51,3 ± 5,9	25,3 ± 12,2 ***	32,4 ± 11,1 *** ααα
Test d2			
TR ^(b)	428 ± 77	279 ± 70 ***	290 ± 84 ***
TA ^(b)	159 ± 36	96,7 ± 29,7 ***	105 ± 39 ***
O ^(a)	13 (10,8)	14,5 (12,5)	9 (15)
C ^(a)	0 (1)	4 (15,5) ***	2 (5) **
TOT ^(b)	404 ± 75	246 ± 67 ***	268 ± 88 ***
CON ^(b)	157 ± 36	85,3 ± 40,8 ***	96,6 ± 46,2 ***

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Mann-Whitney. (b): en las variables con distribución paramétrica los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test T de Student. En los casos en que se comparó a un mismo grupo de pacientes antes y después del tratamiento se usó el test de Wilcoxon (a) o el test T de Student con ajustes para medidas repetidas (b). Todos los p valores se corrigieron usando Benjamini-Hochberg. EHM: encefalopatía hepática mínima. PHES: *Psychometric hepatic encephalopathy score*. DST: *Digit symbol test*. NCT-A: *Number connection test A*. NCT-B: *Number connection test B*. SD: *Serial dotting*. LTT: *Line tracking test*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *: indica un $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre los pacientes, antes o después del tratamiento, y los Controles. α: indica un $p < 0,05$ (α), $p < 0,01$ (αα) o $p < 0,001$ (ααα) para una comparación estadística entre los pacientes antes y después del tratamiento.

Tabla 35. Test de memoria y coordinación de los sujetos del estudio fMRI antes y después del tratamiento. Puntuaciones obtenidas en los test de memoria de trabajo y los test de coordinación realizados por los sujetos del estudio de resonancia magnética, incluido su estado antes y después del tratamiento con rifaximina.

	Controles	Pacientes con EHM	
		T0	T6
Subtest de la batería WAIS			
Test de dígitos directo (respuestas correctas) ^(a)	9 (2,75)	7 (1,75) ***	7 (3) **
Test de dígitos inverso (respuestas correctas) ^(a)	6 (2)	4 (2) **	4 (4)
Test de letras y números (respuestas correctas) ^(b)	9,95 ± 2,53	5,39 ± 3,05 ***	5,71 ± 3,39 ***
Test de coordinación de Yela			
Coordinación Bimanual (minutos) ^(a)	1,9 (0,312)	2,95 (0,7) ***	2,88 (0,75) ***
Coordinación Visomotora (minutos) ^(a)	2,36 (0,458)	3,75 (1,6) ***	3,4 (1,54) ***

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan cómo Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Mann-Whitney. (b): en las variables con distribución paramétrica los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test T de Student. En los casos en que se comparó a un mismo grupo de pacientes antes y después del tratamiento se usó el test de Wilcoxon (a) o el test T de Student con ajustes para medidas repetidas (b). Todos los p valores se corrigieron usando Benjamini-Hochberg. EHM: encefalopatía hepática mínima. WAIS: *Wechsler adult intelligence scale*. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *: indica un $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***) para una comparación estadística entre los pacientes, antes o después del tratamiento, y el grupo de Controles.

Tabla 36. Test psicométricos de los pacientes del estudio de fMRI según su respuesta al tratamiento. Puntuaciones de los pacientes del estudio de resonancia magnética en los test psicométricos, antes y después del tratamiento, y teniendo en cuenta su respuesta al mismo.

	Pacientes <i>Responder</i>		Pacientes <i>Non-responder</i>	
	T0	T6	T0	T6
Batería PHES				
Puntuación global PHES ^(a)	-5 (5)	-2 (3) ^{αα}	-8 (8)	-9 (1) ^{**}
DST (respuestas correctas) ^(b)	22,4 ± 8,9	29,5 ± 7,2 ^{αα}	16 ± 6,3	19 ± 4,2 ^{**}
NCT-A (segundos) ^(a)	52 (42)	34 (35) ^{αα}	61 (87)	73 (24) [*]
NCT-B (segundos) ^(a)	145 (192)	118 (74) ^{αα}	216 (274)	277 (107) [*]
SD (segundos) ^(a)	100 (25)	84 (13) ^α	120 (26)	136 (11) [*]
LTT (segundos+errores) ^(a)	188 (47)	151 (40) ^α	252 (135)	237 (76) [*]
Test Stroop				
Tarea congruente (ítems completados) ^(b)	79,6 ± 17,7	85,8 ± 17,4	67 ± 15,5	68,8 ± 10
Tarea neutra (ítems completados) ^(b)	58 ± 8,7	64,3 ± 11,1 ^α	49,8 ± 10,5	55,7 ± 5,6
Tarea incongruente (ítems completados) ^(b)	29,4 ± 7,8	35,1 ± 7,5 ^α	23,8 ± 11,2	36,7 ± 14,2
SDMT Oral (respuestas correctas) ^(b)	28,5 ± 11,9	35,2 ± 10,3 ^{αα}	16,8 ± 9,4	25,2 ± 10,7 ^α
Test d2				
TR ^(b)	288 ± 75	308 ± 83	246 ± 39	233 ± 63
TA ^(b)	96,6 ± 33,5	113 ± 38	96,3 ± 10,1	80,2 ± 32,9
O ^(a)	16 (16,5)	7 (10)	10 (6,5)	20 (5,5)
C ^(a)	5 (24,5)	2 (2)	3 (3,5)	10,5 (16,2)
TOT ^(b)	248 ± 74	287 ± 84	240 ± 43	204 ± 78
CON ^(b)	83,5 ± 46,3	108 ± 45	91,7 ± 7,1	69,5 ± 43

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan como Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Mann-Whitney. (b): en las variables con distribución paramétrica los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test T de Student. En los casos en que se comparó a un mismo grupo de pacientes antes y después del tratamiento se usó el test de Wilcoxon (a) o el test T de Student con ajustes para medidas repetidas (b). Todos los p valores se corrigieron usando Benjamini-Hochberg. PHES: *Psychometric hepatic encephalopathy score*. DST: *Digit symbol test*. NCT-A: *Number connection test A*. NCT-B: *Number connection test B*. SD: *Serial dotting*. LTT: *Line tracking test*. SDMT: *Symbol digit modalities test*. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *Responder*: Pacientes con una respuesta positiva al tratamiento. *Non-responder*: Pacientes sin una respuesta apreciable al tratamiento. *: indica un $p < 0,05$ (*), o $p < 0,01$ (**) para una comparación estadística de los pacientes *Non-responder* con los pacientes *Responder* en un mismo punto del tratamiento. ^α: indica un $p < 0,05$ (^α), o $p < 0,01$ (^{αα}) para una comparación estadística entre un mismo grupo de respuesta antes y después del tratamiento.

Tabla 37. Test de memoria y coordinación de los pacientes del estudio de fMRI según su respuesta al tratamiento. Puntuaciones de los pacientes del estudio de resonancia magnética en los test de memoria de trabajo y en los test de coordinación, antes y después del tratamiento, y teniendo en cuenta su respuesta al mismo.

	Pacientes Responder		Pacientes Non-responder	
	T0	T6	T0	T6
Subtest de la batería WAIS				
Test de dígitos directo (respuestas correctas) ^(a)	7 (2)	7,5 (3)	6 (2)	5 (4)
Test de dígitos inverso (respuestas correctas) ^(a)	4 (3)	4,5 (3,25)	4 (0)	4 (3)
Test de letras y números (respuestas correctas) ^(b)	5,69 ± 3,25	6,5 ± 3,32	4,6 ± 2,61	3,8 ± 3,03
Test de coordinación de Yela				
Coordinación Bimanual (minutos) ^(a)	2,78 (0,58)	2,56 (0,6)	3,35 (0,93) *	3,43 (0,46) **
Coordinación Visomotora (minutos) ^(a)	3,37 (0,87)	2,99 (0,94)	4,73 (0,98) *	4,35 (0,58) *

(a): en las variables con distribución no paramétrica los valores se expresan cómo Mediana (Rango intercuartílico), y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test de Mann-Whitney. (b): en las variables con distribución paramétrica los valores se expresan como Media ± Desviación típica, y las diferencias entre grupos se analizaron usando el test T de Student. En los casos en que se comparó a un mismo grupo de pacientes antes y después del tratamiento se usó el test de Wilcoxon (a) o el test T de Student con ajustes para medidas repetidas (b). Todos los p valores se corrigieron usando Benjamini-Hochberg. *WAIS: Wechsler adult intelligence scale*. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *Responder*: Pacientes con una respuesta positiva al tratamiento con rifaximina. *Non-responder*: Pacientes sin una respuesta apreciable al tratamiento con rifaximina. *: indica un $p < 0,05$ (*), o $p < 0,01$ (**) para una comparación estadística de los pacientes *Non-responder* con los pacientes *Responder* en un mismo punto del tratamiento.

2.4. Redes neuronales identificadas y analizadas durante el estudio

A partir del procesamiento de las imágenes funcionales de los sujetos de estudio, descrito en el apartado 5 de la sección de Materiales y Métodos, se obtuvo un total de 60 señales funcionales independientes. Tras analizar la distribución espacial, la secuencia temporal y el patrón de intensidad de todas estas señales, se seleccionaron 14 cuyos parámetros se correspondían de manera satisfactoria con los que cabría esperar de la señal funcional de una red neuronal en estado de reposo.

Estas 14 señales fueron identificadas gracias a la revisión y consulta de diversas fuentes bibliográficas y atlas funcionales, y fueron nombradas acorde a las redes neuronales, o secciones de estas, con las que mejor se correspondía su distribución. En los casos en que no se encontró una red neuronal con una distribución comparable en las fuentes consultadas, se nombró a la señal según el área de la corteza cerebral ocupada. Los mapas espaciales de estas 14 redes neuronales se encuentran representados en la Figura 54, ordenados según su aparición dentro del conjunto de 60 componentes independientes a partir del cual fueron extraídas, e incluyen:

- Sección parietal de la red neuronal por defecto (RDP)
- Red sensitivo-motora media (RSMM)
- Red visual lateral (RVL)
- Red visual media (RVM)
- Red frontoparietal derecha (RFPD)
- Red de atención dorsal (RAD)
- Red visual occipital (RVO)
- Sección frontal de la red neuronal por defecto (RDF)
- Red del giro supramarginal (RGS)
- Red cerebelar (RCB)
- Red frontoparietal izquierda (RFPI)
- Red talámica (RTA)
- Red sensitivo-motora lateral (RSML)
- Red de los ganglios basales (RGB)

Las redes neuronales seleccionadas fueron la base a partir de la cual se llevaron a cabo todos los análisis de conectividad funcional posteriores.

Es importante destacar que, aunque las regiones de mayor intensidad de una determinada señal coincidan con la localización de las áreas cerebrales que integran la red neuronal a la que está asociada dicha señal, en condiciones normales esta señal se extiende al resto del encéfalo, con una menor intensidad. En este sentido, un cambio en la intensidad de una señal sobre una región cerebral podría asociarse a un cambio en la propia red neuronal, o en la influencia de esta sobre otras áreas cerebrales.

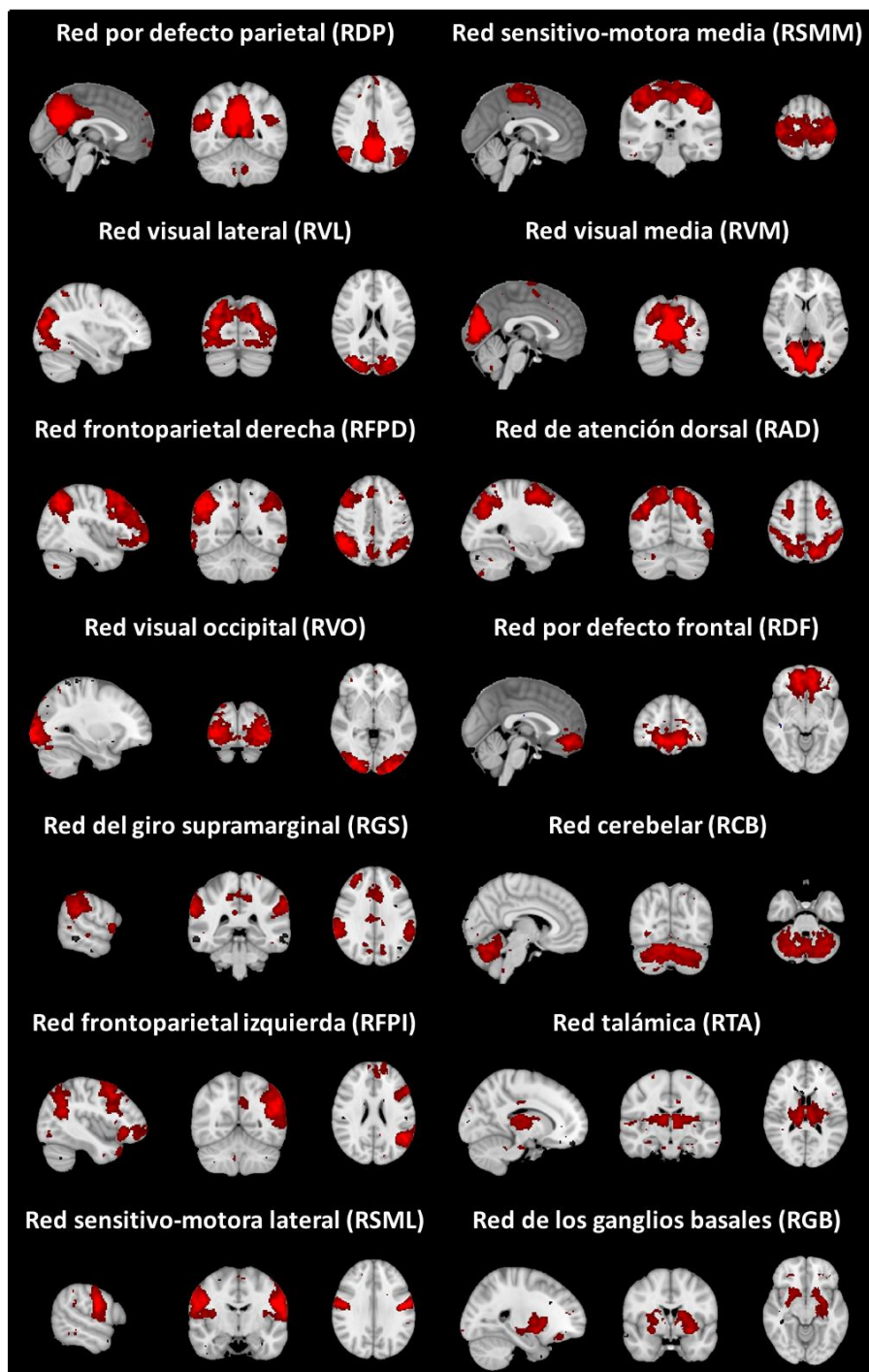


Figura 54. Redes neuronales halladas. Vistas sagital, coronal y axial (de izquierda a derecha) de cada uno de los mapas espaciales de las 14 redes neuronales identificadas, y posteriormente analizadas, en el presente estudio. La señal de las redes que se muestra está limitada a una $Z > 3$, según los parámetros de visualización del programa FSLeves. Las imágenes se muestran siguiendo el estándar MNI.

2.5. Estudio de la conectividad intrínseca de las redes neuronales

Una de las principales facetas del estudio de la actividad cerebral incluyó el análisis de la intensidad y distribución de la señal neuronal de cada una de las redes neuronales en estado de reposo halladas. Se analizó el efecto de la rifaximina, tanto de forma general sobre el conjunto de la muestra, como diferencialmente dependiendo del grupo de respuesta al que perteneciesen los pacientes. También se analizaron las diferencias preexistentes entre los pacientes que respondieron a la rifaximina y los que no.

Los resultados de estos análisis se representaron como clústeres, regiones cerebrales concretas donde se habían observado diferencias significativas en la señal de una determinada red neuronal entre los distintos grupos comparados.

2.5.1. Efecto general de la rifaximina

Al estudiar los cambios propiciados por la rifaximina de forma general en la señal neuronal de los pacientes tratados se observaron 4 clústeres con cambios estadísticamente significativos. Estas observaciones se muestran en la Tabla 38 y la Figura 55.

Entre los cambios observados solamente se detectó un caso en el que una señal neuronal aumentase su intensidad tras el tratamiento. Este caso fue el de la señal asociada a la RSMM, y el clúster se localizó en el núcleo caudado izquierdo (RSMM-1) (Figura 55a).

Por otro lado, se detectaron 3 casos en los que el tratamiento causó una disminución en la intensidad de la señal neuronal. En primer lugar, se observó una disminución de la señal asociada a la RFPI en una zona del área de brodmann 2 izquierda (RFPI-1) y en la región donde se hallan los lóbulos I a IV derechos del cerebelo (RFPI-2) (Figura 55b y 54c). Adicionalmente, y de forma testimonial debido a su reducido tamaño y localización, se observó también una disminución de la intensidad de la señal asociada a la RSML en un vóxel del tracto corticoespinal derecho (RSML-1), en la parte posterior del lóbulo paracentral (Figura 55d).

Tabla 38. Clústeres en los que se observa un efecto general del tratamiento con rifaximina. Tamaño, localización y red neuronal asociadas a los clústeres en los que se observó un cambio significativo, en el conjunto de la muestra de pacientes, de la conectividad intrínseca de una red neuronal tras el tratamiento con rifaximina.

Nombre del clúster	Tamaño del clúster (Número de vóxeles)	P valor mínimo del clúster	Coordenadas MNI (X, Y, Z)	Área cerebral asociada
Intensidad T0<T6				
Red sensitivo-motora media				
RSMM-1	5	0,01	-8, 18, 2	Núcleo caudado izquierdo
Intensidad T0>T6				
Red frontoparietal izquierda				
RFPI-1	11	0,02	-20,-40,58	Área de brodmann 2 izquierda
RFPI-2	4	0,034	4,-52,-12	Lóbulos cerebelosos I-IV derechos
Red sensitivo-motora lateral				
RSML-1	1	0,021	12,-30,54	Tracto corticoespinal derecho

Los datos fueron analizados usando un modelo lineal general creado con FSL, similar en su distribución a un test T de Student con medidas repetidas. Todos los p valores fueron corregidos usando FWE, y se consideró significativos únicamente los resultados con $p < 0,05$ tras la corrección. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. RSMM-1: clúster 1 asociado a la red sensitivo-motora media. RFPI-1: clúster 1 asociado a la red frontoparietal izquierda. RFPI-2: clúster 2 asociado a la red frontoparietal izquierda. RSML-1: clúster 1 asociado a la red sensitivo-motora lateral. MNI: *Montreal Neuroscience Institute*.

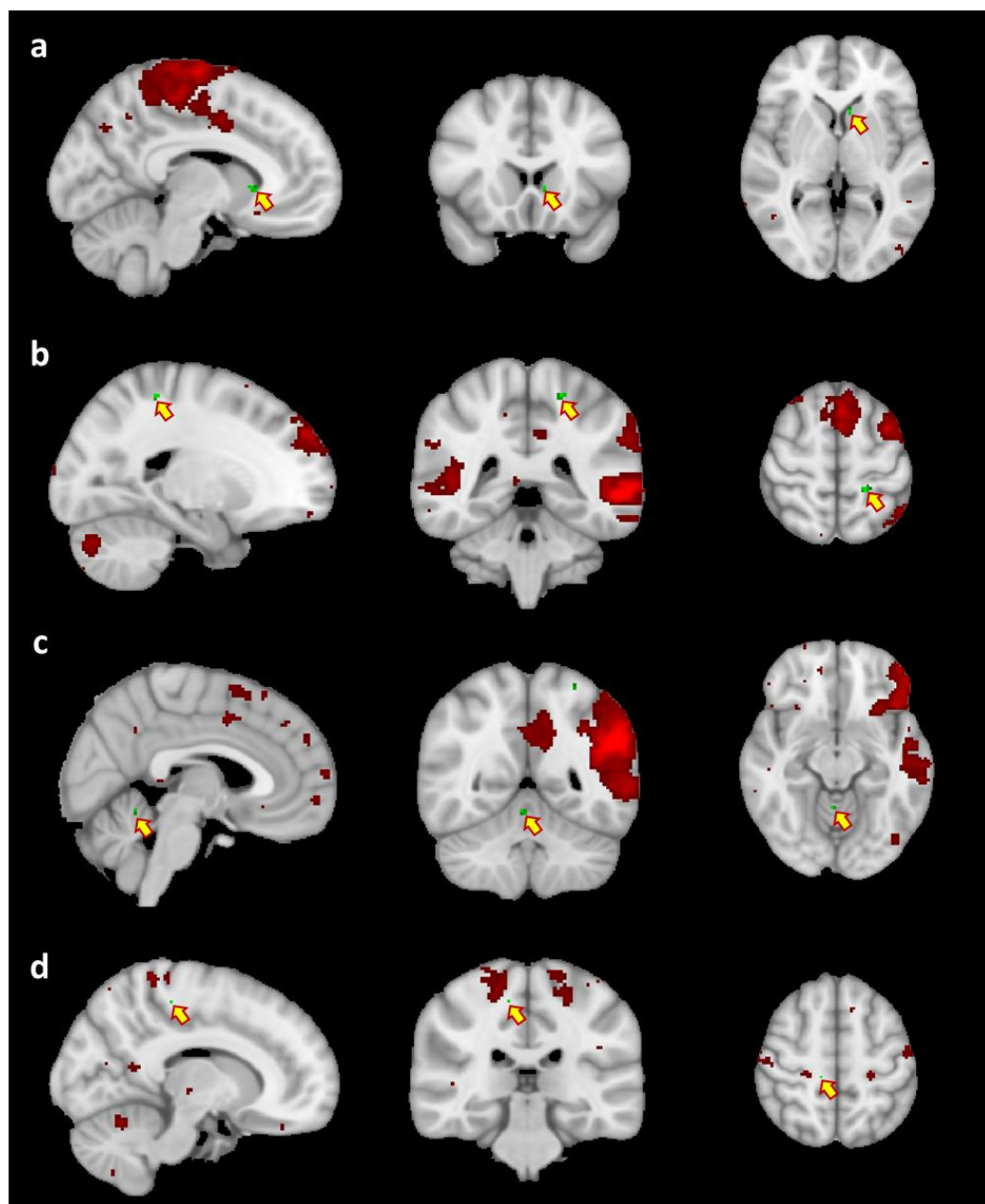


Figura 55: Regiones afectadas por la rifaximina de forma general. Vistas sagital, coronal y axial (de izquierda a derecha) con las localizaciones afectadas (verde, señalado) y las redes neuronales asociadas (rojo). a: clúster RSMM-1. b: clúster RFPI-1. c: clúster RFPI-2. d: clúster RSML-1.

2.5.2. Efecto diferencial de la rifaximina

Uno de los métodos mediante los cuales se intentó determinar las diferencias entre los pacientes *Responder* y *Non-responder* fue mediante el estudio de las señales neuronales y regiones cerebrales que evolucionaron en direcciones opuestas opuestas en cada grupo tras el tratamiento con rifaximina. Asimismo, también se estudió la evolución de los pacientes *Responder* de forma aislada para determinar si la falta de evolución de los pacientes *Non-responder* había enmascarado algún resultado significativo en el apartado 2.5.1. A partir de estos análisis se hallaron 2 clústeres, que se muestran en la Tabla 39 y la Figura 56.

Durante el estudio de la evolución diferencial se halló un único clúster en el que los pacientes *Responder* habían evolucionado en dirección opuesta a los pacientes *Non-responder*. Este clúster se halló en el área 9-46 ventral anterior izquierda (a9-46v izquierda), que forma parte de la corteza prefrontal dorsolateral. Se observó un incremento de la intensidad de la señal de la red talámica en los pacientes *Responder*, mientras que en los pacientes *Non-responder* la intensidad de esta señal disminuyó (RTA-1) (Figura 56a).

Al estudiar de forma aislada a los pacientes *Responder* se halló, en primer lugar, que desaparecieron todos los clústeres detectados al estudiar el efecto general de la rifaximina. Únicamente se detectó la presencia de un clúster de 2 vóxeles de tamaño en el área 24 prima posterior (p24pr) derecha, que forma parte de la corteza cingulada anterior (Figura 56b). Este clúster estaba asociado a la señal de la red sensitivo-motora lateral (RSML-2), e indicaba que la intensidad de la señal de dicha red en dicha localización era significativamente más intensa en los pacientes *Responder* antes del tratamiento que tras el mismo.

Tabla 39. Clústeres en los que se observa un efecto diferencial, o limitado a los pacientes *Responder*, del tratamiento con rifaximina. Tamaño, localización y red neuronal asociadas a los clústeres en los que se observó una diferencia significativa en la evolución de la conectividad intrínseca de una red neuronal en pacientes *Responder* respecto de *Non-responder*, y los casos en que únicamente los pacientes *Responder* mostraron algún cambio.

Nombre del clúster	Tamaño del clúster (Número de vóxeles)	P valor mínimo del clúster	Coordenadas MNI (X, Y, Z)	Área cerebral asociada
Aumento de la intensidad en <i>Responder</i> vs Disminución en <i>Non-responder</i>				
Red Talámica				
RTA-1	10	0,021	-41,57,4	Área 9-46 ventral anterior izquierda
Intensidad T0>T6 (únicamente <i>Responder</i>)				
Red sensitivo-motora lateral				
RSML-2	2	0,01	2,-4,46	Área 24 prima posterior derecha

En los análisis en que se incluyeron tanto los pacientes *Responder* como los *Non-responder*, los datos fueron analizados usando un modelo lineal general creado con FSL, similar en su distribución a un ANOVA de medidas repetidas de dos vías y efectos mixtos. En los análisis en los que solamente se incluyeron los pacientes *Responder*, los datos fueron analizados usando un modelo lineal general creado con FSL, similar en su distribución a un test T de Student con medidas repetidas. Todos los p valores fueron corregidos usando FWE, y se consideró significativos únicamente los resultados con $p < 0,05$ tras la corrección. T0: muestras antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. RTA-1: clúster 1 asociado a la red talámica. RSML-2: clúster 2 asociado a la red sensitivo-motora lateral. MNI: *Montreal Neuroscience Institute*.

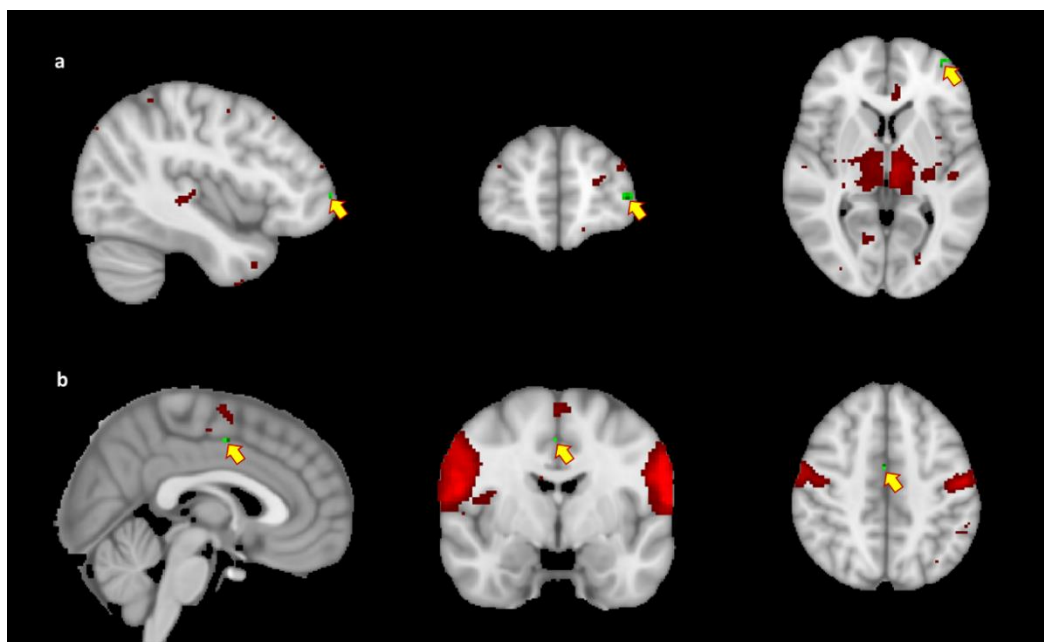


Figura 56. Regiones afectadas por la rifaximina de forma diferencial, o únicamente en los pacientes *Responder*. Vistas sagital, coronal y axial (de izquierda a derecha) con las localizaciones afectadas (verde, señalado) y las redes neuronales asociadas (rojo). a: clúster RTA-1. b: clúster RSML-2.

2.5.3. Diferencias preexistentes entre grupos de respuesta

Además de las diferencias en el propio efecto de la rifaximina, también se estudió la existencia de diferencias en la señal neuronal de los pacientes *Responder* y *Non-responder* antes del tratamiento. Como resultado de este análisis se encontró únicamente un caso estadísticamente significativo, que se muestra en la Tabla 40 y la Figura 57.

Este único caso detectado indicaba que, antes del tratamiento, la señal relacionada con la red de los ganglios basales era significativamente más intensa en los pacientes *Responder* que en los *Non-responder* (RGB-1). Este clúster se halló en el área de brodmann 7 medial derecha, en el *precuneus*. El clúster ocupaba 39 vóxeles, lo que lo convirtió en el clúster más grande que se halló en este estudio.

Tabla 40. Clústeres en los que se observan diferencias preexistentes entre pacientes *Responder* y *Non-responder*. Tamaño, localización y red neuronal asociada al clúster en el que se observó una diferencia significativa en la conectividad intrínseca preexistente de los pacientes *Responder* y *Non-responder*.

Nombre del clúster	Tamaño del clúster (Número de vóxeles)	P valor mínimo del clúster	Coordenadas MNI (X, Y, Z)	Área cerebral asociada
Pacientes <i>Responder</i> > Pacientes <i>Non-responder</i>				
Red de los ganglios basales				
RGB-1	39	0,014	2,-54,28	Área 7 medial derecha

Los datos fueron analizados usando un modelo lineal general creado con FSL, similar en su distribución a un test T de Student. Todos los p valores fueron corregidos usando FWE, y se consideró significativos únicamente los resultados con $p < 0,05$ tras la corrección. RGB-1: clúster 1 asociado a la red de los ganglios basales. MNI: *Montreal Neuroscience Institute*.

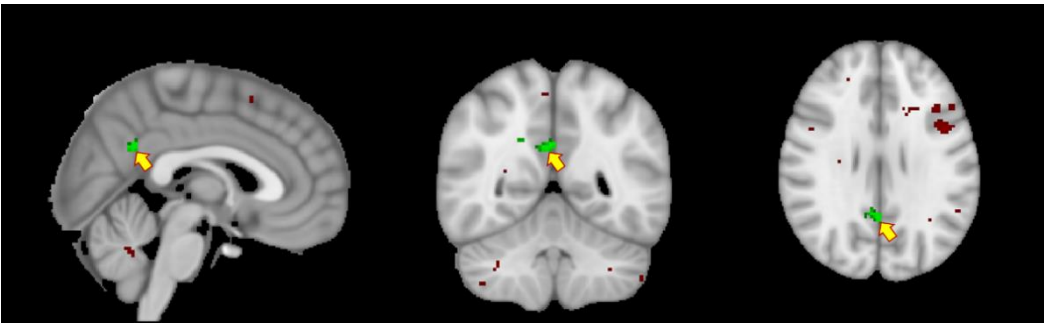


Figura 57. Región en la que se observaron diferencias preexistentes entre los pacientes *Responder* y *Non-responder*. Vistas sagital, coronal y axial (de izquierda a derecha) con la localización afectada (verde, señalado) y la red neuronal asociada (rojo).

2.5.4. Comparación de los pacientes tratados con los controles

Uno de los objetivos iniciales de este estudio era la comparación de los pacientes tratados con rifaximina con los controles. Con este análisis se quiso determinar si los cambios propiciados por la rifaximina en la conectividad neuronal de los pacientes eran capaces de revertir las alteraciones observadas en pacientes con EHM por García-García *et al.* (2017). Estos análisis se limitaron a las redes neuronales en las que se había observado algún cambio en los análisis realizados en los apartados 2.5.1 y 2.5.2.

Al comparar la conectividad intrínseca de las redes sensitivo-motora media y lateral del conjunto de pacientes tras el tratamiento con los Controles no se hallaron diferencias significativas entre los dos grupos. De forma similar, al comparar la señal de la red talámica de los pacientes *Responder* tras el tratamiento con los Controles tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos grupos. Cabe destacar que, en el estudio de García-García *et al.* (2017), estas redes neuronales no se analizaron o no presentaron alteraciones significativas.

Por el contrario, al comparar la señal de la red frontoparietal izquierda del conjunto de pacientes tras el tratamiento con los Controles sí se hallaron clústeres en los que ambos grupos mostraban diferencias estadísticamente significativas. El tamaño y localización de estos clústeres eran similares a los observados por García-García *et al.* (2017) al estudiar las alteraciones de la conectividad funcional de esta misma red en pacientes con EHM, lo cual indicaba que dichas alteraciones no habían sido revertidas por el tratamiento con rifaximina.

2.6. Estudio de la conectividad entre redes neuronales

La segunda faceta del estudio de la función cerebral mediante RM se centró en el análisis de la correlación entre las señales funcionales de las distintas redes neuronales, y los cambios y diferencias en dicha correlación entre los distintos grupos de análisis.

Para llevar a cabo este análisis se recurrió a la teoría de grafos, y se usaron los valores derivados de realizar una transformación z de Fisher sobre la correlación parcial regularizada L2 entre las distintas señales aisladas. En este sentido, un valor z de Fisher alto se correspondería con un comportamiento muy correlacionado entre dos redes neuronales, que se activarían o desactivarían de forma coordinada cuando este valor sea positivo, o antagónicamente si es negativo. En caso de que este valor fuese cercano a 0, indicaría que ambas redes se activan y desactivan siguiendo ritmos y patrones distintos e independientes. Debido a la naturaleza de los datos analizados, no se conocía la relación de causalidad entre las redes neuronales conectadas en cada caso.

2.6.1. Efecto general de la rifaximina

Al estudiar el efecto de la rifaximina sobre la conectividad entre distintas redes en el conjunto de la muestra se halló un único caso en el que se observó un cambio estadísticamente significativo tras el tratamiento.

En la conexión entre la red talámica (RTA) y la red sensitivo-motora lateral (RSML) (Figura 58) se observó que, tras el tratamiento, la correlación entre la señal de ambas redes pasaba de tener un valor negativo en la mayoría de la muestra a tener uno mayormente positivo ($p = 0,019$). Este cambio de sentido indicaría que, mientras que antes del tratamiento ambas redes tenían una relación principalmente antagónica (la activación de una iba acompañada de la desactivación de la otra), tras el tratamiento esta relación pasó a ser principalmente sincrónica (cuando una se activaba o desactivaba, la otra actuaba en el mismo sentido).

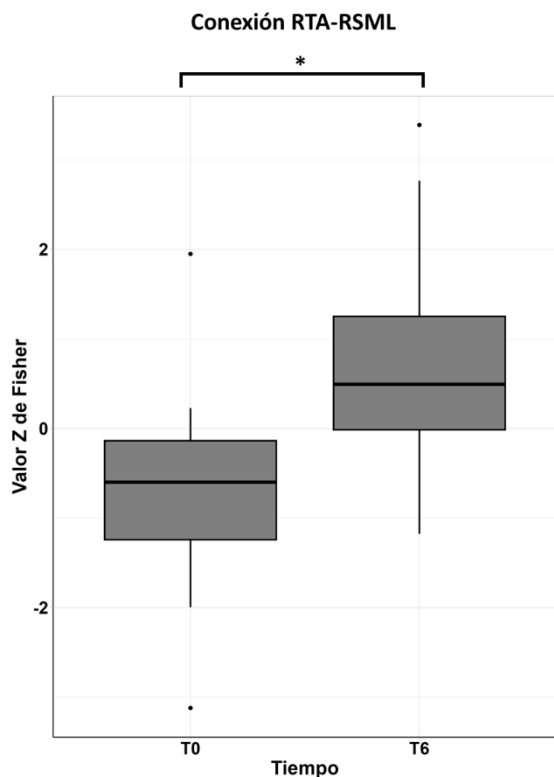


Figura 58. Evolución de la conexión entre la Red Talámica (RTA) y la Red Sensitivo-motora Lateral (RSML) tras el tratamiento con rifaximina. Gráfico de cajas con el valor Z de Fisher de la conexión RTA-RSML antes y después del tratamiento. Los datos se analizaron con un modelo lineal general, similar en su distribución a un test T de Student para muestras pareadas, creado con el paquete lme4 para el lenguaje de programación R. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg, y se consideró que los cambios eran significativos únicamente en los casos con $p < 0,05$ tras la corrección. T0: muestra antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *: $p < 0,05$ al comparar la muestra de estudio tras el tratamiento con su estado antes del mismo.

2.6.2. Efecto diferencial de la rifaximina

Durante el estudio del efecto diferencial de la rifaximina según el grupo de respuesta al que pertenecían los pacientes, se hallaron múltiples conexiones entre redes significativamente afectadas. Este efecto se observó, tanto en una evolución de pacientes *Responder* y *Non-responder* en direcciones opuestas, como en una evolución limitada únicamente a los pacientes *Responder*.

Se observó un efecto diferencial de la rifaximina sobre la conexión entre la red sensitivo-motora media (RSMM) y la red de atención dorsal (RAD) (Figura 59a). En este caso, mientras que los pacientes *Responder* evolucionaron desde un valor predominantemente positivo a uno generalmente más cercano a cero y más negativo, los pacientes *Non-responder* empezaron desde un valor negativo y evolucionaron a uno

también más cercano a cero ($p = 0,042$). Adicionalmente, al analizar de forma aislada la evolución de los pacientes *Responder* se observó que, independientemente de su comparación con la evolución de los pacientes *Non-responder*, el cambio experimentado por este grupo de pacientes era significativo en sí mismo ($p = 0,046$). El cambio experimentado por los pacientes *Non-responder*, por otro lado, no fue inherentemente significativo. En este caso, la rifaximina fue capaz de disminuir la sincronización entre RSMM y RAD en los pacientes *Responder*, mientras que en los pacientes *Non-responder* disminuyó la relación antagónica entre ambas redes, pero de forma no significativa en este último caso.

Otra conexión en la que se observaron cambios similares fue la que se da entre la red frontoparietal derecha (RFPD) y la red del giro supramarginal (RGS) (Figura 59b). En esta conexión se observó, por un lado, una evolución de los pacientes *Responder* desde un valor principalmente negativo a uno más neutro, y, por otro, una evolución de los pacientes *Non-responder* de un valor principalmente positivo a uno principalmente negativo ($p = 0,042$). En esta ocasión, el cambio experimentado por los pacientes *Responder* también fue estadísticamente significativo por sí mismo ($p = 0,037$), pero no así el cambio experimentado por los pacientes *Non-responder*. En este caso, la rifaximina disminuyó el papel antagónico de la conexión RSMM-RAD en los pacientes *Responder*, favoreciendo una mayor independencia de ambas redes. Mientras tanto, en los pacientes *Non-responder* esta conexión evolucionó en el sentido opuesto, desde un papel mayormente sincrónico a uno antagónico, pero sin que dicha evolución fuese inherentemente significativa.

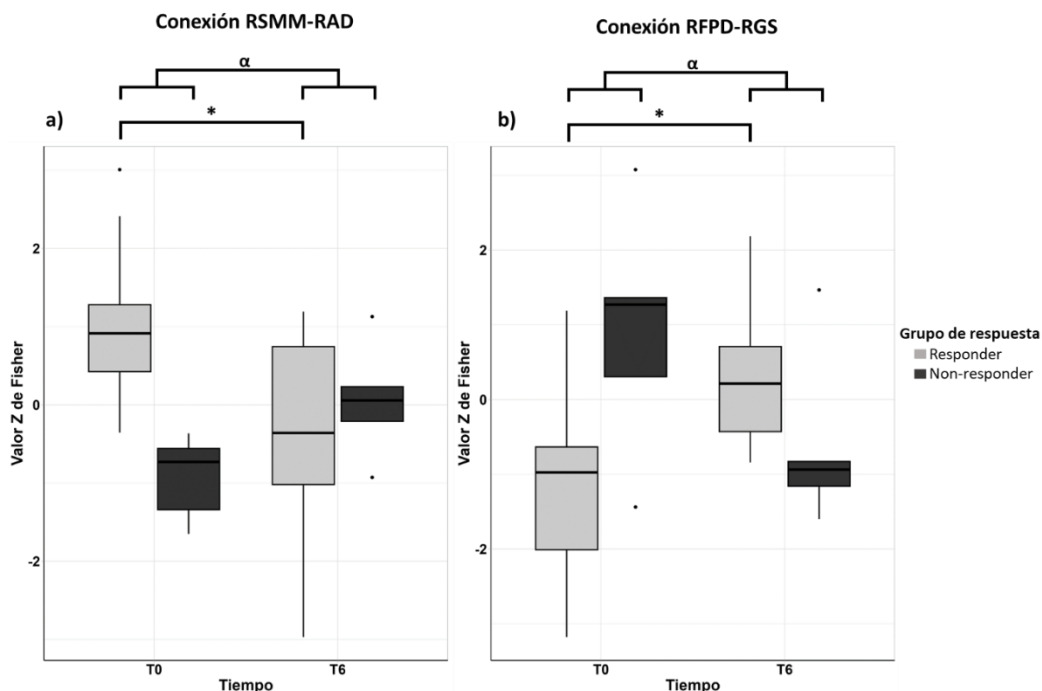


Figura 59. Evolución de las conexiones entre la Red Sensitivo-motora Media (RSMM) y la Red de Atención Dorsal (RAD) (a) y entre la Red Frontoparietal Derecha (RFPD) y la Red del Giro Supramarginal (RGS) (b) tras el tratamiento con rifaximina. Gráficos de cajas con el valor Z de Fisher de las conexiones RSMM-RAD (a) y RFPD-RGS (b) antes y después del tratamiento, y separadas en pacientes *Responder* y *Non-responder*. En los análisis en que se tuvo en cuenta tanto a pacientes *Responder* como *Non-responder*, los datos se analizaron con un modelo lineal general, similar en su distribución a un ANOVA de medidas repetidas de dos vías y efectos mixtos. En los análisis en que únicamente se tuvo en cuenta a un grupo de respuesta los datos se analizaron con un modelo lineal general, similar en su distribución a un test T de Student para muestras pareadas. Todos los modelos fueron creados con el paquete lme4 para el lenguaje de programación R. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg, y se consideró que los cambios eran significativos únicamente en los casos con $p < 0,05$ tras la corrección. T0: muestra antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *: $p < 0,05$ al comparar a los pacientes *Responder* antes y después del tratamiento. α: $p < 0,05$ al comparar a la evolución de los pacientes *Responder* con la de los *Non-responder*.

De forma similar a las dos conexiones ya comentadas, se observó un efecto diferencial de la rifaximina en la conexión entre la red visual media (RVM) y la red talámica (RTA) (Figura 60). En este caso, no obstante, en lugar de observarse una evolución de ambos grupos de pacientes en sentidos opuestos, se observó un cambio significativo en los pacientes *Responder* ($p = 0,046$), acompañado de un cambio no significativo en la misma dirección por parte de los pacientes *Non-responder*. Se observó una evolución de la conexión RVM-RTA en los pacientes *Responder* desde un valor predominantemente

negativo hasta uno más neutro tras el tratamiento. Aunque los pacientes *Non-responder* evolucionaron en el mismo sentido, el cambio experimentado por estos fue de una magnitud mucho menor, y por tanto no significativo. Esta falta de magnitud llegó hasta el punto de que, al considerar a los pacientes tratados en su conjunto, el cambio observado en esta conexión perdía también toda significancia estadística.

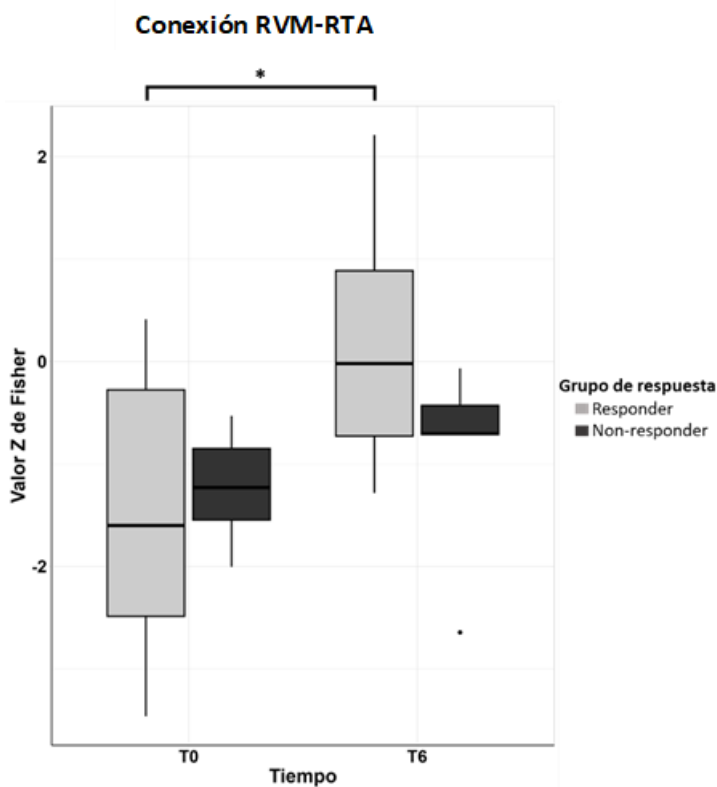


Figura 60. Evolución de la conexión entre la Red Visual Media (RVM) y la Red Talámica (RTA) tras el tratamiento con rifaximina. Gráfico de cajas con el valor Z de Fisher de la conexión RVM-RTA antes y después del tratamiento, y separadas en pacientes *Responder* y *Non-responder*. Los datos de cada grupo de respuesta se analizaron con un modelo lineal general, similar en su distribución a un test T de Student para muestras pareadas, creado con el paquete lme4 para el lenguaje de programación R. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg, y se consideró que los cambios eran significativos únicamente en los casos con $p < 0,05$ tras la corrección. T0: muestra antes del tratamiento. T6: muestras tras 6 meses de tratamiento. *: $p < 0,05$ al comparar a los pacientes *Responder* antes y después del tratamiento.

2.6.3. Diferencias preexistentes entre grupos de respuesta

Por último, se estudió la presencia de diferencias preexistentes en las conexiones entre redes de los pacientes *Responder* y *Non-responder*. En este caso, se hallaron dos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de pacientes.

En primer lugar, se observó una diferencia significativa entre pacientes *Responder* y *Non-responder* en la conexión entre las redes sensitivo-motora media (RSM) y de atención dorsal (RAD) (Figura 61a). Se observó que los pacientes *Responder* presentaban valores principalmente positivos, mientras que los pacientes *Non-responder* mostraban valores exclusivamente negativos ($p = 0,047$). Los cambios experimentados por esta misma conexión tras el tratamiento con rifaximina ya han sido mostrados en la Figura 59a. Con la inclusión de estos resultados sería posible afirmar que los pacientes *Responder* y *Non-responder* partieron de situaciones significativamente distintas en cuanto al estado de esta conexión entre redes (una conexión sincrónica en los pacientes *Responder* y antagónica en los *Non-responder*), y que el tratamiento con rifaximina fue capaz de llevar esta conexión hacia valores generalmente más cercanos a 0.

Por otro lado, también se detectaron diferencias preexistentes en la conexión entre la sección frontal de la red neuronal por defecto (RDF) y la red de los ganglios basales (RGB) (Figura 61b). Para esta conexión, mientras que los pacientes *Responder* presentaban valores principalmente negativos, los pacientes *Non-responder* presentaban valores exclusivamente positivos ($p = 0,047$). Esto indicaría que la conexión RDF-RGB tenía un papel principalmente antagónico en los pacientes *Responder*, y sincrónico en los *Non-responder*. Esta conexión no se vio afectada de forma significativa por el tratamiento con rifaximina.

En estos análisis también se tuvo en cuenta la edad de los pacientes como posible cofactor capaz de influir en la conexión entre redes, pero esta no tuvo un efecto significativo en ningún caso.

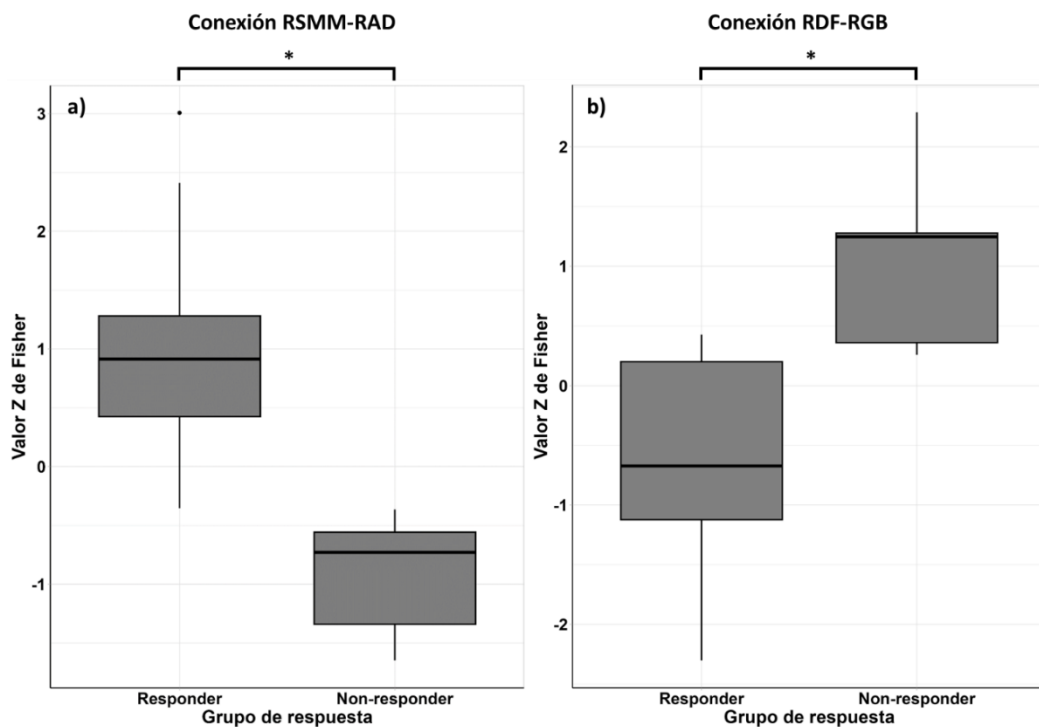


Figura 61. Diferencias preexistentes en las conexiones entre la Red Sensitivo-motora Media (RSMM) y la Red de Atención Dorsal (RAD) (a) y entre la sección frontal de la Red neuronal por Defecto (RDF) y la Red de los Ganglios Basales (RGB) (b). Gráficos de cajas con el valor Z de Fisher de las conexiones RSMM-RAD y RDF-RGB antes del tratamiento, separadas en *Responder* y *Non-responder*. Los datos se analizaron usando un modelo lineal general, similar en su distribución a un test T de Student, creado con el paquete lme4 para el lenguaje de programación R. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg, y se consideró que los cambios eran significativos únicamente en los casos con $p < 0,05$ tras la corrección. *: $p < 0,05$ al comparar al grupo de pacientes *Responder* con los *Non-responder*.

2.7. Correlación entre las diferencias y cambios de la función neuronal y otros parámetros

A partir de los resultados obtenidos en los análisis de la función neuronal se procedió a aislar la señal de los clústeres hallados en el apartado 2.5, y los valores Z de Fisher de las conexiones entre redes neuronales con cambios significativos del apartado 2.6. Estos valores fueron correlacionados con las mediciones de los parámetros bioquímicos y con los resultados de los test psicométricos realizados por los pacientes de la muestra.

Para llevar a cabo las correlaciones que incluían muestras del mismo paciente antes y después del tratamiento se recurrió al método de correlación ajustado para muestras repetidas desarrollado por Backdash y Marusich, 2017. Mediante el uso de esta metodología se incidió en la comparación del ritmo al que evolucionaban los dos parámetros correlacionados, teniendo en cuenta que datos pertenecían a los pacientes antes y después del tratamiento. En los casos en los que solamente se tuvieron en cuenta las muestras antes del tratamiento se usó la correlación de Spearman.

2.7.1. Correlaciones de la conectividad intrínseca de las redes neuronales

Correlaciones con parámetros bioquímicos

Al analizar la correlación de la señal de los clústeres detectados en los análisis del apartado 2.5 con los niveles en sangre de citocinas y amonio, se observaron múltiples correlaciones estadísticamente significativas. Entre las correlaciones obtenidas destacaron, especialmente, aquellas en las que estaba implicado algún clúster resultante del efecto general de la rifaximina.

Las señales de todos los clústeres obtenidos del estudio del efecto general de la rifaximina correlacionaron con la evolución de, al menos, un parámetro bioquímico (Tabla 41). Adicionalmente, el clúster RSML-2, hallado al estudiar exclusivamente la evolución de los pacientes *Responder*, también mostró numerosas correlaciones significativas con los parámetros bioquímicos.

Fue especialmente llamativa la interleucina IL-6, que correlacionó de forma significativa con todos los clústeres mencionados. Con la excepción del clúster RSMM-1, estas correlaciones fueron positivas en todos los casos, indicando que, tras el tratamiento, la

conectividad funcional de los distintos clústeres disminuía en consonancia con los niveles de IL-6. Otros casos llamativos fueron el de IL-22, que correlacionó con todos los clústeres considerados salvo RFPI-1, y el de IL-15, que correlacionó exclusivamente con clústeres cuya señal estaba relacionada con alguna red sensitivo-motora (RSMM-1, RSML-1 y RSML-2).

En todos los casos, salvo el del amonio, las correlaciones en las que estaba implicada la señal del clúster RSMM-1 fueron negativas, mientras que el resto de clústeres mostraron únicamente correlaciones positivas.

También resultó destacable el hecho de que RSML-1 y RSML-2, ambos relacionados con la señal funcional de la red sensitivo-motora lateral, fuesen los dos clústeres de menor tamaño encontrados y, a su vez, aquellos cuya evolución mostró una mayor cantidad de correlaciones significativas con los cambios observados en los niveles de citocinas en sangre. Esto incluyó la correlación entre la señal de RSML-2 y los niveles de IL-18, que fue la mayor correlación de este tipo hallada ($r = 0,824$ y $p < 0,01$).

Tabla 41. Correlaciones significativas entre la intensidad de la señal de los clústeres hallados en el análisis de la conectividad intrínseca de las redes neuronales y los distintos parámetros bioquímicos medidos.

	RSMM-1	RFPI-1	RFPI-2	RSML-1	RSML-2
Amonio	0,555*				
IL-6	-0,709**	0,66*	0,815***	0,663**	0,68*
IL-18			0,565*	0,524*	0,824**
CCL20			0,59*		0,711*
CXCL13					0,66*
IL-22	-0,714**		0,656*	0,755**	0,607*
IL-15	-0,597*			0,511*	0,689*
CXC3L1				0,519*	

En todos los casos se usó la correlación ajustada para muestras repetidas de Backdash y Marusich, 2017. Todos los p valores fueron corregidos usando Benjamini-Hochberg. Únicamente se muestran los clústeres y parámetros bioquímicos con al menos una correlación significativa. *: indica un $p < 0,05$ (*) o $p < 0,01$ (**). RSMM-1: clúster 1 de la red sensitivo-motora media. RFPI-1: clúster 1 de la red frontoparietal izquierda. RFPI-2: clúster 2 de la red frontoparietal izquierda. RSML-1: clúster 1 de la red sensitivo-motora lateral. RSML-2: clúster 2 de la red sensitivo-motora lateral.

Correlaciones con test psicométricos

En el caso de las correlaciones con la evolución de los test psicométricos, se halló una predominancia de las correlaciones con test que medían la atención y velocidad de procesamiento (Tabla 42). En este caso no se observó ninguna correlación estadísticamente significativa que incluyese los clústeres relacionados con el efecto diferencial de la rifaximina, o con las diferencias preexistentes entre los pacientes.

Fue particularmente llamativo el caso del subtest DST de la batería PHES, y del test SDMT Oral, que no solamente miden funciones cognitivas similares, sino que tienen un planteamiento funcional también similar. La evolución de los resultados de estos dos test correlacionó de forma significativa con la evolución de la conectividad funcional de los clústeres RFPI-1, RFPI-2 y RSML-1. Entre estas correlaciones se incluía la correlación más alta de todas las encontradas en este caso, entre RFPI-2 y el test SDMT Oral ($r = -0,769$ y $p < 0,05$).

También fue llamativo el caso de la puntuación global de la batería PHES, que mostró correlaciones significativas con los dos clústeres relacionados con la señal de la Red frontoparietal izquierda.

La señal del clúster RFPI-2 fue la que correlacionó de forma significativa con una mayor cantidad de variables psicométricas, incluyendo el subtest LTT de la batería PHES, que mide la coordinación, y dos de las tareas del test Stroop.

Tabla 42. Correlaciones significativas entre la intensidad de la señal de los clusters hallados en el análisis del efecto general de la rifaximina y los resultados de los distintos test psicométricos.

	RFPI-1	RFPI-2	RSML-1
Puntuación global PHES	-0,595*	-0,7*	
DST	-0,583*	-0,683*	-0,69*
NCT-A	0,708*		
LTT		0,597*	
Tarea neutra Stroop		-0,644*	
Tarea incongruente Stroop		-0,592*	
SDMT Oral	-0,668*	-0,769*	-0,668*

En todos los casos se usó la correlación ajustada para muestras repetidas de Backdash y Marusich, 2017. Todos los p valores han sido corregidos usando Benjamini-Hochberg. Únicamente se muestran los clústeres y resultados psicométricos con al menos una correlación significativa. *: indica un $p < 0,05$ (*). RFPI-1: clúster 1 de la red frontoparietal izquierda. RFPI-2: clúster 2 de la red frontoparietal izquierda. RSML-1: clúster 1 de la red sensitivo-motora lateral. PHES: *Psychometric hepatic encephalopathy score*. DST: *Digit symbol test*. NCT-A: *Number connection test A*. LTT: *Line tracking test*. SDMT: *Symbol digit modalities test*.

2.7.2. Correlaciones de la conectividad entre distintas redes neuronales

Correlaciones con parámetros bioquímicos

Al analizar las correlaciones entre la evolución de los valores Z de Fisher de las conexiones entre redes neuronales, y los cambios en los niveles de los parámetros bioquímicos medidos, únicamente se hallaron correlaciones significativas en las que estaban implicadas las conexiones que habían cambiado de forma diferencial tras el tratamiento. Esto incluyó, tanto los casos en los que pacientes *Responder* y *Non-responder* habían evolucionado en direcciones distintas, como aquellos en los que solamente se había observado una evolución significativa en los pacientes *Responder* (Tabla 43).

Al considerar la muestra completa de pacientes, los cambios de las conexiones RSMM-RAD y RFPD-RGS mostraron un alto nivel de correlación con la disminución de los niveles de IL-18 que habían experimentado los pacientes. También se observó una correlación entre la evolución de la conexión RSMM-RAD y de los niveles de CXCL13, y entre la evolución de la conexión RFPD-RGS y de los niveles de IL-15 (Tabla 43).

En el caso de la conexión RSMM-RAD, al limitar la muestra considerada solamente a los pacientes *Responder*, se perdió la correlación con los niveles de IL-18. Esto indicaría que el menor tamaño de la muestra usada, y la eliminación de los pacientes *Non-responder* de la muestra considerada, reducían demasiado la correlación entre la evolución de ambos parámetros como para considerar que presentaban un patrón de evolución común. En el caso de la correlación con CXCL13, el nivel de correlación se vio reforzado al considerar únicamente a los pacientes *Responder*.

Al considerar las correlaciones de la conexión RFPD-RGS se observó el efecto contrario. Las dos correlaciones observadas al tener en cuenta la muestra completa de pacientes aumentaron su valor de *r* al limitar la muestra considerada únicamente a los pacientes *Responder*. Esto incluyó la correlación entre la evolución de la conexión RFPD-RGS y de los niveles de IL-18 en la muestra de pacientes *Responder*, que mostró la *r* más alta de todas las correlaciones halladas en este caso (*r* = -0,821 y *p* < 0,01). Adicionalmente se observó una correlación significativa con la evolución de los niveles IL-6, lo cual indicaría que, mientras que en los pacientes *Responder* esta conexión evolucionaba siguiendo un patrón claramente opuesto a los niveles de IL-6, dicho caso no se daba al tener en cuenta a los pacientes *Non-responder*.

Tabla 43. Correlaciones significativas entre las conexiones entre redes neuronales con cambios significativos tras el tratamiento con rifaximina y los distintos parámetros bioquímicos medidos.

	RSMM-RAD		RFPD-RGS	
	Muestra completa	Sólo <i>Responder</i>	Muestra completa	Sólo <i>Responder</i>
IL-6				-0,637*
IL-18	0,581*		-0,774***	-0,821**
CXCL13	0,633*	0,7*		
IL-15			-0,59*	-0,777**

En todos los casos se usó la correlación ajustada para muestras repetidas de Backdash y Marusich, 2017. Todos los *p* valores han sido corregidos usando Benjamini-Hochberg. Únicamente se muestran los clústeres y parámetros bioquímicos con al menos una correlación significativa. *: indica un *p* < 0,05 (*) o *p* < 0,01 (**). RSMM: Red sensitivo-motora media. RAD: Red de atención dorsal. RFPD: Red frontoparietal derecha. RGS: Red del giro supramarginal.

Correlaciones con test psicométricos

Al analizar las correlaciones entre la evolución de las conexiones entre redes neuronales, y la evolución de los resultados de los test psicométricos realizados, únicamente se hallaron correlaciones significativas cuando se tuvieron en cuenta los cambios que experimentó la conexión RVM-RTA de los pacientes *Responder* (Tabla 44). No se hallaron correlaciones significativas que incluyesen las conexiones alteradas en el conjunto de la muestra, ni al considerar únicamente a los pacientes antes del tratamiento.

Los test psicométricos cuya evolución mostró una correlación significativa incluyeron la puntuación global de la batería PHES y múltiples subtest de la batería, además de las tareas neutra e incongruente del test Stroop, el test SDMT Oral, la ejecución del test de coordinación bimanual y todas las variables del test d2 no directamente relacionadas con el número de errores cometidos. En su conjunto, la mayoría de variables con una alta correlación observadas medían algún aspecto relacionado con la concentración, la flexibilidad cognitiva, la velocidad de procesamiento o la función inhibitoria de los pacientes *Responder*. La presencia del subtest LTT y el test de coordinación bimanual indicaría también una cierta relación con la función motora.

La correlación más alta en este caso se dio entre la conexión RVM-RTA y los resultados del test de coordinación bimanual ($r = -0,891$ y $p = 0,002$).

Tabla 44. Correlaciones significativas entre los test psicométricos y las conexiones entre redes neuronales afectadas por la rifaximina específicamente en los pacientes Responder.

Conexión	Variable psicométrica	r	P valor ajustado
RVM-RTA	Puntuación global PHES	0,74	0,01
	DST	0,803	0,006
	NCT-B	-0,794	0,008
	LTT	-0,589	0,047
	Tarea neutra Stroop	0,681	0,022
	Tarea incongruente Stroop	0,685	0,022
	SDMT Oral	0,758	0,009
	TR d2	0,642	0,047
	TA d2	0,659	0,046
	TOT d2	0,699	0,03
	CON d2	0,642	0,047
	Coordinación bimanual	-0,891	0,002

En todos los casos se usó la correlación ajustada para muestras repetidas de Backdash y Marusich, 2017. Todos los p valores han sido corregidos usando Benjamini-Hochberg. Únicamente se muestran las conexiones y resultados psicométricos con al menos una correlación significativa. RVM: Red visual media. RTA: Red talámica. PHES: *Psychometric hepatic encephalopathy score*. DST: *Digit symbol test*. NCT-A: *Number connection test A*. NCT-B: *Number connection test B*. LTT: *Line tracking test*. SDMT: *Symbol digit modalities test*.

VI. Discusión

1. Estudio de los movimientos oculares en pacientes con encefalopatía hepática mínima

La encefalopatía hepática es un síndrome neuropsiquiátrico complejo derivado de una insuficiencia hepática, y que puede manifestarse con distintos grados de severidad. La EHM es la fase más temprana y leve de este síndrome, y se caracteriza por su naturaleza subclínica. La presencia de EHM es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de EH de carácter clínico, pero debido a su carácter subclínico no es posible detectarla en una revisión médica rutinaria, lo cual hace necesario recurrir al uso de test psicométricos especializados (Romero-Gómez *et al.*, 2001; Nardone *et al.*, 2016).

De entre las herramientas usadas para detectar la EHM, la más conocida es la batería PHES (Weissenborn *et al.*, 2001, Ferenci *et al.*, 2002). Esta batería incluye cinco subtest, que se centran en la evaluación de la velocidad de procesamiento (subtest DST, NCT-A y NCT-B), la memoria de trabajo (DST), la atención (NCT-A y NCT-B) y la coordinación visuoespacial (subtest DST y LTT). A partir de las puntuaciones obtenidas por el paciente en estos test, que son corregidas según su edad y años de formación académica, se determina si el paciente sufre EHM o no (Romero-Gómez *et al.*, 2006). No obstante, la aplicación de la batería PHES en la práctica clínica diaria es poco frecuente, ya que el tiempo requerido para la explicación de los test al paciente y su posterior corrección resulta poco conveniente en este ámbito. Debido a estos inconvenientes, muchos pacientes permanecen sin diagnosticar, y nunca se les llega a recetar un tratamiento adecuado frente a la EHM. Esta situación aumenta el riesgo de que estos pacientes desarrollen una EH de carácter clínico que, a su vez, genera una mayor carga para el entorno social del paciente y para el sistema sanitario en general.

1.1. Diagnóstico y caracterización de la encefalopatía hepática mínima

Durante esta tesis se ha usado la batería PHES para diagnosticar la presencia de EHM en una muestra de 118 pacientes con cirrosis. De entre estos, 32 pacientes fueron diagnosticados como EHM, lo cual equivale al 27% de la muestra del estudio. Esta proporción se asemeja a los resultados obtenidos en otros estudios, donde la proporción de pacientes con EHM ronda el 30% (Gairing *et al.*, 2022; Kaps *et al.*, 2022), aunque en otros casos se ha observado que esta proporción puede llegar hasta el 50% (Bajaj *et al.*, 2022; Luo *et al.*, 2022). Estos resultados evidencian que la EHM afecta a una proporción

destacable de los pacientes con cirrosis, que estarían en riesgo de ver empeorada su situación si la EHM que sufren progresa hacia un estado más severo, y de carácter clínico.

De forma complementaria a la batería PHES, durante esta tesis se llevaron a cabo otros test psicométricos para caracterizar las alteraciones cognitivas de los pacientes con mayor exactitud.

Además de estos test psicométricos, y con el objetivo de determinar el estado inflamatorio y la hiperamonemia de los pacientes, también se llevaron a cabo mediciones de los niveles de amonio y de distintas citocinas en sangre.

Hiperamonemia e inflamación

A partir de las mediciones de los niveles de citocinas en sangre fue posible observar que los pacientes con cirrosis, independientemente de su estado cognitivo, mostraban un perfil inflamatorio claramente alterado. Con la excepción de CXCL13, IL-15 e IL-22, todas las citocinas medidas mostraron niveles significativamente alterados en pacientes con y sin EHM. En el caso de la CX3CL1 solamente se observaron alteraciones significativas en los pacientes con EHM, al compararlos tanto con los pacientes sin EHM como con los sujetos control. En ninguna otra medición se observaron diferencias significativas entre los pacientes con y sin EHM, aunque los pacientes con EHM mostraron alteraciones sutilmente mayores en sus niveles de IL-6, IL-15 e IL-22. En su conjunto, y a pesar de que en la mayoría de casos las diferencias entre pacientes con y sin EHM no llegaron a ser estadísticamente significativas, los patrones de alteración se correspondieron con los hallazgos de publicaciones previas, incluyendo estudios sobre las alteraciones inflamatorias en pacientes con cirrosis (Thompson *et al.*, 1998; Streetz *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2010; Mangas-Losada *et al.*, 2017; Rey y Effendi-Ys, 2021), y otros estudios que relacionan las alteraciones inflamatorias con el deterioro cognitivo observado en otras enfermedades, como la diabetes, la artritis reumatoide o la obesidad (Shin *et al.*, 2013; Díaz-Gerevini *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2014).

En cuanto a los niveles de amonio en sangre, estos también fueron significativamente más altos en todos los pacientes, y en el caso de los pacientes con EHM fueron, a su vez, significativamente más altos que en los pacientes sin EHM. Estos resultados fueron consistentes con las observaciones realizadas en la bibliografía relacionada (Felipo y Butterworth, 2002; Felipo *et al.*, 2012b; Kosenko, *et al.*, 2022), y se corresponden con la relación establecida entre la hiperamonemia y el deterioro cognitivo en pacientes (Clemmensen *et al.*, 1999).

Velocidad de procesamiento y atención

Para evaluar la velocidad de procesamiento y la atención de los sujetos se recurrió a las pruebas Congruente y Neutra del test Stroop, al test SDMT Oral y al test d2. Para evaluar esta función cognitiva también se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos en los subtest DST, NCT-A y NCT-B de la batería PHES.

Con la excepción del número de errores por omisión realizados durante el test d2, en todas las variables de estos test los pacientes con EHM mostraron resultados significativamente peores que el resto de sujetos del estudio, incluyendo controles y pacientes sin EHM. Este deterioro también se observó, de forma más limitada, en los pacientes sin EHM, con resultados significativamente peores que los controles en los subtest DST y NCT-B de la batería PHES, en la tarea neutra del test Stroop, en el test SDMT Oral y en todas las variables del test d2 con la excepción del número de errores por omisión y comisión.

Más allá del deterioro evidente de la velocidad de procesamiento y la atención en los pacientes con EHM, los resultados observados muestran que estas funciones ya presentan un cierto deterioro en los pacientes que, según la batería PHES, no sufren EHM. Este deterioro sutil, que la batería PHES no llega a detectar, ya fue observado por Felipo *et al.* (2012a) y Giménez-Garzó *et al.* (2017). Para estos pacientes, en el caso de la batería PHES solamente se observó un empeoramiento de los resultados en los subtest DST y NCT-B, que podrían considerarse más complejos que el test NCT-A. De forma similar, en el test Stroop solamente se observó un deterioro significativo de los resultados de la tarea neutra, que es también más exigente que la tarea congruente de este mismo test. Por el contrario, tanto en el test SDMT Oral como en el test d2 algunos pacientes sin EHM mostraron alteraciones significativas similares a las de los pacientes con EHM. Estos resultados indicarían que, aunque la atención y la velocidad de procesamiento ya se encuentran alterados en estos pacientes sin EHM, este deterioro es tan sutil que solamente puede detectarse con test psicométricos particularmente exigentes. Este nivel de exigencia puede conseguirse a través de una mayor complejidad o haciendo necesario mantener la concentración de forma sostenida durante un tiempo prolongado, como sería el caso del test d2 (Giménez-Garzó *et al.*, 2017).

Flexibilidad cognitiva y función inhibitoria

La flexibilidad cognitiva y la función inhibitoria de los pacientes fueron evaluadas mediante la tarea incongruente del test Stroop.

En este caso los pacientes con EHM obtuvieron resultados significativamente peores que los del resto de sujetos, tanto controles como pacientes sin EHM. Por el contrario, en los pacientes sin EHM no se observó un deterioro significativo de esta función. Esto indicaría que, al contrario que en el caso de la velocidad de procesamiento, el deterioro de la función inhibitoria y la flexibilidad cognitiva empieza en un momento más tardío, en pacientes cuyo deterioro cognitivo puede ser fácilmente detectado por la batería PHES.

Memoria de trabajo

Para evaluar la memoria de trabajo se utilizaron los subtest de dígitos directos e inversos, y el subtest de letras y números, de la batería WAIS.

En todos los test relacionados con esta función se observó un deterioro significativo en los pacientes con EHM al compararlos con los demás sujetos. De forma similar, pero menos acusada, los pacientes sin EHM también mostraron resultados significativamente peores que los controles en todos los casos.

El deterioro de la memoria de trabajo que se observó en los pacientes sin EHM indicaría que esta función también se ve alterada en una etapa temprana del deterioro cognitivo, cuando la batería PHES todavía no es capaz de detectar la EHM. En este caso, no obstante, existe cierta discrepancia sobre el origen de estas alteraciones, pues estudios como el de Weissenborn *et al.* (2003) apuntan a que el deterioro de la memoria de trabajo que se observa en los pacientes con EH se pueden deber a que los test psicométricos usados dependen de la capacidad de atención y percepción del paciente, que se encuentran ya de por sí deteriorados. Cabría esperar que en la EHM se dé un fenómeno similar, lo cual relacionaría estos resultados con los observados al evaluar la capacidad de atención y velocidad de procesamiento de los pacientes en otros test.

Coordinación motora

Para evaluar la coordinación motora se utilizaron los test de coordinación bimanual y visomotora de Yela. Para evaluar esta función también se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos en los subtest SD y LTT de la batería PHES.

En todos los casos los pacientes con EHM obtuvieron resultados significativamente peores que los controles y pacientes sin EHM. Con la excepción del subtest LTT, este

deterioro también se observó, de forma más sutil pero igualmente significativa, en los pacientes sin EHM.

Estos resultados indicarían, de forma similar a las observaciones realizadas con otras funciones cognitivas, que el deterioro de la coordinación empieza a darse en una etapa muy temprana, cuando la batería PHES todavía no es capaz de detectar la EHM. Estos resultados concuerdan con los que fueron observados por Butz *et al.* (2010) y Giménez-Garzó *et al.* (2017).

Resumidamente, los pacientes con EHM presentan una serie de alteraciones de múltiples funciones cognitivas, incluyendo la atención, la velocidad de procesamiento, la concentración, la flexibilidad cognitiva, la memoria de trabajo y la coordinación motora (Weissenborn *et al.*, 2005; Felipo *et al.*, 2012a). Estas alteraciones, aunque se observen de forma clara al llevar a cabo los test psicométricos adecuados, no son detectables en la clínica diaria. Estas alteraciones son las causantes del deterioro de la calidad de vida de los pacientes con EHM, además de un aumento de su riesgo de sufrir accidentes en su día a día (Bajaj *et al.*, 2009; Felipo *et al.*, 2013; Bajaj *et al.*, 2020).

Por otro lado, en la mayoría de casos también se observó que los pacientes sin EHM según la batería PHES también presentaban un deterioro significativo de sus funciones cognitivas al compararlos con los controles. Este deterioro fue, en todos los casos, mucho más sutil que el de los pacientes con EHM, y en algunos casos solamente fue posible detectarlo al observar los resultados de los test psicométricos más precisos y más exigentes a nivel cognitivo. Estos resultados, sin embargo, confirman que el deterioro de la mayoría de las funciones cognitivas empieza en una etapa muy temprana, que la batería PHES es incapaz de detectar de forma consistente (Giménez-Garzó *et al.*, 2017).

1.2. Alteraciones de los movimientos oculares

En años recientes, el análisis de los movimientos oculares ha ganado relevancia gracias al progreso de las técnicas de video-oculografía. Debido al delicado control necesario por parte de múltiples áreas del encéfalo para llevar a cabo dichos movimientos oculares, los avances en la detección y caracterización de los mismos han posibilitado una mejor comprensión de los mecanismos alterados en distintas enfermedades de carácter neurológico y neuropsiquiátrico. Este tipo de alteraciones ya han sido caracterizadas en enfermedades como el Alzheimer y el Parkinson (Heuer *et al.*, 2013;

Molitor *et al.*, 2015; Querfelli-Ethier *et al.*, 2018), la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o incluso la epilepsia (Donaghy *et al.*, 2011; Lunn *et al.*, 2016).

Muchas de estas alteraciones de los movimientos oculares tienen el potencial de convertirse en biomarcadores con una capacidad diagnóstica capaz de complementar a otras metodologías usadas actualmente, especialmente durante las fases más tempranas de estas enfermedades. Otros beneficios de la técnica son su poca invasividad y la facilidad y rapidez de su aplicación.

En el caso de la EH y la EHM también se han realizado algunos estudios centrados en las alteraciones de los movimientos oculares, que han sido capaces de mostrar alteraciones de la latencia y durante los movimientos de seguimiento (Montagnese *et al.*, 2005; Krismer *et al.*, 2010; Cunniffe *et al.*, 2015). Estos estudios, no obstante, generalmente se han centrado en un tipo de movimiento ocular específico, con un análisis de un conjunto limitado de variables.

Durante esta tesis se han llevado a cabo 10 test de movimientos oculares en una muestra de 118 pacientes con cirrosis y 35 sujetos control. En el conjunto de estos test se obtuvieron 164 variables distintas con el objetivo de estudiar y caracterizar todas las facetas de los movimientos oculares bajo condiciones diversas.

A nivel global, se observaron alteraciones significativas que distinguían a cualquiera de los tres grupos analizados de cualquier otro en 72 de las 164 variables analizadas. A un nivel más específico, los pacientes con EHM mostraron diferencias significativas respecto de los sujetos sanos y los pacientes sin EHM en 52 de estas variables. En el caso de las diferencias entre pacientes con y sin EHM, sin tener en cuenta a los sujetos control, el número de variables alteradas ascendía hasta 58. Por último, solamente se observaron diferencias significativas entre los controles y el conjunto completo de pacientes con cirrosis, sin distinguir entre estos según su deterioro cognitivo, en 13 variables. En su conjunto, la mayoría de alteraciones observadas parecían estar directamente asociadas con el deterioro cognitivo de los pacientes con EHM.

1.2.1. Alteraciones de la latencia de las sácadas

La latencia de los movimientos oculares mide el tiempo que transcurre entre la aparición o movimiento de un estímulo en el campo visual de un sujeto, y la respuesta ocular de este. En individuos sanos, y frente a la aparición de un estímulo en el campo visual, la latencia de los movimientos sacádicos se sitúa en, aproximadamente, 200 ms. Existen

numerosos estudios que establecen una relación clara entre la atención, así como la capacidad para cambiar el foco de la misma, y la latencia de los movimientos oculares (Groner y Groner, 1989; Nagel-Leiby *et al.*, 1990). En la enfermedad de Alzheimer y en la Esclerosis lateral amitrófica (ELA) se ha observado un aumento de la latencia de los movimientos sacádicos asociado al deterioro del lóbulo frontal, donde se encuentran los campos oculares (Donaghy *et al.*, 2011; Molitor *et al.*, 2015). Sin embargo, en casos como la enfermedad de Parkinson o Huntington también se ha observado que el aumento de la latencia se puede deber al deterioro de los ganglios basales, donde se encuentra el colículo superior, con un papel también crucial para la generación de los movimientos oculares (Lasker *et al.*, 1987; Pinkhardt *et al.*, 2012).

En la mayoría de test de movimientos oculares realizados, la latencia fue uno de los parámetros en los que observaron alteraciones de forma más consistente en los pacientes con EHM.

Latencia de los movimientos oculares principales (centrífugos)

Los principales movimientos oculares medidos en todas las pruebas fueron aquellos realizados hacia la periferia del campo visual. Ya en los test de sácadas visuales, los pacientes con EHM mostraron una latencia significativamente más alta que los pacientes sin EHM y los controles para estos movimientos. De forma similar, los pacientes con EHM mostraron un incremento significativo de la latencia también en los test de sácadas de memoria y de antisácadas, lo cual indica, en general, una menor velocidad a la hora de procesar un cambio de posición del foco de atención de la mirada. Estas observaciones concuerdan con las de Cuniffe *et al.* (2015), que documentó una latencia significativamente más alta en los pacientes con EHM cuando estos realizaban movimientos sacádicos guiados por la aparición de un estímulo en el campo visual.

En los pacientes sin EHM también se observó una tendencia a tener una mayor latencia que los controles en todos los test, pero este aumento solamente fue significativo en el test de sácadas de memoria. A nivel general, esta sutil diferencia indicaría que las funciones implicadas en la velocidad de respuesta de los movimientos oculares ya se encuentran ligeramente deterioradas en los pacientes sin EHM, pero en la mayoría de casos esta diferencia es tan sutil que es difícilmente distinguible de la ejecución de un sujeto sano. El hecho de que esta diferencia se acentúe en el test de sácadas de memoria sería indicativo de que las funciones cognitivas implicadas específicamente en este test están lo suficientemente deterioradas en los pacientes sin EHM como para que dicho deterioro pueda ser registrado durante el test. La principal característica del test de sácadas de memoria es que el sujeto debe dirigir la mirada hacia la posición de un

estímulo visual que desapareció 1.5 segundos antes, lo cual hace que entre en juego la memoria de trabajo; por lo tanto, la diferencia observada entre los pacientes sin EHM y los controles indicaría que la velocidad a la que los pacientes recuperan esta información reciente, y la convierten en una orden motora para redirigir el foco de atención de la mirada, ya está significativamente deteriorada en pacientes que, según la batería PHES, no sufren EHM. En los casos en que no es necesario recuperar información memorizada el deterioro observado solamente es significativo en los pacientes con EHM.

Latencia de los movimientos oculares de retorno (centrípetos)

Hasta ahora, no obstante, solamente se han comentado las alteraciones observadas al dirigir la mirada desde el centro del campo visual hacia su periferia. En el caso de los movimientos sacádicos de retorno, en los que los sujetos debían redirigir la mirada desde la periferia de nuevo hacia el centro del campo visual, se observaron alteraciones significativas en pacientes con EHM en ambas versiones del test de sácadas visuales, y en la versión vertical del test de sácadas de memoria. Si nos centramos en los test de sácadas visuales, la característica que diferencia este de los otros dos tipos de test es que el sujeto, en todo momento, tiene su foco de atención posicionado sobre un estímulo visual. Tanto en el test de sácadas de memoria como en el de antisácadas el sujeto regresa al estímulo visual del centro de la pantalla tras haber estado observando un espacio vacío. Así, la diferencia sería el cambio de posición de un estímulo antes céntrico en el test de sácadas visuales frente a la aparición de un estímulo anteriormente no visible en los test de sácadas de memoria y antisácadas.

Teniendo en cuenta las alteraciones observadas en este sentido, tanto en los movimientos oculares principales como en los de retorno, los pacientes con EHM muestran un deterioro de su velocidad de reacción, principalmente, cuando deben redirigir su foco de atención desde una posición en la que, hasta el momento del cambio, había un estímulo visual presente. Ante la aparición de un estímulo visual nuevo, por lo general, todos los sujetos reaccionan a una velocidad similar, independientemente de si sufren deterioro cognitivo o no. Esta sutil diferencia en el tipo de cambio que observa el sujeto en su campo visual, y cómo se ve afectada su reacción al mismo, estaría relacionada con la supresión de una fijación ocular sin estímulo visible (Dorris y Munoz, 1998). Según Dorris y Munoz (1995), en simios el polo rostral del colículo superior tendría un papel predominante en la liberación de la fijación, así que a partir de estos resultados cabría suponer que su función sufre un cierto deterioro en los pacientes con EHM, que ven aumentado su tiempo de reacción ante el reposicionamiento de un estímulo visual existente, pero no ante la aparición de uno nuevo.

Si tenemos en cuenta el conjunto completo de pacientes, independientemente de su clasificación como EHM o sin EHM según la batería PHES, sí se observó un deterioro significativo de la latencia de los movimientos oculares de retorno en las versiones verticales de los test de sácadas visuales y de memoria. La limitación de estas alteraciones a los movimientos oculares verticales podría indicar una mayor dificultad para cambiar el foco de atención en el eje vertical del plano visual. Ante esta mayor dificultad para redirigir el foco de la mirada en el eje vertical se haría patente un sutil deterioro en la velocidad de reacción de los pacientes que, según la batería PHES, no sufren EHM. Un deterioro del núcleo rostral intersticial del fascículo longitudinal medial (riMLF), que se encarga del control del movimiento ocular vertical y está localizado en el tronco encefálico, podría tener también relación con este deterioro circunscrito a las sácadas verticales de retorno (Büttner-Ennever *et al.*, 1982). El deterioro de las funciones de esta área tendría relación con las alteraciones observadas por Sunil *et al.* (2012) y Qi *et al.* (2013c) en áreas del tronco encefálico de pacientes con EHM.

Latencia de los movimientos oculares reflexivos (centrífugos)

En el caso del test de antisácadas existía la posibilidad de que los sujetos dirigiesen la mirada hacia el estímulo visual por error, en lugar de evitarlo. En este caso se observó que los pacientes con EHM presentaban una latencia significativamente mayor que la de los controles y pacientes sin EHM al realizar estos movimientos reflexivos. El aumento de la latencia de este tipo específico de movimientos sacádicos indicaría que, en pacientes con EHM, hay un deterioro significativo de la comunicación entre el campo ocular parietal, especialmente implicado en la realización de sácadas reflexivas, y el colículo superior (Pierrot-Deseilligny *et al.*, 1991; Grosbras *et al.*, 2005; Ptak *et al.*, 2011).

Variabilidad de la latencia

Al estudiar la estabilidad de la latencia de los sujetos se observó, por lo general, un incremento de la desviación típica de la latencia en los pacientes con EHM. Este incremento, sin embargo, en la mayoría de casos no llegó a ser estadísticamente significativo.

Carpenter y Williams (1995) propusieron que la variabilidad, o inconsistencia, que se observaba en la latencia de los movimientos sacádicos se podía deber al tiempo que el sujeto tardaba en decidir si la aparición o cambio de posición de un estímulo en el campo visual era real. Siguiendo esta idea, cabría suponer que los pacientes con EHM presentan una mayor dificultad para procesar de forma consistente los estímulos observados y reaccionar de forma acorde. Esto, a su vez, causaría que unas sácadas fuesen realizadas mucho más tarde que otras.

Resulta destacable, no obstante, que en la mayoría de casos estas diferencias no llegaron a ser significativas. Así, aunque sea posible atisbar un cierto deterioro en la consistencia con la que los pacientes con EHM realizan movimientos sacádicos, este deterioro, en la mayoría de casos, no es lo suficientemente notable como para distinguir claramente a los pacientes con deterioro cognitivo del resto de sujetos.

Los casos específicos en los que se observaron diferencias significativas entre grupos de estudio, en cuanto a la variabilidad de la latencia, incluyen una mayor inconsistencia en los pacientes con EHM en los movimientos oculares principales del test de sácadas visuales horizontales y en los movimientos oculares reflexivos del test de antisácadas verticales; y en ambos grupos de pacientes en los movimientos oculares de retorno en el test de sácadas visuales verticales y en los movimientos oculares principales en el test de sácadas de memoria verticales. La predominancia de alteraciones de la consistencia significativas en los test verticales sería indicativa, nuevamente, de un posible deterioro del riMLF (Sunil *et al.*, 2012; Qi *et al.*, 2013c), y de una mayor dificultad para cambiar el foco de atención en el plano vertical.

1.2.2. Alteraciones de la velocidad máxima de las sácadas

Una de las principales características de los movimientos sacádicos es que siempre se realizan a la máxima velocidad posible. Esta velocidad máxima, sin embargo, aumenta según lo hace la distancia entre el foco de atención actual y la posición hasta la que se desea dirigir el mismo.

Durante el estudio de la velocidad máxima de las sácadas se observó que, por lo general, los pacientes con EHM llegaban a una velocidad máxima ligeramente inferior al resto de sujetos. De forma similar, los pacientes sin EHM normalmente también alcanzaban una velocidad máxima ligeramente menor que la de los controles. Esta disminución de la velocidad máxima apuntaría a una disminución de la capacidad para enviar pulsos nerviosos de forma consistente para reclutar a los músculos encargados de los movimientos oculares, que se puede asociar con un deterioro de los colículos superiores (Hikoasaka y Wurtz, 1985). Las diferencias observadas, no obstante, no fueron estadísticamente significativas en prácticamente ningún caso, lo cual indicaría que, en general, esta velocidad ligeramente reducida no se diferencia con claridad de la velocidad alcanzada por un sujeto sano, y un posible deterioro de las áreas cerebrales implicadas se encontraría en fases muy iniciales.

La única excepción observada fue la velocidad máxima alcanzada durante los movimientos sacádicos principales del test de sácadas visuales verticales, donde ambos grupos de pacientes mostraron una velocidad máxima significativamente menor que la de los controles. Esta alteración, limitada a los movimientos sacádicos verticales, podría indicar un deterioro del riMLF, similar al detectado durante el estudio de la velocidad de reacción (Sunil *et al.*, 2012; Qi *et al.*, 2013c). Que esta alteración se observe en ambos grupos de pacientes indicaría que el deterioro neuronal asociado a la misma ya se da en pacientes con cirrosis que, según la batería PHES, no sufren deterioro cognitivo; pero el hecho de que no se observe una disminución significativa de la velocidad máxima de forma consistente en ningún otro caso apuntaría, nuevamente, a que este posible deterioro se encuentra en fases muy iniciales y es prácticamente indistinguible de un sujeto sano en la mayoría de situaciones.

1.2.3. Alteraciones de la precisión de las sácadas

La precisión de los movimientos oculares mide la distancia que separa la posición de un estímulo visual respecto del punto de fijación de la mirada. En individuos sanos es frecuente observar una cierta desviación de la mirada, particularmente hipometría (la amplitud del movimiento realizado es menor que la distancia hasta el estímulo visual), al dirigir la mirada hacia un estímulo que ha aparecido de forma impredecible en el campo visual. Esta desviación, no obstante, no suele sobrepasar el 10% de la amplitud de la sácada realizada (Troost *et al.*, 1974). Por otro lado, también es frecuente la realización de sácadas hipermétricas (la amplitud del movimiento realizado es mayor que la distancia hasta el estímulo visual) en casos en que hay que dirigir la mirada hacia el centro del campo visual, o cuando la distancia a recorrer es muy corta (Collewyn *et al.*, 1988). En sujetos de avanzada edad se ha observado un aumento de las sácadas hipométricas (Abel *et al.*, 1983); al igual que en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson (Pretegianni y Optican, 2017). Por otro lado, los movimientos hipermétricos son un síntoma usual en personas con el síndrome de Wallenberg (Helmchen *et al.*, 1994b).

Durante este estudio, se observó una alteración significativa de la precisión de la mirada en los pacientes con EHM durante los test de antisácadas. En los test de sácadas visuales y de memoria también se observó una tendencia a un mayor error de la mirada en los pacientes con EHM, pero dichas alteraciones no fueron significativas de forma consistente. De forma similar, cuando se estudió la variabilidad de la precisión de la

mirada, los resultados estadísticamente significativos se limitaron también a los test de antisácadas. Tampoco se observaron diferencias significativas al estudiar la ganancia de la mirada, con la excepción de las sácadas de memoria horizontales, donde los pacientes con EHM mostraban una ligera tendencia a la hipometría, y los controles a la hipermetría.

A partir de estos resultados cabría suponer que, en los pacientes con EHM, no se observa una diferencia significativa al compararlos con otros sujetos sin deterioro cognitivo en la precisión de la mirada, ni en la estabilidad de dicha precisión, siempre y cuando el estímulo visual sobre el cual fijar la mirada sea actualmente visible (test de sácadas visuales) o haya podido ser observado recientemente y se recuerde su posición (test de sácadas de memoria). Sin embargo, cuando hay que fijar la mirada en el punto del campo visual opuesto a la posición de un estímulo visual, los pacientes con EHM se alejan mucho más que otros sujetos de la posición objetivo, además de que su posicionamiento es también más inestable.

De forma más limitada, también se observó un mayor error de posicionamiento y una menor estabilidad de la mirada en los pacientes sin EHM al compararlos con los controles. No obstante, estas diferencias solamente fueron significativas en la desviación típica del error positivo de las antisácadas horizontales. Estos resultados indicarían que, aunque en los pacientes sin EHM ya se observa un sutil deterioro en la precisión de la mirada, por lo general, este no se da de una forma lo suficientemente consistente como para que a estos pacientes se los pueda distinguir de los sujetos sanos.

Resulta destacable que incluso los sujetos sanos mostraron un error mucho mayor y una menor estabilidad en el posicionamiento de la mirada al comparar sus resultados durante el test de antisácadas con los resultados obtenidos en el test de sácadas visuales y de memoria. Según Krappmann *et al.* (1998), este mayor error es el resultado, en parte, de un proceso de transformación somatosensorial de coordenadas visuales. En esta transformación intervienen, especialmente, el surco intraparietal lateral y el área cerebral 7a, localizada en el *precuneus* (Gnadt *et al.*, 1991). La mayor imprecisión de la mirada observada en los pacientes con EHM durante los test de antisácadas apuntaría a un deterioro de estas áreas cerebrales en los pacientes con EHM, que coincidiría con las observaciones realizadas en casos previos (Chen *et al.*, 2012b; Montoliu *et al.*, 2012; Qi *et al.*, 2012). En los pacientes sin EHM, aunque ya se atisbe un cierto deterioro de dicha función, no se observa una diferencia significativa en comparación con un sujeto sano.

Aunque no esté directamente relacionado con el deterioro cognitivo de los sujetos, es llamativo que en todos los test se observen niveles similares de hipometría e

hipermetría, con la excepción del test de antisácadas vertical. En este test, y especialmente en los pacientes con EHM, se observa una clara tendencia a la hipometría.

1.2.4. Alteraciones de la ejecución de las pruebas

Debido a su funcionamiento, tanto en los test de sácadas de memoria como en los test de antisácadas existe la posibilidad de que el sujeto dirija su mirada hacia el lugar equivocado del campo visual. En el caso de las sácadas de memoria estos errores se deben a que el sujeto no recuerda cual era la posición del estímulo visual antes de que este desapareciese; mientras que en el caso de las antisácadas estos errores se deben a una incapacidad del sujeto para evitar la realización de una sácada reflexiva dirigida hacia el estímulo visual presentado.

Errores en los test de sácadas de memoria

En los test de sácadas de memoria, tanto horizontales como verticales, los pacientes con EHM realizaron una cantidad significativamente menor de movimientos sacádicos en la dirección correcta en comparación, tanto con los controles, como con los pacientes sin EHM. Aunque los pacientes sin EHM también cometieron más errores que los controles, la diferencia entre estos dos grupos solamente fue significativa en la versión vertical del test.

Estos resultados indicarían que, efectivamente, los pacientes con EHM muestran un deterioro en su capacidad para recordar la posición de un estímulo visual. Este deterioro estaría también presente, en menor medida, en los pacientes clasificados como sin EHM.

Estos resultados apuntarían a un deterioro de la memoria de trabajo. Sin embargo, debido al papel que juegan la atención y la percepción visual en esta prueba, nos hallamos ante una tesitura similar a la planteada por Weissenborn *et al.* (2003), ya comentada en el apartado de memoria de trabajo de la sección 1.1 de esta discusión. A esta situación habría que añadir la falta de alteraciones consistentes en la precisión de las sácadas de memoria, comentada en la sección 1.2.3 de esta discusión. Esto indicaría que, aunque los pacientes con EHM se equivocan con mayor frecuencia en cuanto a la dirección hacia la que deben mirar durante el test de sácadas de memoria, en las ocasiones en que realizan la prueba correctamente recuerdan la posición del estímulo visual con una precisión similar a la de un sujeto sano.

Independientemente de cual sea la función cognitiva cuyo deterioro es el responsable último de las alteraciones observadas, se podría afirmar que dicho deterioro ya se encuentra presente en algunos pacientes clasificados como sin EHM. En ambos grupos de pacientes, al menos 1 sujeto no realizó bien ningún movimiento sacádico en alguna de las dos versiones del test. Esta carencia total de aciertos indicaría que, de forma sistemática, el paciente dirigió la mirada hacia el lado erróneo o no llegó a realizar ninguna sácada en el momento en que debía; y la presencia de sujetos de estas características en el grupo de pacientes sin EHM indicaría la existencia de un deterioro cognitivo no registrado por la batería PHES.

Errores en los test de antisácadas

En los test de antisácadas, tanto horizontales como verticales, los pacientes con EHM realizaron una cantidad significativamente menor de antisácadas en la dirección correcta al compararlos con los controles. En el caso de la versión horizontal del test los pacientes con EHM también realizaron una cantidad significativamente menor de antisácadas correctas en comparación con los pacientes sin EHM, pero en la versión vertical los resultados obtenidos por ambos grupos de pacientes fueron similares.

Es importante resaltar que, mientras que en los test de sácadas de memoria la mayoría de controles realizaron ambas versiones del test a la perfección o con no más de 1 fallo, en los test de antisácadas se registró una cantidad considerable de movimientos erróneos incluso en este grupo. Esta primera observación ya nos indica que, incluso en un sujeto sano, la inhibición de las sácadas reflexivas es una tarea muy complicada. En la versión vertical del test de antisácadas, de hecho, todos los controles realizaron, como mínimo, un movimiento erróneo.

En el caso de los pacientes con EHM, sin embargo, la capacidad para inhibir estas sácadas reflexivas es prácticamente nula, pues la mayoría de los pacientes de este grupo no realizaron más de una antisácada correcta entre las dos versiones del test. Este deterioro en la capacidad para realizar antisácadas correctamente se ha observado también en otras enfermedades neurodegenerativas, como las enfermedades de Alzheimer y Parkinson (Molitor *et al.*, 2015; Querfelli-Ethier *et al.*, 2018). Por otro lado, aunque los pacientes sin EHM, en general, realizaron una mayor cantidad de errores que los controles, en ningún caso obtuvieron resultados significativamente distintos de los de estos últimos.

Los resultados obtenidos en este sentido coincidirían con los que se observaron durante la realización de los test psicométricos, e indicarían que la función inhibitoria se ve deteriorada en los pacientes con EHM. Este deterioro, sin embargo, no se observa con

claridad en pacientes sin EHM, por lo que se reforzaría la idea de que la función inhibitoria empieza a verse alterada más tarde, y de forma más sutil, que otras funciones, como la atención.

Otros movimientos oculares en los test de antisácadas

En el test de antisácadas, además, se midió la frecuencia con la que los sujetos realizaban otros tipos de movimientos sacádicos, además de las antisácadas en sí. Entre estos tipos de sácadas se incluyeron aquellas que se realizaron erróneamente, las que fueron corregidas tras la equivocación, las que se realizaron anticipadamente, y las sácadas reflexivas de segundo orden.

En cuanto a las sácadas erróneas, y como evidenciaban los resultados del número de antisácadas realizadas correctamente que ya han sido comentados, se observó un mayor número de las mismas en los pacientes con EHM al compararlos con los controles y con los pacientes sin EHM. Además de cometer un mayor número de errores, los pacientes con EHM llevaron a cabo un menor número de correcciones que los otros grupos de estudio. Estas diferencias, no obstante, solamente fueron significativas en la versión vertical del test, y eran resultados muy variables. Aun así, esto indicaría que los pacientes con EHM no solamente muestran un deterioro de su capacidad para inhibir las sácadas reflexivas, sino que una vez realizadas tienen una mayor tendencia a no percatarse de su equivocación y, por tanto, a no corregirla.

El mayor número de sácadas incorrectas, y el menor número de sácadas corregidas, en los pacientes con EHM, estaría relacionado también con la duración de las mismas. En ambas versiones del test de antisácadas se observó que las sácadas reflexivas de los pacientes con EHM duraban significativamente más tiempo que las de los controles y pacientes sin EHM. Estas diferencias indicarían que, de media, cuando los pacientes con EHM se equivocan durante el test de antisácadas, se quedan mirando el estímulo visual durante más tiempo. También se observó un aumento de la duración de las sácadas reflexivas en los pacientes sin EHM al compararlos con los controles, aunque este se dio en menor medida y solamente fue significativo en la versión horizontal del test. Este aumento de la duración de las sácadas reflexivas podría estar relacionado con el deterioro de la atención que ya ha sido comentado previamente, y que causaría que los pacientes con EHM tarden más tiempo en darse cuenta del error cometido.

Durante el estudio de las sácadas realizadas de forma anticipada, aunque estas fueron generalmente escasas, también se observaron con mayor frecuencia en los pacientes con EHM. Este aumento de su número, no obstante, solamente fue significativo en la versión vertical del test. En cualquier caso, el mayor número de sácadas de este tipo

apoyaría la idea de un deterioro de la función inhibitoria, pues los pacientes con EHM muestran más dificultades para mantener la mirada fija y esperar a que el estímulo visual se mueva antes de realizar una sácada. La presencia de este tipo de sácaras fue medida también en los test de sácaras visuales y de memoria, pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de esos casos.

Por último, las sácaras reflexivas de segundo orden fueron las menos abundantes. Estos movimientos oculares implican la realización de una sácada reflexiva de forma posterior a la realización de una antisácada correcta. En este caso, la gran mayoría de controles y pacientes sin EHM no llevaron a cabo ningún movimiento ocular de este tipo. Incluso en los pacientes con EHM estos fueron muy escasos. No obstante, en la versión horizontal del test la cantidad de pacientes con EHM que realizaron un movimiento ocular de este tipo fue lo suficientemente notable como para que se observase una diferencia estadísticamente significativa al comparar a este grupo con los otros dos. Igualmente, sería apropiado considerar la presencia de este tipo de errores como testimoniales, incluso en los pacientes con EHM.

1.2.5. Alteraciones durante el seguimiento

Al contrario que en los test de movimientos sacádicos, en los que se llevan a cabo mediciones de la ejecución de los sujetos en los momentos puntuales en los que el estímulo visual cambia de posición, en los test de seguimiento estas mediciones se llevan a cabo de forma constante. Debido a estas características, existen notables diferencias en las variables en comparación con los test sacádicos, aunque muchas de estas variables, en última instancia, miden parámetros de los movimientos oculares similares a las ya comentadas.

Latencia en la iniciación del seguimiento

En los test de seguimiento, al contrario que en los test de movimientos sacádicos, la latencia se mide una única vez en cada test, al inicio del mismo. Este parámetro mide el tiempo que tarda el sujeto en responder al movimiento del estímulo visual, e igual que en los test de movimientos sacádicos, estaría relacionado con la velocidad de procesamiento y la atención del sujeto.

La latencia no se vio alterada de forma significativa en la versión horizontal ni vertical del test de seguimiento. En la versión sinusoidal del test, no obstante, los pacientes con

EHM sí mostraron un aumento significativo de la latencia, aunque no fue tan notable como en los test de movimientos sacádicos.

Lo más probable es que estos resultados se debieran a la menor dificultad que suponen estas pruebas para la velocidad de reacción de los sujetos. Cuando el movimiento del estímulo empieza en el centro del campo visual, donde el sujeto ya tiene fija la mirada, y se da a una velocidad lenta y constante, los pacientes con EHM muestran una velocidad de reacción similar a la de un sujeto sin deterioro cognitivo. En la versión sinusoidal del test, sin embargo, el deterioro de la velocidad de procesamiento de los pacientes con EHM se hizo patente, aunque de forma sutil. Esta diferencia se debería a que, en esta versión del test de seguimiento, el movimiento del estímulo visual empieza siendo más rápido; volviendo a esta prueba más exigente para la velocidad de reacción de los sujetos.

Precisión de la mirada durante el seguimiento

Debido a que la posición de la mirada durante los test de seguimiento se mide de forma continua, para comparar la posición de la mirada con la del estímulo visual se usó la medida del Error Cuadrático Medio (ECM), que es más alto cuanto más impreciso es el seguimiento.

Los pacientes con EHM mostraron un ECM significativamente más alto que los controles y pacientes sin EHM en las tres versiones del test de seguimiento. Estos resultados indicarían que, independientemente de la versión del test de seguimiento realizada, los pacientes con EHM solían estar más alejados de la posición del estímulo visual. El aumento del error de posicionamiento estaría relacionado con la ganancia y el tiempo de seguimiento, que también disminuyeron de forma significativa en los pacientes con EHM en todas las versiones del test, con la excepción del tiempo de seguimiento en la versión sinusoidal del test.

El deterioro de estos parámetros sería indicativo de una mayor dificultad por parte de los pacientes con EHM para mantener la mirada sobre el estímulo visual de forma continuada a lo largo de todo el test. Esta capacidad disminuida para seguir al estímulo visual se vería, a su vez, reflejada en una menor ganancia y un mayor distanciamiento de la mirada respecto de la posición del estímulo visual, aumentando así el valor del ECM. Estos resultados coinciden con algunas observaciones realizadas en pacientes con la enfermedad de Parkinson o con ELA, que tenían dificultades para realizar correctamente movimientos de seguimiento (Donaghy *et al.*, 2011; Pinkhardt *et al.*, 2012).

En su conjunto, las alteraciones observadas apuntarían a un deterioro de la capacidad de los pacientes con EHM para mantener la atención de forma sostenida sobre un estímulo visual móvil. Este deterioro estaría en consonancia con las alteraciones observadas en la realización del test psicométrico d2, que también mide la capacidad del sujeto para mantener la atención de forma sostenida durante un tiempo.

Al contrario que en el test d2, en el que se observaron alteraciones significativas en ambos grupos de pacientes al compararlos con los sujetos control, en los test de seguimiento el deterioro de estos parámetros se observó únicamente en los pacientes con EHM. Esta diferencia indicaría que el test d2 es capaz de detectar de forma más precoz el deterioro de la atención sostenida en comparación con los test de seguimiento ocular, que únicamente detectan este deterioro en pacientes ya diagnosticados como EHM por la batería PHES.

Sácadas correctoras durante el seguimiento

El deterioro de la atención sostenida también se vio reflejado en un aumento del número de movimientos sacádicos correctores que realizaron los pacientes con EHM, aunque este incremento no fue significativo en todos los casos. Los movimientos correctores medidos incluían las sácadas *catch-up*, realizadas para corregir un retraso de la mirada y de mayor abundancia; las sácadas *back-up*, realizadas para corregir un adelanto de la mirada y menos abundantes; y los *Square Wave Jerks* (SWJ), que incluyen dos movimientos sacádicos realizados de forma muy seguida en direcciones opuestas para ajustar correctamente la posición de la mirada.

La realización de sácadas *back-up* fue, en las tres versiones del test, testimonial, pero en todos los casos los pacientes con EHM realizaron estas con mayor frecuencia. Este aumento, no obstante, solamente fue significativo en la versión horizontal del test.

En el caso de los SWJ, realizados con mayor frecuencia, pero igualmente de forma escasa, se observó un aumento significativo en los pacientes con EHM en las versiones horizontal y vertical del test. En la versión vertical los pacientes sin EHM también realizaron significativamente más SWJ que los controles.

Por último, las sácadas *catch-up* fueron las más abundantes y variables en todas las versiones del test. En todos los casos se observó, también, un mayor número de las mismas en los pacientes con EHM. Este aumento, no obstante, fue significativo únicamente en la versión vertical del test.

En general, puede hablarse de una mayor necesidad para corregir la posición de la mirada en los pacientes con EHM; lo cual coincidiría con las observaciones realizadas por

Montagnese *et al.* (2005). A pesar de este aumento en el número de correcciones, en todos los grupos de estudio, incluidos los pacientes con EHM, los valores fueron muy variables, y el aumento observado fue más bien sutil e inconsistente.

En su conjunto, durante los test de seguimiento se observó un deterioro de la atención sostenida en los pacientes con EHM. Estos test, sin embargo, no detectaron dicho deterioro en pacientes sin EHM. La atención sostenida está relacionada, especialmente, con la actividad de áreas de los lóbulos frontal y parietal del hemisferio derecho (Sarter *et al.*, 2001), y su deterioro coincidiría con otras alteraciones de los movimientos oculares ya observadas durante el estudio de los movimientos sacádicos.

1.2.6. Alteraciones durante la fijación

Por último, los sujetos realizaron el test de fijación, en el que se les pidió mantener la mirada fija en el centro del campo visual. Debido a la falta de movimientos voluntarios durante este test, los parámetros medidos se centraron en las características y abundancia de los movimientos oculares espontáneos, y en la precisión de la fijación.

Movimientos oculares durante la fijación

Los movimientos oculares medidos durante el test de fijación incluyeron sácadas voluntarias, microsácadas, *drifts*, SWJ monofásicos y bifásicos, y distracciones. Todos estos tipos de movimiento se dieron con mayor frecuencia en el grupo de pacientes con EHM, y dicho incremento fue estadísticamente significativo al compararlo con los controles y los pacientes sin EHM. Los únicos casos en que el aumento no fue significativo fueron las microsácadas y los SWJ monofásicos.

Por un lado, el aumento del número de sácadas voluntarias y distracciones serían indicativos de una mayor facilidad por parte de los pacientes con EHM para distraerse de la tarea de fijación y, por tanto, de un deterioro de su atención sostenida. Estos resultados coincidirían con las observaciones realizadas en los test de seguimiento, en los que también se observó un deterioro de la atención sostenida en los pacientes con EHM.

Por otro lado, tanto las microsácadas, como los *drifts* y SWJ medidos en este test son movimientos oculares espontáneos. En individuos sanos este tipo de movimientos puede servir para reposicionar rápidamente el punto de fijación de la mirada, pero un

aumento de su frecuencia puede ser indicativo de un fallo en la actividad de la *Substantia Nigra pars reticulata* (SNpr), que en condiciones normales se encarga de inhibir la actividad del colículo superior (Matsumura *et al.*, 1992).

En el caso de las microsácadadas, y las características de las mismas, los pacientes con EHM mostraron un aumento significativo tanto de su amplitud como de su velocidad en comparación, tanto con los controles, como con los pacientes sin EHM. Los pacientes sin EHM también mostraron un incremento más ligero de estas variables en comparación con los controles, pero que solamente fue significativo en el caso de la amplitud. Este patrón se observó también al estudiar las características de los *drifts* y SWJ, aunque el único incremento estadísticamente significativo fue el de la amplitud de los *drifts*.

El incremento de la amplitud de este tipo de movimientos se ha observado también en otras enfermedades neurodegenerativas y neuropsiquiátricas, tales como la parálisis supranuclear progresiva (PSP), la esquizofrenia y la enfermedad de Parkinson (Beylergil *et al.*, 2022; Becker *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2024). Tanto en la PSP como en la enfermedad de Parkinson se han podido relacionar las alteraciones de las microsácadadas con un deterioro de la función de la zona rostral del colículo superior, y de la actividad inhibitoria que la SNpr ejerce sobre el colículo superior en su conjunto. Estas alteraciones podrían tener relación con el sutil deterioro del área rostral del colículo superior comentado en el apartado 1.2.1 de esta discusión, y con el aumento de la latencia de los movimientos sacádicos ante el reposicionamiento de un estímulo visual existente, pero no ante la aparición de uno nuevo.

En el caso de la velocidad de las microsácadadas, aunque esta no se ha estudiado con tanta profundidad, en el estudio de Liu *et al.* (2024), realizado en pacientes con esquizofrenia, se observó un incremento similar en algunos movimientos espontáneos durante la fijación, relacionado con el deterioro de la corteza prefrontal. Las alteraciones de la corteza prefrontal también han sido observadas en los pacientes con EHM (Chen *et al.*, 2017), aunque en ningún caso se ha establecido una relación con estos movimientos oculares.

Con la excepción de la amplitud media de las microsácadadas, ningún otro parámetro del test de fijación relacionado con las características de los movimientos sacádicos espontáneos mostró alteraciones significativas en los pacientes sin EHM. Estos resultados indicarían que las áreas cerebrales implicadas en el control de los movimientos sacádicos espontáneos durante la fijación, por lo general, empiezan a sufrir un deterioro claro en una etapa más tardía, cuando la EHM ya puede ser detectada de forma clara por la batería PHES.

Precisión de la fijación

La principal forma de medir la precisión de la fijación ocular de un sujeto es mediante el tamaño del área ocupada por los puntos en los que ha fijado su mirada a lo largo del test de fijación. Esta área se mide mediante la *Bivariate Contour Ellipse Area* (BCEA), y si es de mayor tamaño implica una mayor dispersión de los puntos de fijación. Además de la BCEA, también es posible conocer la distancia media, y la variabilidad de la misma, de la mirada respecto del estímulo visual presentado, tanto en el plano horizontal como en el vertical.

En los pacientes con EHM se observó un incremento significativo de la BCEA al compararlos, tanto con los controles, como con los pacientes sin EHM. Este incremento se observó también en el error de posicionamiento vertical de la mirada, y en la desviación típica del error de posicionamiento en ambas dimensiones.

Estos resultados indicarían que, en los pacientes con EHM, el posicionamiento de la mirada es significativamente más inestable que en los controles y pacientes sin EHM. Esta mayor inestabilidad, no obstante, solamente repercute en un mayor distanciamiento vertical respecto del estímulo visual. En el plano horizontal el distanciamiento respecto del estímulo visual no fue significativamente mayor en los pacientes con EHM, aunque paradójicamente si lo fue en los pacientes sin EHM.

Tendría sentido considerar que la mayor inestabilidad de la mirada, y su distanciamiento vertical, observada en los pacientes con EHM durante la fijación son resultado, en parte, de la mayor frecuencia y amplitud de los movimientos sacádicos espontáneos y distracciones durante el test. El conjunto de todas estas alteraciones quedaría entonces representado en el claro aumento de la BCEA que se observó en los pacientes con EHM.

En su conjunto, las alteraciones observadas en la precisión de la mirada durante la fijación podrían atribuirse al deterioro de la capacidad para inhibir los movimientos oculares espontáneos, y a un deterioro de la capacidad para mantener la atención visual de forma sostenida. Estas alteraciones, por lo general, empezarían a manifestarse de forma clara en pacientes cuyo deterioro cognitivo ya es evidente por otras vías.

1.3. Correlaciones de los movimientos oculares

Para conocer la relación entre la ejecución de los movimientos oculares y las demás alteraciones observadas en los sujetos de este estudio se llevaron a cabo análisis de correlación bivariada de estos, tanto con los resultados de los test psicométricos como con las mediciones de los niveles de amonio y parámetros inflamatorios en sangre.

Mientras que en las correlaciones realizadas entre los test de movimientos oculares y las mediciones de parámetros inflamatorios y amonio no se halló ningún resultado estadísticamente significativo, al llevar a cabo estos análisis entre los test de movimientos oculares y los test psicométricos se obtuvieron 946 correlaciones estadísticamente significativas. De entre estas, 38 mostraron un valor absoluto de r mayor a 0,5.

1.3.1. Correlación con los test psicométricos

Durante el análisis de las alteraciones de los movimientos oculares se evidenció la relación de estas con el deterioro de áreas cerebrales implicadas, especialmente, en la velocidad de procesamiento, la atención sostenida y la función inhibitoria. A partir de los parámetros obtenidos en los test psicométricos que evalúan estas funciones y otras funciones cognitivas, y su deterioro, se llevaron a cabo los análisis de correlación cuyos resultados se comentan a continuación.

Test de sácadas visuales

En estos test destacó la gran cantidad de correlaciones significativas entre la mayoría de medidas de la latencia de los sujetos y la ejecución de los test psicométricos centrados en la atención y la velocidad de procesamiento, como el test SDMT Oral y algunos subtest de la batería PHES. De hecho, las correlaciones con los valores de r más altos incluyeron a los subtest NCT-A y NCT-B, de la batería PHES. Estas correlaciones muestran una relación clara entre una mayor velocidad de reacción ocular y una mejor ejecución de pruebas que requieren de una velocidad de procesamiento óptima.

Las correlaciones con los parámetros del test d2 y de los test de coordinación también tuvieron una presencia destacable. En el caso del test d2, que mide principalmente la atención sostenida en el tiempo, las correlaciones observadas, aunque significativas, no fueron particularmente altas. Estas observaciones indicarían que, aunque una velocidad

de procesamiento y reacción es importante en todos estos test, los patrones observados se parecen menos al medir su desempeño de forma sostenida en lugar de hacerlo en momentos puntuales o periodos de tiempo más cortos. Por otro lado, las altas correlaciones con los test de coordinación indicarían la existencia de una relación entre la velocidad de reacción ocular y la coordinación manual y visomotora. La relativa similitud en los patrones observados en la alteración de estas dos funciones apuntaría al deterioro de la capacidad del cerebro para convertir la información visual en ordenes motoras.

Test de sácadas de memoria

En estos test, por un lado, las correlaciones entre la latencia de los movimientos sacádicos y los test de atención y coordinación volvieron a aparecer de manera remarcable; de forma similar a las observaciones realizadas durante los test de sácadas visuales. Sin embargo, en los test de sácadas de memoria los resultados más llamativos fueron los obtenidos al correlacionar el número de sácadas realizadas correctamente con los test psicométricos. Las variables de recuento correlacionaron de forma significativa con todos los test psicométricos realizados, indistintamente de la función cognitiva que estos midiesen. Las correlaciones con el valor de r más alto de ambas versiones del test fueron entre el test de coordinación visomotora y el recuento de sácadas realizadas correctamente.

La sobrerrepresentación de estas variables en el conjunto de correlaciones significativas halladas podría deberse a que, en lugar de medir la velocidad de reacción o precisión de la mirada de los sujetos, estas variables miden, directamente, la capacidad de los sujetos para llevar a cabo una tarea correctamente. En la ejecución de los test de sácadas de memoria intervienen la percepción visual, la atención y la memoria de trabajo. Así, un cambio en la ejecución directa de esta prueba podría relacionarse con la ejecución de otras pruebas cognitivas de una forma bastante general.

En estos casos destaca, nuevamente, que las correlaciones más altas implicasen a test relacionados con la velocidad de procesamiento y la coordinación manual. Este patrón es similar al observado con las correlaciones del test de sácadas visuales. Podría interpretarse que la capacidad para registrar cambios en la posición de un estímulo visual, para luego repetir los movimientos oculares realizados, también se ve afectada por el deterioro de la atención y la velocidad de procesamiento; que ya se ha podido observar que está relacionada con el deterioro de otras funciones.

Aunque se observaron correlaciones significativas entre los subtest de la batería WAIS, que miden la memoria de trabajo, y algunos parámetros de los test de sácadas de

memoria, estas correlaciones no fueron particularmente altas ni ocuparon una posición prominente dentro del conjunto de correlaciones significativas. Esto confirmaría la relación de la ejecución de los test de sácadas de memoria con más funciones cognitivas además de la memoria de trabajo.

Test de antisácadas

En los test de antisácadas, especialmente en la versión horizontal, se observó la mayor cantidad de correlaciones estadísticamente significativas. En ambos casos, prácticamente todos los test psicométricos, indistintamente de la función cognitiva medida, mostraron correlaciones significativas con la latencia de las antisácadas, el conjunto de mediciones de las sácadas reflexivas, las medidas de precisión de la mirada, y el recuento de movimientos oculares correctos. En ambos casos, los valores de r más altos se observaron en la correlación entre la latencia media de las sácadas reflexivas y los resultados del test SDMT Oral. De hecho, la correlación más alta hallada entre cualquier par de variables en el conjunto completo de test de movimientos oculares fue entre la latencia media de las sácadas reflexivas del test de antisácadas horizontal y los resultados del test SDMT Oral ($r = -0,613$).

En muchos casos se observó, al igual que en los test analizados previamente, una predominancia de correlaciones particularmente altas entre las medidas de latencia y los test psicométricos que medían la velocidad de procesamiento o la coordinación manual. Este patrón también se observó en el caso del recuento de antisácadas realizadas correctamente.

Una vez más, la velocidad de reacción ante un cambio en el campo visual, tanto reflexiva como voluntaria, y la capacidad para realizar correctamente una tarea, mostraron una considerable similitud con estos test psicométricos. Dicha similitud podría apuntar al deterioro de áreas cerebrales implicadas en las funciones cognitivas comunes a todos estos casos.

En el caso de las medidas de precisión de la mirada, aunque se hallaron gran cantidad de correlaciones estadísticamente significativas, estas no fueron tan altas como en otros casos. Esto apuntaría a una relación existente, pero más indirecta, entre las funciones implicadas en el cálculo del posicionamiento correcto de una antisácada y la correcta realización de los test psicométricos considerados.

A nivel general, la gran cantidad de correlaciones, no solo significativas, sino con un valor de r particularmente alto, entre el test de antisácadas horizontales y los distintos test psicométricos realizados indicarían que, en cierto modo, la ejecución de este test

muestra un patrón de evolución particularmente similar al de otras pruebas psicométricas. Esta similitud entre ambas facetas del estudio de las capacidades cognitivas de un sujeto no se observó en ningún otro test de movimientos oculares, y podría poner en especial valor el papel de los test de antisácadas como herramienta complementaria a los test psicométricos de lápiz y papel.

Aunque se observaron correlaciones significativas de múltiples parámetros de los test de antisácadas con la tarea incongruente del test Stroop, que mide la función inhibitoria, estas no fueron particularmente altas ni ocuparon una posición prominente dentro del conjunto de correlaciones halladas. Igual que en el test de sácadas de memoria, estos resultados confirmarían que, aunque la función inhibitoria es crucial para la correcta realización del test de antisácadas, una multitud de otras funciones cognitivas intervienen también en su ejecución.

Test de seguimiento

En los test de seguimiento también se observó una gran cantidad de correlaciones significativas. En la mayoría de casos, sin embargo, no se observaron valores de r máximos tan altos como en los test de movimientos sacádicos ya comentados. A pesar de ello, bastantes correlaciones mostraron valores igualmente destacables.

En las tres versiones del test destacó la correlación de las medidas de ECM de posición y Ganancia media con los resultados de prácticamente todos los test psicométricos; que además incluyeron las correlaciones más altas de estos test. En su conjunto, estos resultados apuntarían a que la medida de distanciamiento entre la mirada del sujeto y el estímulo visual en movimiento, resultado de la incapacidad del sujeto para mantener el ritmo de dicho estímulo a lo largo del tiempo, muestra un patrón de alteración similar al observado durante la ejecución de los test psicométricos de lápiz y papel. En este caso, habría que considerar la relación entre la capacidad para mantener la atención de forma sostenida sobre un estímulo visual en movimiento, y el estado de funciones cognitivas como la velocidad de procesamiento y la coordinación manual.

Teniendo en cuenta la importancia de la atención sostenida en la correcta ejecución de los test de seguimiento, cabría esperar un papel prominente de las correlaciones con los parámetros del test d2, que evalúa la atención sostenida en el tiempo. Las correlaciones con estos parámetros, no obstante, en ningún caso fueron particularmente altas. De forma similar a las observaciones realizadas en las correlaciones de test previos, estos resultados indicarían la intervención de otras funciones cognitivas en la correcta ejecución de estos test.

Test de fijación

En el test de fijación, aunque se observó una cantidad considerable de correlaciones significativas con los test psicométricos, estas en ningún caso llegaron a mostrar valores tan altos como en los otros test de movimientos oculares.

Las variables con la mayor cantidad de correlaciones, y con las correlaciones con valores de r más altos, fueron la BCEA y la variabilidad horizontal del posicionamiento durante la fijación. Estas variables correlacionaron con prácticamente todos los test psicométricos, pero dichas correlaciones no fueron particularmente altas en ningún caso.

Los bajos niveles de r observados en las correlaciones de este test indicarían que la evolución de los parámetros del test de fijación y los test psicométricos no es tan similar como en otros test de movimientos oculares, como los de antisácadas. Dentro de esta limitada similitud, los parámetros relacionados con la precisión de la fijación fueron los que mostraron una correlación más alta y de forma más consistente con la ejecución de los test psicométricos de lápiz y papel. En su conjunto, estos resultados apuntan a una menor relación entre los mecanismos implicados en la fijación ocular y las demás funciones cognitivas afectadas.

En general, se observó una cantidad considerable de correlaciones significativas. Estas correlaciones incluyeron variables de todas las facetas de los test de movimientos oculares, pero las más destacables relacionaron la velocidad de reacción ocular de los sujetos, o su capacidad para llevar a cabo una tarea correctamente, con la velocidad de procesamiento o la coordinación manual. Estas correlaciones máximas alcanzaron valores absolutos de r entre 0,5 y 0,6, que confirmaría una cierta relación entre estas funciones cognitivas, los mecanismos de movimientos oculares asociados, y su deterioro en la EHM. La relación con las funciones cognitivas medidas en otros test psicométricos fue particularmente notable en los test oculares que incluían memoria e inhibición, pero mucho más débil en el test de fijación, apuntando a una diferencia en las funciones cognitivas implicadas en esta última tarea.

1.3.2. Correlación con los parámetros inflamatorios

En contraposición con los resultados obtenidos al correlacionar las variables de los test de movimientos oculares y de los test psicométricos, al analizar la correlación entre los test de movimientos oculares y los parámetros inflamatorios no se observó ningún resultado estadísticamente significativo. Esta falta de correlación entre ambas facetas del estudio sería indicativa de un alto nivel de variabilidad en los parámetros correlacionados, y de la falta de una similitud entre el patrón de alteración que siguen los parámetros inflamatorios, y el que siguen los movimientos oculares, a pesar de que en ambos casos estos se vean alterados en pacientes con EHM. La diferencia en comparación con los resultados obtenidos al correlacionar los test psicométricos y de movimientos oculares apuntaría a que, aunque la ejecución de los movimientos oculares tiene relación con el estado de las distintas funciones cognitivas, y la alteración de estas, a su vez, resulta de la hiperamonemia y la inflamación crónica que sufren los pacientes con cirrosis, en el proceso intervendrían demasiados factores externos e intermediarios fisiológicos como para que sea posible observar una relación clara entre el estado inflamatorio de un sujeto y el funcionamiento de sus movimientos oculares. Cabe destacar, también, que el deterioro de las funciones cognitivas que sufren los pacientes con EHM es el resultado de un proceso crónico prolongado a lo largo de mucho tiempo; lo cual haría previsible que no se observe una correlación evidente entre el deterioro de los movimientos oculares y los niveles de citocinas y amonio en un momento puntual.

1.4. Capacidad diagnóstica de los test de movimientos oculares

El objetivo último de la caracterización de las alteraciones de los movimientos oculares sufridas por los pacientes con EHM fue el estudio de su potencial como herramienta diagnóstica. Para determinar dicha capacidad se analizó el área bajo la curva (AUC) de las curvas ROC y se determinaron los valores de sensibilidad y especificidad de cada variable analizada. Estos análisis se llevaron a cabo, de forma individualizada, sobre todas las variables en las que se observaron diferencias significativas entre los pacientes con EHM y sin EHM.

En la mayoría de casos estas variables mostraron valores de AUC inferiores a 0,7, y se observaron valores, tanto de sensibilidad como de especificidad, tan solo ligeramente superiores al 50%. Excepcionalmente, algunas de estas variables mostraron valores de

sensibilidad o especificidad muy cercanos al 100%, pero a costa de que el parámetro complementario tuviese valores marcadamente inferiores al 50%.

Todos estos casos indicarían que, aunque en el conjunto de la muestra se observasen diferencias significativas entre ambos grupos, individualmente había una clara variabilidad entre los sujetos de un mismo grupo, y una marcada superposición con una parte importante de los sujetos del grupo opuesto. Como consecuencia, podría afirmarse que las alteraciones observadas en la mayoría de variables de movimientos oculares no cumplen los estándares óptimos de calidad diagnóstica.

El alto nivel de superposición entre pacientes con y sin EHM en las variables de movimientos oculares podría ser indicativo de que una parte de los pacientes clasificados como sin EHM según la batería PHES presentan sutiles alteraciones no detectadas por la batería PHES, pero que los test de movimientos oculares sí son capaces de detectar. Esto propiciaría que, al haber varios pacientes con valores similares a los de los pacientes con EHM en el grupo de pacientes sin EHM, la calidad diagnóstica de las variables de movimientos oculares empeorase. Estos resultados coincidirían con las observaciones realizadas por Felipe *et al.* (2012a) y Giménez-Garzó *et al.* (2017), que detectaron ligeras alteraciones cognitivas en algunos pacientes clasificados como sin EHM según la batería PHES.

De entre todas las variables estudiadas, la que alcanzó un valor de AUC más alto fue la latencia media de las sácadas reflexivas durante el test de antisácadas vertical. Con un punto de corte situado en 924 ms, esta variable alcanzó una AUC de 0,792. Según estos resultados, en las ocasiones en las que un sujeto se equivocase durante la realización de este test, si tardaba más de 924 ms en llevar a cabo dicho movimiento equivocado se le clasificaría como EHM. Estos resultados estuvieron acompañados de una sensibilidad del 56,5% y una especificidad del 93,6%, lo cual indicaría que mediante el uso de esta variable sería posible clasificar correctamente a prácticamente todos los pacientes sin EHM; sin embargo, prácticamente la mitad de los pacientes cuyo deterioro cognitivo puede ser confirmado por otras vías serían clasificados como cognitivamente sanos.

Teniendo en cuenta los resultados de la variable con la mejor capacidad diagnóstica de entre todas las consideradas, se confirmaría que, individualmente, las variables de movimientos oculares no cumplirían con unos estándares óptimos de calidad diagnóstica. La falta de detección de las alteraciones cognitivas más sutiles y tempranas, inherente a los estándares usados actualmente para diagnosticar la EHM, podría ser parcialmente responsable de este alto nivel de solapamiento entre pacientes con y sin deterioro.

1.5. Análisis de los patrones de distribución de los sujetos

Uno de los principales problemas que se suele observar en el análisis de muestras que incluyen una gran cantidad de variables es la dificultad para visualizar la distribución de la muestra analizada en su conjunto. Para solventar dicho problema es frecuente el uso de análisis de reducción de dimensionalidad, entre los que destaca el Análisis de componentes principales (PCA).

En un PCA, a partir de un conjunto de variables originales, se generan múltiples variables sintéticas, o componentes principales, que expliquen la mayor variabilidad posible de la muestra analizada. Usualmente, y por conveniencia de cara a la representación gráfica de los resultados, se seleccionan las dos primeras componentes principales, que explican el mayor porcentaje de variabilidad de entre todas las componentes generadas. Esto convierte al PCA en una metodología óptima para explorar y visualizar la forma en que los sujetos de una muestra con muchas variables quedan distribuidos. Para usar este método, no obstante, es necesario que la muestra estudiada no presente ningún valor perdido.

Teniendo en cuenta la gran cantidad de variables obtenidas de los test de movimientos oculares, el uso de PCA es ideal para determinar hasta qué punto las diferencias observadas individualmente en cada variable se observan como diferencias en la distribución de los miembros de cada grupo de estudio. Sin embargo, debido a que una parte de los sujetos de la muestra mostraban al menos un valor perdido en el conjunto de variables de movimientos oculares usadas, fue necesario llevar a cabo un proceso previo de imputación múltiple. Durante el control de calidad de dicho proceso de imputación, y con el objetivo de que la distribución de valores de la muestra no quedase deformada, fue necesario eliminar a parte de los sujetos de estudio durante estos análisis.

Análisis PCA con los subtest de la batería PHES y otros test psicométricos

En primer lugar, se realizaron dos PCA usando los subtest de la batería PHES y el resto de test psicométricos, respectivamente. La distribución de los sujetos en estos PCA luego se usó como referencia con la que comparar los resultados obtenidos en el PCA realizado con las variables de los test de movimientos oculares en las que se había observado alguna diferencia significativa entre grupos de estudio.

En el caso del PCA hecho con los subtest de la batería PHES se observó una separación perfecta entre el grupo de pacientes con EHM y el conjunto de controles y pacientes sin

EHM. Esta separación, no obstante, era esperable, pues la propia batería PHES es el método que se usa para diagnosticar la EHM. Este patrón de distribución, claramente diferenciado, sería el ideal resultante de un análisis PCA realizado con variables capaces de separar eficazmente distintos grupos de sujetos.

La separación ideal observada en el primer caso, sin embargo, no se conservó tan bien en el PCA realizado con las variables del resto de test psicométricos. En este caso, el conjunto completo de sujetos ocupó una misma nube de puntos difusa. En esta nube de puntos, no obstante, se observó que los pacientes con EHM tendían a quedar posicionados en el extremo de la nube de puntos opuesto a los controles. Los pacientes sin EHM presentaron una distribución intermedia, con una mayoría posicionada alrededor de los controles sanos, y una minoría no desdeñable posicionada alrededor de los pacientes con EHM.

La distribución observada en el segundo PCA confirmó una separación clara entre los pacientes con deterioro cognitivo confirmado y los sujetos sanos. Por otro lado, la distribución de los pacientes sin EHM apunta a que, al tener en cuenta el desempeño de otros test psicométricos, una parte de este grupo tiene un comportamiento más similar al de un paciente con EHM que al de un sujeto sano, en cuanto a su estado cognitivo.

La agrupación de parte de los pacientes sin EHM con el conjunto de pacientes con EHM coincidiría con los hallazgos de Felipo *et al.* (2012a) y Giménez-Garzó *et al.* (2017), que afirmaban que parte de las alteraciones cognitivas presentes en algunos pacientes eran demasiado sutiles como para ser detectadas por la batería PHES. Sería lógico considerar, a partir de la distribución de los pacientes sin EHM en este PCA, que la aplicación de otros test psicométricos de forma complementaria a la batería PHES puede ayudar a detectar alteraciones cognitivas que, al recurrir únicamente a la batería PHES, pueden pasar desapercibidas.

Este problema también se observó, en menor medida, con dos pacientes con EHM que quedaron posicionados en el área general ocupada por los controles. El posicionamiento de estos dos pacientes apuntaría a que, aunque fueron clasificados como EHM por la batería PHES, su comportamiento y capacidades cognitivas durante la realización de otros test psicométricos realmente se asemejaba más al de un sujeto sano. Con estos resultados podría suponerse que también existe una muy pequeña posibilidad de que un paciente sea erróneamente clasificado como EHM, lo cual podría evitarse al complementar la realización de la batería PHES con otros test psicométricos en los que se pueda observar en mayor detalle si sus capacidades cognitivas se asemejan más a las de un sujeto sano.

Análisis PCA con los test de movimientos oculares

Finalmente se llevó a cabo un PCA sobre los datos de las variables de movimientos oculares con diferencias significativas entre grupos. En este caso, el conjunto de sujetos volvió a quedar distribuido en una nube de puntos difusa, con los controles a un lado y los pacientes con EHM al otro. En esta ocasión, sin embargo, los pacientes sin EHM quedaron distribuidos de forma más o menos equivalente alrededor, tanto de los controles, como de los pacientes con EHM. Adicionalmente, una cierta cantidad de pacientes con EHM y controles quedaron posicionados en el área ocupada, principalmente, por el otro grupo. A partir de estas observaciones se podría afirmar que, aunque los sujetos sanos y los pacientes con deterioro cognitivo mostrasen una tendencia a quedar posicionados en puntos distintos, en general, existe un alto nivel de solapamiento entre los distintos grupos de estudio en cuanto a su desempeño de los test de movimientos oculares.

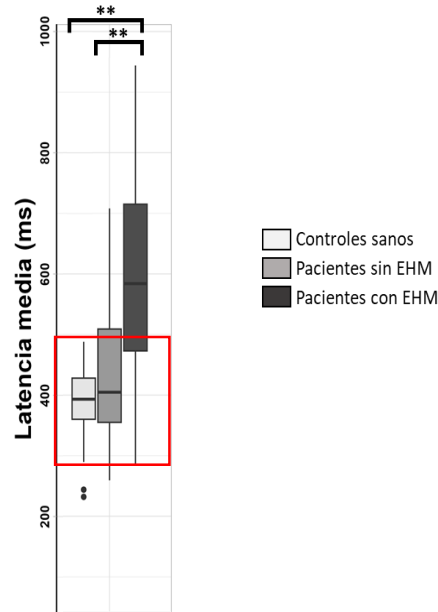
Respecto a los pacientes sin EHM, se observó que la parte de este grupo que en el PCA realizado a partir de los test psicométricos se comportaba de forma similar a los pacientes con EHM, también lo hacía en este caso. En este caso, además, otros pacientes sin EHM también quedaron posicionados en el área dominada por los pacientes con EHM, lo cual apuntaría a que, mediante los test de movimientos oculares, es posible ampliar la cantidad de pacientes con cirrosis cuyo deterioro cognitivo es demasiado sutil como para ser detectado por la batería PHES. De la misma forma, los pacientes con EHM que en este caso quedaron posicionados en el área dominada por los sujetos sanos también coincidieron con las excepciones de este grupo observadas en el PCA realizado con los test psicométricos.

En este análisis, además de la mezcla entre sujetos de distintos grupos ya comentada, también se observaron varios controles que quedaron posicionados en el área dominada por los pacientes con EHM. Estas observaciones sugerirían la existencia de varios sujetos sanos cuyo comportamiento durante la ejecución de los test de movimientos oculares era particularmente similar a la de pacientes diagnosticados con deterioro cognitivo, pero que, en otros test psicométricos, habían mostrado resultados claramente distintos.

En general, la distribución de sujetos observada en este PCA, y su comparación con la distribución en los demás casos, apoyaría la posibilidad de que el análisis de los movimientos oculares es capaz de detectar alteraciones cognitivas de forma temprana, antes que la batería PHES. Sin embargo, si se tiene en cuenta el alto nivel de solapamiento entre todos los grupos, incluyendo también a los sujetos control, sería necesario considerar otras posibles explicaciones.

En cuanto a las razones detrás de la mezcla entre grupos de estudio en este último análisis PCA, en primer lugar, hay que tener en cuenta que, durante el análisis individual de las alteraciones observadas en cada variable de los test de movimientos oculares, ya comentadas previamente, en muchos casos se observó que parte de los sujetos de un grupo de análisis mostraban resultados similares a los de algunos miembros de otro grupo (Figuras 36-41). Esta situación daba lugar a una notable superposición entre los rangos de valores de los distintos grupos de estudio, incluso en las variables en las que se observaban diferencias significativas entre grupos de estudio. Resumidamente, y a modo de ejemplo, aunque durante la realización del test de antisácadas verticales los pacientes con EHM mostrasen una latencia significativamente mayor que los pacientes sin EHM y los controles, los mejores resultados de los pacientes con EHM coincidieron con los peores resultados de los controles y los pacientes sin EHM (Figura 62). Si estas coincidencias se dan en un gran número de variables, nos encontramos ante una situación en la que una parte de los sujetos con deterioro cognitivo diagnosticado según la batería PHES se comportan de forma similar a una parte de los sujetos sanos.

Figura 62. Ejemplo del solapamiento entre los sujetos de distintos grupos de estudio. En el recuadro rojo se observa que, incluso en parámetros que presentan diferencias significativas entre grupos, como es el caso de la latencia media de las antisácadas verticales, una considerable proporción de los sujetos de distintos grupos se encuentra en el mismo rango de valores.



Si se tienen en cuenta los resultados del análisis de las alteraciones de cada parámetro, los valores observados durante el estudio de la calidad diagnóstica de cada variable, y el estudio de la distribución de los sujetos en los análisis PCA; cabría suponer que, aunque el deterioro de los movimientos oculares en los pacientes con EHM sea evidente, la ejecución de estos varía demasiado entre individuos a causa de otros factores no

relacionados con su deterioro cognitivo. Teniendo en cuenta esta situación, no sería prudente usar los movimientos oculares, en su paradigma actual, como referencia a la hora de discriminar entre pacientes con y sin EHM. Estas observaciones coincidirían con los hallazgos de otros estudios previos, en los que el efecto del envejecimiento podía confundirse con otros tipos de deterioro durante el análisis de los movimientos oculares (Crawford *et al.*, 2017; Ouerfelli-Ethier *et al.*, 2018).

Análisis PLS-DA con los test de movimientos oculares

Teniendo en cuenta el alto nivel de solapamiento observado entre los tres grupos de estudio en el análisis PCA, se decidió recurrir a otro método de reducción de la dimensionalidad llamado Análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA). Aunque el funcionamiento de este método y la representación de sus resultados son similares a los del PCA, el PLS-DA no busca maximizar la variabilidad de la muestra en su conjunto, sino la separación entre dos o más grupos de sujetos. Así, mediante el uso de esta técnica, se intentó hallar la combinación de variables de movimientos oculares que, en su conjunto, tenían una mayor influencia a la hora de separar a los pacientes con EHM de los pacientes sin EHM. En este caso se usaron solamente las variables en las que se observaron diferencias significativas entre los pacientes con y sin EHM, sin tener en cuenta a los sujetos control.

Como resultado de aplicar este método se obtuvo una distribución en la que la mayoría de pacientes sin EHM aparecían claramente separados de los pacientes con EHM. Sin embargo, incluso en este caso, una parte de los pacientes sin EHM quedaron posicionados claramente en el espacio dominado por los pacientes con EHM. Estos pacientes coincidían, en su mayoría, con los pacientes sin EHM que, en los PCA comentados previamente, habían presentado un comportamiento y un posicionamiento particularmente similar al de los pacientes con EHM.

A partir de estos resultados se puede suponer que, incluso al usar una metodología que intenta maximizar la separación entre los pacientes con y sin EHM, una parte de los pacientes sin EHM presenta, de forma consistente, un comportamiento y estado cognitivo mucho más similares a los de los pacientes con EHM, que a los del resto de pacientes sin EHM. Este hecho apoyaría la idea previamente sugerida de que parte de los pacientes que la batería PHES considera como sin EHM presentan alteraciones cognitivas tempranas y muy sutiles, no detectadas por la batería PHES.

Adicionalmente, con esta metodología también fue posible determinar qué conjunto de variables influía en mayor medida en la separación de los pacientes con y sin EHM. Entre las variables con un mayor peso dentro de esta separación destacaron los parámetros

de latencia de los test de sácadas visuales horizontales, el recuento de sácadas realizadas correctamente durante los test de sácadas de memoria, y el recuento de distracciones durante la fijación. En estas variables ya se observó una diferencia clara entre pacientes con y sin EHM durante el análisis de sus alteraciones. En su conjunto, la mayoría de variables con más peso en el PLS-DA parecen tener relación con el deterioro de la atención y la velocidad de procesamiento, que sería especialmente relevante para la correcta discriminación entre pacientes con y sin EHM.

Sin embargo, durante el PLS-DA también se observaron algunas variables, como el ECM del test de seguimiento vertical, en el que el papel de la variable difería de la tendencia observada durante el análisis de sus alteraciones. Esta discrepancia se debería, probablemente, a la limitación del número de sujetos disponibles para llevar a cabo el PLS-DA, y es un ejemplo de la dificultad para aplicar esta clase de metodologías sobre los datos de movimientos oculares, y como la interpretación de los mismos puede quedar deformada al usar una muestra incompleta. Ante estos resultados se optó por no continuar con los análisis exploratorios de estas características.

En su conjunto, los resultados obtenidos durante el estudio de las alteraciones de los movimientos oculares pueden servir como un primer paso en el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas, capaces de complementar a los test psicométricos usados en la actualidad. De esta forma, podría facilitarse la detección de alteraciones cognitivas que aparecen de forma temprana en los pacientes con cirrosis, y que la batería PHES actualmente no es capaz de detectar. No obstante, en su situación actual, los test de movimientos oculares todavía presentan idiosincrasias que dificultan la estandarización de su uso para el diagnóstico de la EHM. Con una muestra de sujetos más amplia, y con el uso de dispositivos y paradigmas de medición que sean capaces de minimizar la pérdida de valores, en un futuro sería posible considerar el desarrollo de modelos multivariantes con los que alcanzar un nivel de calidad diagnóstica óptimo usando estos test.

2. Estudio de los efectos de la rifaximina sobre la función neuronal de los pacientes con encefalopatía hepática mínima

Uno de los principales tratamientos existentes frente a la EHM es la rifaximina, un antibiótico de amplio espectro no absorbible, que actúa a nivel intestinal. Este tratamiento ha mostrado un nivel de eficacia similar al de otros tratamientos, como la lactulosa (Sidhu *et al.*, 2016), y sus efectos favorecen la recuperación de las funciones cognitivas en la mayoría de los pacientes.

Los mecanismos exactos mediante los cuales actúa la rifaximina todavía están siendo investigados. Múltiples estudios con modelos animales ya han demostrado su capacidad para reducir los niveles de inflamación y neuroinflamación en el organismo (Balzano *et al.*, 2021; Leone *et al.*, 2022). La principal vía de actuación de la rifaximina es a través de la regulación de la microbiota intestinal, lo cual favorece la reparación de la barrera intestinal, disminuye los niveles de amonio generados por la microbiota, y dificulta la translocación de bacterias y endotoxinas que favorezcan una respuesta inflamatoria (Zeng *et al.*, 2015; Kaji *et al.*, 2020). En consecuencia, la influencia de los principales factores que favorecen el desarrollo de la EHM se ve reducido, y ello permite la recuperación de las funciones cognitivas alteradas tras pocas semanas (Bajaj *et al.*, 2011; Sidhu *et al.*, 2011; Sidhu *et al.*, 2016; Patel *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2022).

A pesar de la demostrada eficacia de la rifaximina, aproximadamente 1 de cada 3 pacientes con EHM tratados no muestra una mejora significativa de sus funciones cognitivas tras el tratamiento. Aunque las características que determinan si un paciente con EHM responderá al tratamiento con rifaximina no están claras, se ha observado una mayor presencia de comorbilidades, y una regulación del perfil inflamatorio más limitada, en los pacientes que no muestran una respuesta clara al tratamiento (Mangas-Losada *et al.*, 2019; Ballester *et al.*, 2022).

Una de las facetas menos exploradas en el estudio de los efectos del tratamiento con rifaximina es el efecto que dicho tratamiento tiene directamente sobre la función neuronal de los pacientes, además de las diferencias preexistentes entre los pacientes que responden al tratamiento y los que no.

2.1. Mejora en los resultados de los test cognitivos de los pacientes que responden al tratamiento

Para evaluar los efectos de la rifaximina a nivel cognitivo, y la respuesta de los pacientes al tratamiento, se usó la batería PHES. Se consideró que los pacientes que obtuvieron una puntuación PHES > -4 tras el tratamiento habían respondido positivamente al mismo (*Responder*), al contrario que los pacientes que no llegaron a cumplir este criterio (*Non-responder*). Además de la batería PHES, se llevaron a cabo otros test psicométricos con la idea de medir de forma precisa las distintas funciones cognitivas y motoras de los pacientes, y su evolución tras el tratamiento.

Respecto al estado basal de los pacientes se observó, igual que durante el estudio de los movimientos oculares, que los pacientes con EHM obtuvieron resultados significativamente peores que los sujetos control para todos los test realizados. Tras el tratamiento mejoraron los resultados de todos los test, pero dicha mejora solamente fue significativa en los test que evalúan directamente la atención y la velocidad de procesamiento del sujeto. Incluso en estos casos, los resultados obtenidos tras el tratamiento seguían siendo significativamente peores que los de los controles, indicando que, tras 6 meses de tratamiento, la mejora observada no es capaz de equiparar las funciones cognitivas de los pacientes tratados con las de un sujeto sano, incluso con una respuesta óptima al tratamiento.

Al separar a los pacientes en *Responder* y *Non-responder* se observó que las mejoras observadas se limitaban a los pacientes *Responder*. En los pacientes *Non-responder*, por otro lado, se observó una mejora de los resultados en un conjunto más limitado de test, y que únicamente fue significativa en el test SDMT Oral.

Velocidad de procesamiento y atención

La velocidad de procesamiento y la atención de los sujetos fueron analizadas mediante las pruebas Congruente y Neutra del test Stroop, el test SDMT Oral, y el test d2. Para evaluar esta función cognitiva también se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos en los subtest DST, NCT-A y NCT-B de la batería PHES.

En el caso de los pacientes *Responder* se observó una mejora en todos los test implicados en esta función cognitiva. Esta mejora, no obstante, no fue significativa en la tarea congruente del test Stroop, ni en ninguna de las variables del test d2. Estos resultados apuntarían a que, aunque la capacidad de atención de los pacientes *Responder* sufre una clara mejora, esta no es lo suficientemente notable como para que se observe de forma

significativa al evaluar la atención sostenida a lo largo del tiempo, como ocurre en el test d2.

Por otro lado, en los pacientes *Non-responder*, con la excepción del test SDMT Oral, no se observó ninguna mejora estadísticamente significativa. En el subtest DST y en el test Stroop se observó una tendencia no significativa a mejorar tras el tratamiento. En los subtest NCT-A y NCT-B, y el test d2 en su conjunto, se observó un empeoramiento de los resultados tras el tratamiento. Estos resultados apuntan a una cierta capacidad de la rifaximina para mantener estable la atención de los pacientes *Non-responder*, pero que no llega a afectar a la capacidad para mantener la concentración a lo largo del tiempo, cuyo deterioro sigue progresando.

Flexibilidad cognitiva y función inhibitoria

La flexibilidad cognitiva y la función inhibitoria de los pacientes fueron evaluadas mediante la tarea incongruente del test Stroop.

En este test se observó una mejora de los resultados, tanto en los pacientes *Responder*, como en los *Non-responder*. Esta mejora, de hecho, fue más notable en el grupo de pacientes *Non-responder*, pero no llegó a ser significativa, debido a la variabilidad de los resultados y al reducido tamaño muestral de dicho grupo.

Estos resultados apuntarían a que la función inhibitoria y la flexibilidad cognitiva mejoran ligeramente con independencia de la respuesta del paciente al tratamiento. El hecho de que la función inhibitoria mejore incluso en los pacientes *Non-responder* podría estar relacionada con el hecho de que, aparentemente, es una de las funciones cognitivas que más tardan en empezar a deteriorarse en los pacientes con EHM. Por lo tanto, el limitado efecto de la rifaximina en los pacientes *Non-responder* podría ser suficiente para recuperar ligeramente la función de las áreas cerebrales implicadas en esta función, cuyo deterioro parece ser menor.

Memoria de trabajo

La memoria de trabajo se evaluó mediante los subtest de dígitos directos e inversos, y el subtest de letras y números, de la batería WAIS.

En estos test se observó una ligera mejora de los resultados de los pacientes *Responder*, pero esta no llegó a ser significativa en ningún caso. En los pacientes *Non-responder*, por otro lado, los resultados de estos test empeoraron tras el tratamiento.

Aunque los dos grupos de pacientes mostraron tendencias opuestas tras el tratamiento, la falta de una mejora clara en los pacientes *Responder* indicaría que, incluso en estos,

los efectos de la Rifaximina sobre las funciones cognitivas implicadas en estos subtest son bastante limitadas. Si se tiene en cuenta la idea de que los peores resultados observados en estos test se deben a un deterioro de la velocidad de procesamiento de los pacientes, y no de la memoria de trabajo como tal, estos resultados serían indicativos de una cierta limitación en la mejora de la atención que propicia el tratamiento con Rifaximina.

Coordinación motora

La coordinación motora de los pacientes fue evaluada mediante los test de coordinación bimanual y visomotora de Yela. Para evaluar esta función cognitiva también se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos en los subtest SD y LTT de la batería PHES.

Mientras que en los subtest de la batería PHES los pacientes *Responder* mostraron una mejora significativa de sus resultados tras el tratamiento, en los test de coordinación de Yela esta mejora no llegó a ser significativa. En los pacientes *Non-responder* las mejoras observadas se limitaron al subtest LTT y al test de coordinación Visomotora, que en ningún caso fueron significativas.

Estos resultados serían indicativos de que, aunque se observe una ligera mejora tras el tratamiento con rifaximina, la coordinación motora no sería la principal función afectada en los pacientes *Responder*. De hecho, la ligera mejora observada en los test de coordinación podría deberse al papel que juega el procesamiento visual en la realización de estos test.

Por otro lado, y de forma única en el conjunto de test realizados, se observó una diferencia preexistente entre los pacientes *Responder* y *Non-responder* en los resultados de los test de coordinación de Yela. En ambos casos, los pacientes *Non-responder* tardaron más tiempo que los pacientes *Responder* en completar estas tareas, lo cual indicaría que la coordinación está más deteriorada en los pacientes que no responden al tratamiento.

2.2. Normalización de los niveles de citocinas pro-inflamatorias, pero no de los niveles de amonio en sangre, tras el tratamiento con rifaximina

Uno de los efectos más característicos que tiene el tratamiento con rifaximina es la normalización de los niveles de múltiples citocinas involucradas en distintos procesos inflamatorios.

Respecto al estado basal de los pacientes, todas las citocinas medidas mostraron niveles claramente alterados en los pacientes con EHM antes del tratamiento al compararlas con sujetos control. Estos niveles alterados coincidieron con las alteraciones observadas durante el estudio de los movimientos oculares. En el caso de CXCL13, IL-15 e IL-22, las alteraciones observadas en este estudio llegaron a ser significativas, mientras que en la muestra del estudio de movimientos oculares no llegaron a serlo, posiblemente debido a una mayor variabilidad de la muestra.

En cuanto a los efectos de la rifaximina, en la mayoría de citocinas se observó un cambio significativo de sus niveles tras el tratamiento (IL-6, IL-18, CCL20, IL-22 e IL-15), que en algunos casos llegaron a ser estadísticamente indistinguibles de los niveles de un sujeto sano (IL-22 e IL-15). En los demás parámetros medidos también se observó una tendencia no significativa hacia unos niveles más similares a los de un sujeto control. La única excepción fue el amonio, cuyos niveles no se redujeron tras el tratamiento, pero cuya reducción sí se ha descrito en pacientes con EH clínica (Dhiman *et al.*, 2020).

Sin embargo, al estudiar a los pacientes por separado según su respuesta al tratamiento se observó que estos cambios estaban limitados a los pacientes *Responder*. En los pacientes *Non-responder* se observó un cambio no significativo en favor de niveles más similares a los de un sujeto sano en un conjunto más limitado de parámetros. Esta normalización, más limitada, de algunas citocinas pro-inflamatorias en los pacientes *Non-responder* estaría relacionada con la ligera mejora observada en algunos test psicométricos, y sería indicativa de una ligera influencia también en los pacientes que no responden al tratamiento. Cabe destacar que, antes del tratamiento, no se observaron diferencias significativas entre los pacientes *Responder* y *Non-responder* en ninguno de los parámetros medidos.

En general, los pacientes *Responder* mostraron una normalización más acusada, y en un conjunto más amplio de parámetros inflamatorios, que los pacientes *Non-responder*. En el estudio realizado por Mangas-Losada *et al.* (2019) se observaron patrones de evolución similares a los hallados en la mayoría de parámetros de este estudio, incluyendo las diferencias en la evolución de los pacientes *Responder* y *Non-responder*.

La única excepción en estas similitudes sería la evolución de los niveles de CCL20, que en este estudio evoluciona en sentidos opuestos en pacientes *Responder* y *Non-responder*, mientras que en estudios previos no se observan diferencias entre grupos de respuesta.

La normalización generalizada de los niveles de citocinas en los pacientes *Responder* sería indicativa de un efecto de la rifaximina sobre el perfil de la microbiota intestinal que, a su vez, afecta a un punto bastante temprano de la cascada de señales inflamatorias en el resto del organismo. Un candidato de dicha acción sería la expresión del receptor X del pregnano en las células epiteliales del intestino, que a su vez promueve la expresión de enzimas y citocinas que ayudan a reducir la inflamación (Mencarelli *et al.*, 2010). Asimismo, las diferencias entre pacientes *Responder* y *Non-responder* podrían explicarse también por la variedad de poblaciones linfocitarias cuya actividad pro-inflamatoria se ve disminuida, siendo los linfocitos T foliculares una de las poblaciones que se ve afectada específicamente en los pacientes *Responder* (Mangas-Losada *et al.*, 2019).

2.3. Efectos de la rifaximina en la función neuronal de los pacientes

La resonancia magnética funcional en estado de reposo es una de las herramientas más útiles para el análisis de las distintas señales neuronales presentes en el encéfalo. Además de su poca invasividad, uno de sus principales atractivos es su capacidad para mostrar el comportamiento espontáneo de la función neuronal de los sujetos mientras no están llevando a cabo ninguna función en particular. Gracias a la información proporcionada por esta técnica es posible estudiar las interacciones entre distintas áreas del encéfalo, conocer que áreas actúan de forma coordinada como parte de una misma red neuronal, o incluso determinar cuáles de estas funciones se ven alteradas en sujetos que sufren algún trastorno o son sometidos a una situación específica.

Esta técnica ya ha sido aplicada en el estudio de la EH y la EHM, y ha permitido determinar qué redes neuronales sufren un deterioro de su función en este trastorno. Una de las observaciones más recurrentes, tanto en pacientes con EHM como con EH, es el descenso de la conectividad funcional de varias redes neuronales implicadas en la atención y la función ejecutiva. En estos casos destaca la disminución de la conectividad funcional en la red neuronal por defecto, pero también se ha detectado en las redes frontoparietal y de saliencia (Zhang *et al.*, 2012a; Qi *et al.*, 2014; García-García *et al.*, 2017). No obstante, la diversidad de alteraciones halladas es más amplia, e incluye áreas

de las redes visual y auditiva, la corteza cingulada, el hipocampo o el tálamo (Qi *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2012b; Zhang *et al.*, 2013; García-García *et al.*, 2018). Aunque en la mayoría de casos la EH y EHM causan un descenso de la conectividad funcional, también se han observado casos de hiperconectividad en el tálamo y en algunas áreas de las redes visual y auditiva (Qi *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2021).

Por otro lado, los estudios de los efectos de la rifaximina en pacientes con EHM centrados en la función neuronal de los pacientes tratados son muy escasos. El único estudio de estas características destacable sería el realizado por Ahluwalia *et al.* (2014), donde se observaron cambios en la actividad subcortical y frontoparietal de pacientes con EHM, asociados con una mejora en la ejecución de diversos test psicométricos, tras 2 meses de tratamiento. Por otro lado, también son llamativos los estudios realizados por Wang *et al.* (2018) y Sometti *et al.* (2021), en los que se analizó la respuesta al estrés social en sujetos sanos tratados con rifaximina durante 7 días. En estos estudios, sin embargo, no se utilizó rs-fMRI, sino magnetoencefalografía.

En general, el nicho de estudio de los efectos de la rifaximina sobre la función neuronal de los pacientes con EHM no ha sido apenas explorado. En esta tesis se han analizado los cambios que el tratamiento con rifaximina durante 6 meses propicia en la función neuronal de los pacientes con EHM; incluyendo tanto los efectos generales y diferenciales, como las diferencias preexistentes entre pacientes *Responder* y *Non-responder*. Todos estos análisis, además, se han realizado sobre la función intrínseca de cada red neuronal y la interacción entre distintas redes neuronales, siendo este último enfoque completamente novedoso en el estudio de la EHM.

2.3.1. Aumento de la actividad de la red sensitivo-motora y su independencia funcional de la red de atención dorsal tras el tratamiento con rifaximina

La corteza somatosensorial es el área de la corteza cerebral asociada con la percepción del tacto y la presión en la piel, y se encuentra alrededor del giro poscentral de la corteza cerebral. Justo delante se encuentra la corteza motora, que es la principal encargada de la planificación e iniciación de todos los movimientos voluntarios realizados por el cuerpo.

Debido a la estrecha relación entre estas áreas corticales, por lo general, en los estudios de rs-fMRI su señal aparece agrupada en una única red, usualmente denominada como red sensitivo-motora. En esta tesis, al aislar la señal de las distintas redes neuronales, la

señal asociada a la red sensitivo-motora quedó dividida en dos componentes distintos, uno medial y otro lateral. Esta división, con toda seguridad, se debió a la distribución de las áreas asociadas con cada parte del cuerpo, tanto en la corteza somatosensorial como en la motora. Así, mientras que la red sensitivo-motora lateral (RSML) comprendía las áreas asociadas con la percepción y movimiento de las distintas partes del rostro y la cabeza, la red sensitivo-motora media (RSMM) comprendía las áreas asociadas con la percepción y movimiento del resto del cuerpo.

Durante el estudio de los cambios en la conectividad funcional de cada red neuronal tras el tratamiento se halló un aumento de la actividad de la RSMM en el núcleo caudado izquierdo (clúster RSMM-1), y un descenso de la actividad de la RSML localizado en el tracto corticoespinal derecho (clúster RSML-1). Estos cambios se observaron en el conjunto completo de los pacientes tratados, independientemente de su respuesta al tratamiento.

Al limitar la muestra analizada a los pacientes *Responder* se observó también un descenso de la señal de la RSML en el área 24 prima posterior derecha (p24pr), localizada en el giro cingulado medio, tras el tratamiento (clúster RSML-2); pero los resultados hallados con la muestra completa desaparecieron. Este cambio indicaría que, aunque la falta de respuesta de los pacientes *Non-responder* enmascaró el cambio experimentado por los pacientes *Responder* en el clúster RSML-2, los pacientes *Non-responder* evolucionaron en consonancia con los pacientes *Responder* en los clústeres RSMM-1 y RSML-1, propiciando que dichos cambios fuesen estadísticamente significativos.

En el caso del clúster RSMM-1, si se tiene en cuenta el papel que el núcleo caudado juega en el control y preparación de la función motora, y en la memoria de trabajo espacial (Postle y D'Esposito, 1999; Postle y D'Esposito, 2003), tendría sentido suponer que los efectos de la rifaximina son capaces de mejorar la comunicación entre las cortezas motora y somatosensorial, y el núcleo caudado. Esta mayor comunicación, a su vez, podría repercutir en una mejor planificación y coordinación de la función motora. El aumento de la actividad neuronal en el núcleo caudado tras el tratamiento con rifaximina coincide con las observaciones de estudios como el de Ahluwalia *et al.* (2014), lo cual apuntaría a un efecto consistente del tratamiento sobre esta área subcortical. En cuanto a la relación de este cambio con las funciones cognitivas de los pacientes, no se llegó a observar una correlación significativa entre el clúster RSMM-1 y los resultados de los distintos test de coordinación, lo cual apuntaría a la implicación de otros factores en la evolución de la coordinación de los pacientes tras el tratamiento. No fue así en el caso de la correlación entre el clúster RSMM-1 y distintos parámetros bioquímicos, donde se observó una correlación inversa entre los niveles de actividad neuronal y los niveles de

diversas citocinas pro-inflamatorias. Esta correlación apuntaría a que, según se normaliza el perfil inflamatorio de los pacientes, la actividad funcional de la RSMM en el núcleo caudado aumenta. Paradójicamente, y de forma única entre todos los resultados de este estudio, también se observó una correlación directa entre la actividad funcional de este clúster y los niveles de amonio de los pacientes, lo cual indicaría que la actividad de la RSMM en el núcleo caudado aumenta según lo hacen los niveles de amonio en sangre. Esta aparente contradicción entre la relación de la hiperamonemia y la inflamación en su efecto sobre la actividad neuronal tendría relación con el hecho de que el tratamiento no fue capaz de disminuir los niveles de amonio de los pacientes. Además, en ningún otro caso se observó una correlación significativa con los niveles de amonio.

En los clústeres asociados con la RSML el primer detalle llamativo fue su reducido tamaño. Este hecho hace probable, ya desde un principio, que estos cambios tengan una relevancia clínica muy limitada. Por un lado, el clúster RSML-1 se encontraba en un área de materia blanca, lo cual no tendría necesariamente relación directa con la actividad de otra área cerebral concreta, sino que implicaría un descenso, en general, de la señal de esta red transmitida a través de los axones de dicha región del tracto corticoespinal. Por otro lado, el clúster RSML-2 indicaría una disminución de la comunicación entre la RSML y la parte cognitiva de la corteza cingulada anterior, que incluye funciones relacionadas con el procesamiento y selección de respuestas, y con la planificación motora (Devinsky *et al.*, 1995). Este descenso de la conectividad que experimentaron los pacientes *Responder*, posiblemente relacionada con la planificación de una respuesta motora en el rostro a partir de un determinado estímulo, estaría estrechamente relacionado con la normalización de sus parámetros inflamatorios, pues el clúster RSML-2 mostró una alta correlación con prácticamente todos los parámetros bioquímicos medidos.

Durante el estudio de la relación entre distintas redes neuronales también se observaron cambios en los que estaban involucradas la RSMM y RSML. La relación de estas redes con el tálamo y la red de atención dorsal fueron las principales afectadas por el tratamiento con rifaximina.

En primer lugar, se observó un cambio de sentido en la relación entre la señal del tálamo (RTA) y la señal de la RSML (conexión RTA-RSML), que pasó de ser principalmente antagónica a ser principalmente sinérgica. Considerando el papel fundamental del tálamo en el procesamiento de distintos estímulos, incluidos los táctiles, el correcto funcionamiento de la interacción entre el tálamo y la red sensitivo-motora sería de gran importancia para la correcta percepción y procesamiento de cualquier estímulo táctil (Groenewegen, 2003); centrado en este caso en el rostro. Así, mientras que en los

pacientes con EHM parece que el tálamo y la parte lateral de la red sensitivo-motora se activan y desactivan de forma opuesta, la rifaximina es capaz de favorecer que ambas redes se activen y desactiven de forma sincronizada, independientemente de la respuesta del paciente a nivel cognitivo. El cambio observado en la conexión RTA-RSML, no obstante, no mostró ninguna correlación significativa con ningún parámetro inflamatorio, lo cual indicaría que este cambio se dio de forma similar en todos los pacientes, independientemente de cuán drástico fuese el cambio observado en el perfil inflamatorio de estos. Las implicaciones clínicas de esta inversión en la relación entre el tálamo y la red sensitivo-motora lateral, no obstante, no están claras.

En segundo lugar, también se halló un cambio significativo en la naturaleza de la conexión entre la red sensitivo-motora media (RSMM) y la red de atención dorsal (RAD) (conexión RSMM-RAD). La red de atención dorsal está principalmente implicada en la atención visuoespacial y la selección de estímulos visuales, y comprende áreas como los campos oculares frontales y el surco intraparietal (Corbetta y Shulman, 2002). En este caso, antes del tratamiento, los pacientes *Responder* mostraban una conexión principalmente sinérgica, mientras que los pacientes *Non-responder* mostraban una conexión antagónica. En ambos casos, la conexión RSMM-RAD presentaba valores mucho más cercanos a 0 tras el tratamiento, con una cierta tendencia hacia valores negativos en los pacientes *Responder*. A nivel general, este resultado indicaría que, independientemente de la respuesta de los pacientes a la rifaximina, en todos los casos el tratamiento favorecía una desincronización de ambas redes neuronales (en lugar de activarse a la vez o de forma opuesta, cada una mostraba un patrón de activación no relacionado con el de la otra). La evolución de esta conexión mostró una alta correlación con una cantidad limitada de parámetros inflamatorios, destacando principalmente los niveles de CXCL13, que actúa principalmente como quimioatrayente de los linfocitos B (Ansel *et al.*, 2002). Esta correlación apuntaría a la existencia de una posible relación entre la interdependencia funcional de la RSMM y la RAD, y la activación de los linfocitos B.

La reducción de la alta interconectividad entre RSMM y RAD observada tras el tratamiento con rifaximina podría estar relacionada con una hiperconectividad aberrante que ya ha sido observada anteriormente en pacientes con EHM, y en otros trastornos y condiciones, como la esclerosis múltiple o los traumatismos craneoencefálicos (Qi *et al.*, 2012; Hillary *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016b). Estos casos de hiperconectividad parecen deberse a una capacidad reducida por parte de las distintas redes neuronales para llevar a cabo sus funciones características de forma correcta con los recursos de que disponen normalmente. Ante tal situación, un mayor reclutamiento neuronal, o el acoplamiento de su patrón de activación al de otras redes neuronales,

serviría para paliar sus carencias funcionales. Por lo tanto, estas observaciones apuntarían a que el tratamiento con rifaximina ayuda a que la RSMM y la RAD puedan llevar a cabo sus respectivas funciones, sin depender del patrón de activación de la otra, en todos los pacientes. La disminución de la conectividad funcional de la RSML en los clústeres RSML-1 y RSML-2 podría interpretarse de forma similar: al recuperarse esta red neuronal, disminuyen los niveles de conectividad funcional necesarios para ejecutar las mismas funciones cognitivas que antes.

Resumidamente, en el conjunto de pacientes destacó un aumento de la actividad relacionada con la red sensitivo-motora en el núcleo caudado izquierdo, implicado en la planificación motora, además de una mayor independencia funcional entre esta red y la red de atención dorsal. Algunos de estos cambios guardan similitud con la recuperación de la función de la red sensitivo-motora observada en algunos pacientes con cirrosis que han sido sometidos a un trasplante hepático (Cheng *et al.*, 2015; Cao *et al.*, 2021). En los pacientes que respondieron favorablemente al tratamiento también se observó un descenso de la actividad en la corteza cingulada anterior, aunque el área afectada fue muy pequeña, haciendo que su significancia clínica sea dudosa.

2.3.2. Disminución de la conectividad y aumento de la independencia funcional de la red frontoparietal tras el tratamiento con rifaximina

La red frontoparietal es una de las principales redes neuronales del cerebro. Las áreas de la corteza relacionadas con esta red ocupan gran parte de la corteza prefrontal dorsolateral, y la parte posterior de la corteza parietal. Esta red neuronal es la principal responsable de la función ejecutiva, y está implicada en multitud de tareas como la resolución de problemas, la memoria de trabajo, la toma de decisiones, y la planificación de acciones voluntarias (Menon, 2011).

En los estudios de rs-fMRI, esta red neuronal normalmente aparece dividida en dos, con la parte del hemisferio izquierdo por un lado y la del hemisferio derecho por otro. Más allá de posibles asimetrías funcionales entre ambos hemisferios cerebrales, esta división de la señal de la red frontoparietal entre hemisferios obedecería a la mitad del cuerpo sobre la cual actúa cada hemisferio cerebral. En esta tesis, al aislar la señal de las distintas redes neuronales, la señal de la red frontoparietal quedó dividida en dos componentes, siguiendo el mismo patrón ya mencionado: se obtuvo una señal de la red frontoparietal en el hemisferio izquierdo (RFPI), y una de la red frontoparietal en el hemisferio derecho (RFPD).

Durante el estudio de los cambios en la conectividad funcional de cada red neuronal tras el tratamiento, se halló un descenso de la conectividad funcional de la RFPI en el área de brodmann 2 izquierda (RFPI-1), y en un área del cerebelo cercana a los lóbulos cerebelosos I a IV derechos (RFPI-2). Estos cambios se observaron en el conjunto completo de pacientes tratados, independientemente de su respuesta al tratamiento.

El clúster RFPI-1 se halló en el área de brodmann 2, una de las principales áreas somatosensoriales de la corteza cerebral, que además tiene especial relación con la percepción táctil en tejido profundo y en áreas del cuerpo tisularmente complejas (Hyvärinen y Poranen, 1978). Esto apuntaría a un efecto de la rifaximina sobre el procesamiento de información táctil compleja por parte de la red frontoparietal, particularmente en el lado derecho del cuerpo. Por otro lado, el clúster RFPI-2 podría tener relación con la asociación funcional existente entre distintas áreas de la corteza cerebral y su representación en el cerebelo (Buckner *et al.*, 2011). Esta idea estaría apoyada por el hecho de que el área cerebelar afectada se encuentra en el hemisferio opuesto a la RFPI, siguiendo el patrón contralateral observado por Buckner *et al.* (2011). La relevancia clínica y cognitiva de este último hallazgo, sin embargo, no estaría clara, puesto que las relaciones funcionales entre las distintas redes neuronales del cerebro y sus representaciones homotópicas en el cerebelo todavía se están empezando a estudiar.

Por otro lado, al estudiar la conectividad funcional entre distintas redes, únicamente se halló un cambio significativo tras el tratamiento en la conexión entre la red frontoparietal derecha y la red del giro supramarginal (RGS) (conexión RFPD-RGS). Hay que destacar, en primer lugar, que el término “red del giro supramarginal” no hace referencia a una red neuronal con una función establecida y estudiada en la bibliografía científica, sino a la señal neuronal aislada en esta tesis que se encuentra localizada, principalmente, en el giro supramarginal. El giro supramarginal es una parte crucial del sistema de neuronas espejo (Tseng *et al.*, 2015), además de tener un papel fundamental en la interpretación e integración de información sensorial, necesaria para el correcto funcionamiento de la memoria de trabajo, el lenguaje, la escritura, y la empatía (Stoeckel *et al.*, 2009; Deschamps *et al.*, 2014; Tholen *et al.*, 2020). En este caso se observó cómo, tras el tratamiento, la conexión RFPD-RGS de los pacientes *Responder* evolucionaba desde una relación más bien antagónica hacia una más neutral, mientras que en los pacientes *Non-responder* esta conexión pasó de mostrar una relación predominantemente sinérgica a una mayormente antagónica. Igual que en el caso de la conexión RSMR-RAD comentada en el apartado anterior, los resultados observados apuntarían a que, tras el tratamiento, en los pacientes *Responder* la red frontoparietal

izquierda y el giro supramarginal funcionan con mayor independencia la una respecto del otro.

En general, resulta llamativo, una vez más, que la mayoría de resultados observados en los que está involucrada la red frontoparietal apuntan a un descenso de su actividad, o de su relación con otras redes neuronales, tras el tratamiento. Estos cambios coinciden con los hallazgos realizados por Ahluwalia *et al.* (2014), que también observó una disminución de la conectividad funcional de la red frontoparietal tras el tratamiento con rifaximina, y estarían en consonancia con parte de los resultados relacionados con la red sensitivo-motora, que también apuntaban a una reducción de una hiperconectividad aberrante, observada en la EHM y otras condiciones neuropsiquiátricas (Qi *et al.*, 2012; Hillary *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016b), gracias a los efectos de la rifaximina.

En cuanto a la relación de estos hallazgos con las otras facetas del estado de los pacientes, destaca la alta correlación de ambos clústeres, RFPI-1 y RFPI-2, con numerosos test psicométricos centrados en la atención y velocidad de procesamiento de los pacientes, especialmente en el caso del clúster RFPI-2. Estas altas correlaciones serían indicativas del papel predominante de la red frontoparietal en el correcto funcionamiento de la atención y la velocidad de procesamiento, que muestran la mejora más notable tras el tratamiento. Por otro lado, el clúster RFPI-2 mostró una alta correlación con los niveles de numerosos parámetros inflamatorios, correlación que también se observó, de forma más limitada, en el clúster RFPI-1 y en la conexión RFPD-RGS. En conjunto, estas correlaciones muestran como la red frontoparietal es una de las redes neuronales cuya función se ve más influida por el tratamiento con rifaximina, y la mejora del perfil inflamatorio que este conlleva, repercutiendo esto, a su vez, en las funciones cognitivas del paciente, en las que la red frontoparietal tiene un papel predominante.

En resumen, la rifaximina influyó en la conexión funcional de la red frontoparietal con distintas áreas involucradas en la percepción de estímulos, o con la integración de estos estímulos de cara al aprendizaje y el lenguaje. Su relación con la copia contralateral de la red frontoparietal presente en el cerebelo también se vio probablemente afectada. En todos los casos, la rifaximina propició una disminución de la conectividad funcional de la red frontoparietal en los pacientes *Responder*, y en los casos en que no estaba implicada otra señal funcional este cambio también afectó a los pacientes *Non-responder*. Cabe destacar, también, que la mayoría de efectos observados estuvieron relacionados con la señal de la red frontoparietal del hemisferio izquierdo, y que afectaron mayoritariamente a áreas del hemisferio izquierdo.

2.3.3. Recuperación de la conexión funcional entre el tálamo y la corteza prefrontal en pacientes que responden al tratamiento con rifaximina

El tálamo es una de las áreas subcorticales más importantes del encéfalo. Una de sus principales funciones incluye su papel como nodo a través del cual pasan y son procesadas todas las señales sensoriales, con la excepción del olfato (Wimmer *et al.*, 2015; Halassa y Sherman, 2019). Adicionalmente, el tálamo participa también en la regulación de la consciencia y la atención, la coordinación, y la memoria (Aggleton *et al.*, 2010; Saalman y Kastner, 2011).

En los estudios de rs-fMRI, salvo que se busque explícitamente desglosar la conectividad funcional del tálamo y otras áreas subcorticales, es frecuente hallar un único componente en el que queda englobada la señal funcional del tálamo. En esta tesis se halló también un componente único que comprendía la señal funcional del tálamo en general (RTA).

Al analizar los cambios propiciados por el tratamiento con rifaximina en la conectividad funcional de cada red neuronal se halló un único clúster en el que la señal de la RTA sufrió un cambio significativo (RTA-1). Este fue el clúster hallado en el que los pacientes *Responder* y *Non-responder* evolucionaron en direcciones distintas tras el tratamiento: mientras que en los pacientes *Responder* se observó un aumento relativo de la señal, en los pacientes *Non-responder* se observó un descenso relativo de la señal.

El clúster RTA-1 fue hallado en el área 9-46 ventral anterior (a9-46v) del hemisferio izquierdo. Esta área está localizada en la parte anterior del giro frontal medio, en la corteza prefrontal dorsolateral, y su actividad está relacionada principalmente con funciones cognitivas complejas, la realización de acciones orientadas a un objetivo, y el control activo del comportamiento consciente (Petrides, 2005; Nitschke *et al.*, 2017). En estudios previos se ha observado, en pacientes con EHM, una disminución de la conectividad funcional y estructural del tálamo con múltiples estructuras de la corteza cerebral, incluyendo el giro frontal medio, donde se encuentra el área a9-46v (Qi *et al.*, 2013a; Chen *et al.*, 2021). A partir de estas afirmaciones podría decirse que, en pacientes *Responder*, la rifaximina es capaz de restaurar parte de la conexión funcional existente entre el tálamo y la corteza prefrontal dorsolateral. Mientras tanto, en los pacientes *Non-responder* este deterioro no solo no se corrige, sino que empeora tras varios meses. El clúster RTA-1, sin embargo, no mostró una correlación significativa con ningún parámetro psicométrico ni inflamatorio. Esta falta de correlaciones significativas probablemente se debiera a que en ningún otro parámetro se observó una evolución

diferencial tan marcada como en la señal funcional asociada con este clúster. Por lo tanto, se podría afirmar que el deterioro de la conectividad funcional del tálamo en el clúster RTA-1 en los pacientes *Non-responder* continua incluso aunque la rifaximina sea capaz de revertir o moderar de forma limitada algunos de sus parámetros inflamatorios.

En cuanto a la conexión del tálamo con otras redes neuronales, se observaron dos cambios significativos tras el tratamiento. Por un lado, estaría el cambio observado en la conexión RTA-RSML, ya comentada en el apartado 2.3.1, cuando se habló de los cambios observados en la red sensitivo-motora. Por otro lado, también se observó un cambio significativo en los pacientes *Responder* en la conexión entre el tálamo y la red visual media (RVM) (conexión RVM-RTA), que pasó de ser predominantemente antagónica a ser mucho más neutra. En los pacientes *Non-responder* se observó una evolución en la misma dirección, pero mucho más limitada. En esta tesis, la señal funcional de la corteza visual quedó dividida en tres componentes independientes, estando la señal de la corteza visual primaria comprendida en el componente denominado como red visual media. Teniendo en cuenta el papel del tálamo en el procesamiento de la información sensorial, que en el caso de la información visual va directamente dirigida a la corteza visual primaria tras este paso, este hallazgo apuntaría a una mayor independencia funcional entre el tálamo y la corteza visual primaria tras el tratamiento. Esta evolución hacia una mayor independencia siguió el mismo patrón ya observado en la mayoría de conexiones entre redes neuronales ya descritas, lo cual indicaría que, también en este caso, la rifaximina propició la reducción de una posible hiperconectividad aberrante (Qi *et al.*, 2012; Hillary *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016b), para que el tálamo y la corteza visual principal pudieran llevar a cabo sus funciones correctamente y de forma independiente. Aunque no se halló ninguna correlación significativa entre la evolución de la conexión RVM-RTA y de los distintos parámetros inflamatorios, con los test psicométricos sí se observaron múltiples correlaciones significativas, incluyendo test centrados en la medición de la velocidad de procesamiento, la función inhibitoria, la atención sostenida, e incluso la coordinación manual. Si se tiene en cuenta el deterioro de la percepción visual que suelen mostrar los pacientes con EHM (Kircheis *et al.*, 2002), podría afirmarse que la rifaximina propicia una mejora de esta función a través de un aumento de la independencia funcional del tálamo y la corteza visual primaria. A su vez, esta recuperación de la capacidad para procesar la información visual de forma eficiente habría sido clave en la mejora de los resultados obtenidos en múltiples test psicométricos.

En resumen, la rifaximina favoreció, por un lado, la recuperación de la conexión funcional entre el tálamo y la corteza prefrontal dorsolateral en los pacientes *Responder*. Esta área, al igual que en el caso de las redes neuronales estudiadas previamente, se

encontraba en el hemisferio izquierdo. El tratamiento también influyó en la relación entre el tálamo y las partes de la corteza cerebral asociadas con la percepción táctil y visual, que reciben información previamente procesada por este; y favoreció especialmente la independencia funcional entre la corteza visual primaria y el tálamo en los pacientes *Responder*. Este último caso, además, mostró una marcada correlación con el desempeño de distintos test cognitivos, probablemente como resultado de una mejora en la percepción visual. Por otro lado, ninguno de los cambios asociados con el tálamo mostró relación con el estado inflamatorio de los pacientes.

2.3.4. El tratamiento con rifaximina no recupera la función cerebral normal

Uno de los principales objetivos de este estudio era determinar, hasta qué punto, la recuperación de las funciones cognitivas observada en los pacientes *Responder* iba acompañada de la desaparición de las alteraciones estructurales y funcionales presentes en el cerebro de los pacientes EHM. Para ello se comparó a los pacientes, ya tratados, con los sujetos control incluidos en el estudio. Se tomaron como referencia principal las alteraciones observadas por García-García *et al.* (2017), donde se usó el mismo procedimiento de adquisición de imágenes fMRI sobre una muestra de pacientes con características similares a las de este estudio.

A nivel estructural no se observó ningún cambio significativo al comparar los pacientes antes y después del tratamiento, lo cual sería indicativo de que la rifaximina no tuvo ningún efecto a la hora de revertir el deterioro estructural sufrido por los pacientes con EHM.

A nivel funcional, el tratamiento con rifaximina propició múltiples cambios ya comentados. Tanto con la señal de la red sensitivo-motora como con la del tálamo no se observaron diferencias significativas entre los pacientes tratados y los controles, aunque estas redes no se vieron alteradas en pacientes con EHM en el estudio de García-García *et al.* (2017). En el caso de la señal de la red frontoparietal izquierda, cuya función estaba significativamente alterada en los pacientes con EHM en el estudio de García-García *et al.* (2017), se observaron alteraciones similares a las de dicho estudio al comparar a los pacientes tratados con los sujetos control. Además de esto, los efectos de la rifaximina sobre la red frontoparietal favorecieron un descenso de la conectividad funcional, que en los pacientes con EHM ya se ve disminuida de antemano.

En conjunto, estos resultados confirmarían que la rifaximina, o bien no revirtió el deterioro de la conectividad funcional que sufren los pacientes con EHM, o bien actuó en áreas y señales neuronales cuyo deterioro previo no podía ser confirmado en un estudio de características similares. A nivel general, no obstante, sigue siendo cierto que la rifaximina tuvo un efecto sobre la conectividad funcional de redes neuronales que se ven alteradas por la EHM (Qi *et al.*, 2013a; García-García *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2021), aunque dicho efecto no coincidiera con la reversión de estas alteraciones.

El hecho de que las alteraciones funcionales observadas en los pacientes con EHM no desapareciesen, aunque mejoren sus funciones cognitivas, indicaría la existencia de un cierto nivel de redundancia funcional en las áreas cerebrales afectadas por la EHM e implicadas en dichas funciones cognitivas, que permite su recuperación aunque dichas alteraciones funcionales sigan presentes (Mizusaki y O'Donnell, 2021). Que las alteraciones funcionales sufridas por los pacientes EHM sigan presentes también explicaría el hecho de que, aunque las funciones cognitivas de los pacientes mejoren tras el tratamiento, en muchos casos dicha mejora no sea significativa, y estas sigan sin ser iguales a las de una persona sana. Por otro lado, el hecho de que el deterioro de la conectividad funcional no desaparezca coincidiría con los altos índices de recaída que presentan los pacientes con EHM tras dejar la rifaximina (Goyal *et al.*, 2017).

2.4. Diferencias funcionales preexistentes entre los pacientes que responden al tratamiento y los que no

Además de los efectos del tratamiento con rifaximina sobre pacientes *Responder* y *Non-responder*, y las diferencias observadas entre ambos grupos a lo largo de su evolución, uno de los principales factores que puede influir en la respuesta de cada paciente es la presencia de diferencias preexistentes en su función neuronal.

Durante el estudio de la conectividad funcional intrínseca de cada red neuronal solamente se halló una única diferencia significativa entre pacientes *Responder* y *Non-responder* en cuanto a su estado antes del tratamiento, asociada con la señal de la red de los ganglios basales (RGB). Cabe destacar que, en la mayoría de estudios de rs-fMRI en los que se pone el foco en la señal funcional de los ganglios basales, normalmente se busca desglosar y analizar la actividad de cada una de las estructuras que los conforman. En este caso, no obstante, y debido al enfoque global del estudio realizado, solamente se halló un componente relacionado con estas estructuras, que mostraba actividad principalmente alrededor del globo pálido y el putamen, que forman el núcleo lenticular.

La principal función en la que están implicadas estas estructuras es la regulación de la función motora (DeLong *et al.*, 1984; Gillies *et al.*, 2017). En el caso del putamen, no obstante, también se ha documentado su intervención en otras funciones cognitivas, incluyendo el proceso lingüístico y el sistema de recompensa (Koikkalainen *et al.*, 2007; Fazl y Fleisher, 2018).

En cuanto a la diferencia hallada en el estado basal de pacientes *Responder* y *Non-responder*, se observó que, ya antes del tratamiento, la señal asociada a la RGB en el área 7 medial del hemisferio derecho era significativamente más intensa en pacientes *Responder* que en *Non-responder* (RGB-1). El área 7 medial forma parte del precuneus y la red neuronal por defecto, y participa en la percepción visuoespacial, la memoria episódica y la consciencia (Cavanna y Trimble, 2006). Aunque la relación funcional entre el núcleo lenticular y el *precuneus* no sea, aparentemente, la más directa, ambos son esenciales en múltiples funciones cognitivas, y la alteración de la conexión entre ambos ha sido registrada en múltiples trastornos y condiciones, incluyendo los accidentes cerebrovasculares, la enfermedad de Alzheimer y la esquizofrenia (Vatansever *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019; Xiong *et al.*, 2022). Teniendo en cuenta la frecuencia con la que se ve alterada la conexión funcional entre las dos estructuras implicadas en el clúster RGB-1, y que este fue el clúster más grande que se halló en este estudio, sería apropiado considerar la relevancia clínica del mismo.

En el caso específico del *precuneus*, en estudios previos se ha observado un deterioro de su conectividad funcional en pacientes con EHM (Montoliu *et al.*, 2012; García-García *et al.*, 2017). Esto indicaría que, en lo que respecta a su relación con los ganglios basales, el *precuneus* de los pacientes que responderán favorablemente al tratamiento presenta un deterioro significativamente menor que el de los pacientes que no responderán al mismo. Este deterioro más avanzado coincidiría con las observaciones de Mangas-Losada *et al.* (2019), que apuntaban a que una de las causas de la falta de respuesta en los pacientes *Non-responder* es un deterioro más avanzado. Esta diferencia entre pacientes *Responder* y *Non-responder*, sin embargo, no mostró una correlación significativa con ningún parámetro inflamatorio ni test psicométrico, lo cual indicaría que el mayor deterioro observado en los pacientes *Non-responder*, en principio, no está relacionado con ninguna particularidad de su perfil inflamatorio ni se ve reflejado en una peor ejecución de ningún test psicométrico. Una excepción podría ser el resultado de los test de coordinación, que los pacientes *Non-responder* realizaron significativamente peor que los pacientes *Responder*, aunque esta diferencia no se vio reflejada en una correlación significativa. No obstante, la implicación del globo pálido en la regulación de la función motora podría tener relación con esta peor ejecución, y un estudio con una muestra más grande podría ser capaz de confirmar dicha relación.

Por otro lado, durante el análisis de la conexión entre distintas redes neuronales se hallaron dos casos en los que los pacientes *Responder* y *Non-responder* mostraron diferencias significativas en su estado basal. Estas diferencias incluyeron a la conexión entre la red sensitivo-motora media y la red de atención dorsal (conexión RSMM-RAD), cuya evolución tras el tratamiento fue comentada en el apartado 2.3.1, y la conexión entre la sección frontal de la red neuronal por defecto (RDF) y la red de los ganglios basales (conexión RDF-RGB). La RDF comprende parte del lóbulo prefrontal medio y del giro cingulado anterior, y ocupa las áreas 10 rostral y 32 posterior, cuya actividad se ha relacionado con la atención y la memoria de trabajo centrados en un objetivo, y con la integración emocional de información durante sucesos sociales, respectivamente (Burgess *et al.*, 2007; Palomero-Gallagher *et al.*, 2008). A pesar de que ninguna de estas diferencias entre pacientes *Responder* y *Non-responder* mostró una correlación significativa con ningún parámetro inflamatorio ni test psicométrico, en ambos casos se vieron implicadas áreas cerebrales cuyas funciones estaban estrechamente relacionadas con la función motora (corteza motora y globo pálido) y con la atención (surco intraparietal y área 10 rostral).

Debido a que el estudio de la conectividad funcional entre redes neuronales todavía no se ha aplicado en demasiados estudios, actualmente no es posible conocer que mecanismos están implicados en estas diferencias preexistentes entre grupos de respuesta. Tampoco es posible conocer la razón de que aparezcan principalmente en áreas implicadas en funciones cognitivas concretas, ni la razón por la que algunas de estas conexiones entre redes neuronales sufren cambios tras el tratamiento con rifaximina mientras que otras no lo hacen. Un estudio centrado en estas diferencias, no obstante, podría ayudar a conocer mejor cuales son sus implicaciones clínicas, cognitivas y fisiológicas.

Resumidamente, los pacientes *Responder* y *Non-responder* mostraron diferencias preexistentes en las que estaban implicados, principalmente, los ganglios basales y la red neuronal por defecto. Estas diferencias incluyeron un deterioro más pronunciado de la actividad de los ganglios basales en el *precuneus*, y una naturaleza divergente en la relación entre las señales funcionales de los ganglios basales y la sección frontal de la red neuronal por defecto, y entre la red sensitivo-motora media y la red de atención dorsal. En todos los casos, las áreas afectadas por estas diferencias destacaron por su relación con la actividad motora, la percepción visuoespacial o la atención. Estas diferencias no muestran una correlación clara con ningún parámetro inflamatorio ni test psicométrico, con lo que los mecanismos subyacentes y sus implicaciones clínicas y patológicas, más allá del grupo de respuesta al que están asociadas, siguen siendo desconocidos.

VII. Conclusiones

Estudio de las alteraciones de los movimientos oculares en pacientes cirróticos con encefalopatía hepática mínima (EHM):

1. Los pacientes con EHM sufren un deterioro de su velocidad de reacción durante la realización de movimientos sacádicos, sobre todo en el plano vertical, o ante el cambio de posición de un estímulo visual ya presente. Parte de estas alteraciones también se observan, en menor grado, en pacientes sin EHM, y tendrían relación con el deterioro de la atención observado en otros test psicométricos.
2. Los pacientes con EHM muestran un deterioro de la precisión cuando deben calcular la posición sobre la que fijar la mirada al evitar un estímulo visual en los test de antisácadadas.
3. Los pacientes con EHM tienen una mayor dificultad para recordar correctamente la posición de un estímulo visual desaparecido, así como para inhibir la realización de movimientos sacádicos reflexivos hacia un estímulo visual que deben evitar. Estas alteraciones coinciden con el deterioro de la atención y la función inhibitoria observados en los test psicométricos realizados.
4. Los pacientes con EHM tienen dificultades para mantener la concentración a lo largo del tiempo, lo cual se ve reflejado en un menor tiempo de seguimiento y un mayor error de posicionamiento durante el seguimiento visual, y en un mayor número de movimientos sacádicos voluntarios durante la fijación visual.
5. Cuando intentan mantener la mirada fija, los pacientes con EHM muestran una capacidad reducida para inhibir los movimientos sacádicos espontáneos, lo cual repercute en una menor precisión de su mirada durante la fijación.
6. La correcta ejecución de los test de movimientos oculares, y una mayor velocidad de reacción durante los mismos, tienen una relación directa con la obtención de mejores resultados en otros test psicométricos, especialmente cuando estos evalúan la atención y velocidad de procesamiento del sujeto.
7. En su conjunto, los resultados obtenidos durante el estudio de las alteraciones de los movimientos oculares pueden servir como un primer paso en el futuro desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas, capaces de complementar a los test psicométricos usados en la actualidad. De esta forma, podría facilitarse la detección de alteraciones cognitivas que aparecen de forma temprana en los pacientes con cirrosis, y que la batería PHES actualmente no es capaz de detectar.

Estudio mediante Resonancia Magnética Funcional de los efectos del tratamiento de la rifaximina sobre la función neuronal en pacientes cirróticos con encefalopatía hepática mínima (EHM):

8. Tras el tratamiento con rifaximina se observa una mejora de las funciones cognitivas, sobre todo la atención, y una normalización de los marcadores inflamatorios en los pacientes que responden al tratamiento.
9. Los efectos de la rifaximina parecen centrarse en la actividad funcional de las redes sensitivo-motora, frontoparietal y talámica; y afectan no solamente a la actividad intrínseca de estas redes, sino también a la comunicación entre ellas y con otras redes neuronales. Los cambios observados en estas redes neuronales son los siguientes:
 - a. La rifaximina aumenta la actividad de la red sensitivo-motora en el núcleo caudado, y la independencia funcional de esta respecto de la red de atención dorsal. Estos cambios estarían implicados en la planificación motora, y muestran relación con el estado inflamatorio de los pacientes.
 - b. La rifaximina disminuye la actividad de la red frontoparietal en la corteza somatosensorial y el cerebelo, y en los pacientes que responden al tratamiento aumenta su independencia funcional respecto del giro supramarginal. Estos cambios estarían implicados en la percepción e integración de estímulos, y muestran relación con el estado inflamatorio y cognitivo de los pacientes.
 - c. La rifaximina recupera la actividad del tálamo en la corteza prefrontal dorsolateral de los pacientes que responden al tratamiento, y aumenta su independencia respecto de la corteza visual primaria. Este último cambio estaría implicado en la percepción de estímulos táctiles y visuales, y muestra una fuerte relación con el estado cognitivo de los pacientes.
10. En la mayoría de casos, el tratamiento con rifaximina propicia una mayor independencia funcional de las redes neuronales afectadas, ayudando a la desaparición de una posible hiperconectividad aberrante presente en los pacientes con EHM. También se observa un efecto predominante sobre áreas del hemisferio izquierdo.
11. A pesar de los efectos de la rifaximina, no se observa una desaparición ni reducción de las alteraciones, ni de la estructura, ni de la función neuronal observadas en pacientes con EHM mediante métodos similares. Esto implica un alto riesgo de recaída en los pacientes que dejan el tratamiento.

12. En su estado basal, los pacientes que responderán al tratamiento muestran una mayor actividad relacionada con los ganglios basales en el *precuneus*, que en estudios previos se ha visto deteriorado en pacientes con EHM. Los dos grupos de respuesta también presentan diferencias pre-existentes en la relación entre redes neuronales implicadas en la atención y en la función motora. Estas diferencias, no obstante, no muestran una relación aparente con el estado inflamatorio ni cognitivo de los pacientes antes del tratamiento, y todavía no es seguro afirmar cuales pueden ser sus implicaciones clínicas.

VIII. Bibliografía

Abel LA, Troost BT, Dell'Osso LF. The effects of age on normal saccadic characteristics and their variability. *Vision Res.* 1983;23(1):33-7. doi: 10.1016/0042-6989(83)90038-x.

Aggleton JP, O'Mara SM, Vann SD, Wright NF, Tsanov M, Erichsen JT. Hippocampal-anterior thalamic pathways for memory: uncovering a network of direct and indirect actions. *Eur J Neurosci.* 2010;31(12):2292-307. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07251.x.

Agustí A, Dziedzic JL, Hernandez-Rabaza V, Guilarte TR, Felipe V. Rats with minimal hepatic encephalopathy due to portacaval shunt show differential increase of translocator protein (18 kDa) binding in different brain areas, which is not affected by chronic MAP-kinase p38 inhibition. *Metab Brain Dis.* 2014;29(4):955-63. doi: 10.1007/s11011-013-9461-8.

Ahluwalia V, Wade JB, Heuman DM, Hammeke TA, Sanyal AJ, ...Bajaj JS. Enhancement of functional connectivity, working memory and inhibitory control on multi-modal brain MR imaging with Rifaximin in Cirrhosis: implications for the gut-liver-brain axis. *Metab Brain Dis.* 2014;29(4):1017-25. doi: 10.1007/s11011-014-9507-6.

Alarcón F, Giménez-Roldán S. Systemic diseases that cause movement disorders. *Parkinsonism Relat Disord.* 2005;11(1):1-18. doi: 10.1016/j.parkreldis.2004.10.003.

Amodio P, Montagnese S, Gatta A, Morgan MY. Characteristics of minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 2004;19(3-4):253-67. doi: 10.1023/b:mebr.0000043975.01841.de.

Andersson JLR, Jenkinson M, Smith SM. Non-linear registration, aka Spatial normalisation. *FMRIB technical report TR07JA2.* 2007.

Angelova PR, Kerbert AJC, Habtesion A, Hall A, Abramov AY, Jalan R. Hyperammonaemia induces mitochondrial dysfunction and neuronal cell death. *JHEP Rep.* 2022;4(8):100510. doi: 10.1016/j.jhepr.2022.100510.

Ansel KM, Harris RB, Cyster JG. CXCL13 is required for B1 cell homing, natural antibody production, and body cavity immunity. *Immunity.* 2002;16(1):67-76. doi: 10.1016/s1074-7613(01)00257-6.

Arab JP, Martin-Mateos RM, Shah VH. Gut-liver axis, cirrhosis and portal hypertension: the chicken and the egg. *Hepatol Int.* 2018;12(Suppl 1):24-33. doi: 10.1007/s12072-017-9798-x.

Ayala, AE. Cirrosis Hepatica. *Farmacia Salud. Farmacia Abierta.* 2012; Vol. 26, Núm. 4. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/338435374/Farma-Cirrosis-Hepatica>

Bakdash JZ, Marusich LR. Repeated Measures Correlation. *Front Psychol.* 2017;8:456. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00456.

Bai M, Yang Z, Qi X, Fan D, Han G. L-ornithine-L-aspartate for hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013;28(5):783-92. doi: 10.1111/jgh.12142.

Bajaj JS, Saeian K, Schubert CM, Hafeezullah M, Franco J, ...Sanyal AJ. Minimal hepatic encephalopathy is associated with motor vehicle crashes: the reality beyond the driving test. *Hepatology.* 2009;50(4):1175-83. doi: 10.1002/hep.23128.

Bajaj JS, Sanyal AJ, Bell D, Gilles H, Heuman DM. Predictors of the recurrence of hepatic encephalopathy in lactulose-treated patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31(9):1012-7. doi: 10.1111/j.1365-2036.2010.04257.x.

Bajaj JS, Heuman DM, Wade JB, Gibson DP, Saeian K, ...Sanyal AJ. Rifaximin improves driving simulator performance in a randomized trial of patients with minimal hepatic encephalopathy. *Gastroenterology.* 2011;140(2):478-487.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2010.08.061.

Bajaj JS, Pinkerton SD, Sanyal AJ, Heuman DM. Diagnosis and treatment of minimal hepatic encephalopathy to prevent motor vehicle accidents: a cost-effectiveness analysis. *Hepatology.* 2012;55(4):1164-71. doi: 10.1002/hep.25507.

Bajaj JS, Thacker LR, Heuman DM, Fuchs M, Sterling RK, ...Wade JB. The Stroop smartphone application is a short and valid method to screen for minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology.* 2013;58(3):1122-32. doi: 10.1002/hep.26309.

Bajaj JS, Idilman R, Mabudian L, Hood M, Fagan A, ...Gillevet PM. Diet affects gut microbiota and modulates hospitalization risk differentially in an international cirrhosis cohort. *Hepatology.* 2018;68(1):234-247. doi: 10.1002/hep.29791.

Bajaj JS, Fagan A, Gavis EA, Kassam Z, Sikaroodi M, Gillevet PM. Long-term Outcomes of Fecal Microbiota Transplantation in Patients With Cirrhosis. *Gastroenterology.* 2019;156(6):1921-1923.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2019.01.033.

Bajaj JS, Duarte-Rojo A, Xie JJ, Acharya C, Wade JB, ...Vargas HE. Minimal Hepatic Encephalopathy and Mild Cognitive Impairment Worsen Quality of Life in Elderly Patients With Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(13):3008-3016.e2. doi: 10.1016/j.cgh.2020.03.033.

Bajaj JS, Fagan A, McGeorge S, Sterling RK, Rogal S, ...Gillevet PM. Area Deprivation Index and Gut-Brain Axis in Cirrhosis. *Clin Transl Gastroenterol*. 2022;13(6):e00495. doi: 10.14309/ctg.0000000000000495.

Baker CM, Burks JD, Briggs RG, Stafford J, Conner AK, ...Sughrue ME. A Connectomic Atlas of the Human Cerebrum. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*. 2018;15(suppl_1):S10-S406.

Ballester MP, Gallego JJ, Fiorillo A, Casanova-Ferrer F, Giménez-Garzó C, ...Montoliu C. Metabolic syndrome is associated with poor response to rifaximin in minimal hepatic encephalopathy. *Sci Rep*. 2022;12(1):2463. doi: 10.1038/s41598-022-06416-z.

Balzano T, Forteza J, Molina P, Giner J, Monzó A, ...Felipo V. The Cerebellum of Patients with Steatohepatitis Shows Lymphocyte Infiltration, Microglial Activation and Loss of Purkinje and Granular Neurons. *Sci Rep*. 2018;8(1):3004. doi: 10.1038/s41598-018-21399-6.

Balzano T, Arenas YM, Dadsetan S, Forteza J, Gil-Perotin S, ...Felipo V. Sustained hyperammonemia induces TNF- α IN Purkinje neurons by activating the TNFR1-NF- κ B pathway. *J Neuroinflammation*. 2020;17(1):70. doi: 10.1186/s12974-020-01746-z.

Balzano T, Leone P, Ivaylova G, Castro MC, Reyes L, ...Felipo V. Rifaximin Prevents T-Lymphocytes and Macrophages Infiltration in Cerebellum and Restores Motor Incoordination in Rats with Mild Liver Damage. *Biomedicines*. 2021;9(8):1002. doi: 10.3390/biomedicines9081002.

Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*. 2015; 67(1):1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01.

Becker RA, Chambers JM, Wilks AR. The New S Language. Wadsworth & Brooks/Cole, Monterey. 1988. ISBN: 9780534091934.

Becker W, Behler A, Vintonyak O, Kassubek J. Patterns of small involuntary fixation saccades (SIFs) in different neurodegenerative diseases: the role of noise. *Exp Brain Res*. 2023;241(7):1821-1833. doi: 10.1007/s00221-023-06633-6.

Beckmann CF, Smith SM. Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *IEEE Trans Med Imaging*. 2004;23(2):137-52. doi: 10.1109/TMI.2003.822821.

Beckmann CF, Mackay CE, Filippini N, Smith SM. Group comparison of resting-state FMRI data using multi-subject ICA and dual regression. *OHBM*, 2009.

Beylergil SB, Kilbane C, Shaikh AG, Ghasia FF. Eye movements in Parkinson's disease during visual search. *J Neurol Sci*. 2022;440:120299. doi: 10.1016/j.jns.2022.120299.

Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med*. 1995;34(4):537-41. doi: 10.1002/mrm.1910340409.

Boghen D, Troost BT, Daroff RB, Dell'Osso LF, Birkett JE. Velocity characteristics of normal human saccades. *Invest Ophthalmol*. 1974;13(8):619-23.

Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Ann Intern Med*. 1996;125(8):680-7. doi: 10.7326/0003-4819-125-8-199610150-00009.

Brickenkamp R. d2-test de atención (adaptación de Seisdedos-Cubero N). Madrid: TEA ediciones. 2012.

Buckner RL, Krienen FM, Castellanos A, Diaz JC, Yeo BT. The organization of the human cerebellum estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol.* 2011 Nov;106(5):2322-45. doi: 10.1152/jn.00339.2011.

Burgess PW, Gilbert SJ, Dumontheil I. Function and localization within rostral prefrontal cortex (area 10). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2007;362(1481):887-99. doi: 10.1098/rstb.2007.2095.

Butterworth RF. Ammonia Removal by Metabolic Scavengers for the Prevention and Treatment of Hepatic Encephalopathy in Cirrhosis. *Drugs R D.* 2021;21(2):123-132. doi: 10.1007/s40268-021-00345-4.

Büttner-Ennever JA, Büttner U, Cohen B, Baumgartner G. Vertical glaze paralysis and the rostral interstitial nucleus of the medial longitudinal fasciculus. *Brain.* 1982;105(Pt 1):125-49. doi: 10.1093/brain/105.1.125.

Butz M, Timmermann L, Braun M, Groiss SJ, Wojtecki L, ...Schnitzler A. Motor impairment in liver cirrhosis without and with minimal hepatic encephalopathy. *Acta Neurol Scand.* 2010;122(1):27-35. doi: 10.1111/j.1600-0404.2009.01246.x.

Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Felipe V. Hyperammonemia alters glycinergic neurotransmission and modulation of the glutamate-nitric oxide-cGMP pathway by extracellular glycine in cerebellum in vivo. *J Neurochem.* 2016;137(4):539-48. doi: 10.1111/jnc.13579.

Cabrera-Pastor A, Balzano T, Hernández-Rabaza V, Malaguarnera M, Llansola M, Felipo V. Increasing extracellular cGMP in cerebellum in vivo reduces neuroinflammation, GABAergic tone and motor in-coordination in hyperammonemic rats. *Brain Behav Immun*. 2018;69:386-398. doi: 10.1016/j.bbi.2017.12.013.

Cagnin A, Taylor-Robinson SD, Forton DM, Banati RB. In vivo imaging of cerebral "peripheral benzodiazepine binding sites" in patients with hepatic encephalopathy. *Gut*. 2006;55(4):547-53. doi: 10.1136/gut.2005.075051.

Campagna F, Montagnese S, Ridola L, Senzolo M, Schiff S, ...Amodio P. The animal naming test: An easy tool for the assessment of hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 2017;66(1):198-208. doi: 10.1002/hep.29146.

Cao Y, Wu B, Chen T, Diao W, Jia Z. Altered intrinsic brain activity in patients with hepatic encephalopathy. *J Neurosci Res*. 2021;99(5):1337-1353. doi: 10.1002/jnr.24788.

Caraceni P, Vargas V, Solà E, Alessandria C, de Wit K, ...Ginès P; Liverhope Consortium. The Use of Rifaximin in Patients With Cirrhosis. *Hepatology*. 2021 Sep;74(3):1660-1673. doi: 10.1002/hep.31708.

Carpenter RH, Williams ML. Neural computation of log likelihood in control of saccadic eye movements. *Nature*. 1995;377(6544):59-62. doi: 10.1038/377059a0.

Cauli O, Llansola M, Erceg S, Felipo V. Hypolocomotion in rats with chronic liver failure is due to increased glutamate and activation of metabotropic glutamate receptors in substantia nigra. *J Hepatol*. 2006;45(5):654-61. doi: 10.1016/j.jhep.2006.06.019.

Cauli O, Rodrigo R, Piedrafita B, Boix J, Felipe V. Inflammation and hepatic encephalopathy: ibuprofen restores learning ability in rats with portacaval shunts. *Hepatology*. 2007;46(2):514-9. doi: 10.1002/hep.21734.

Cauli O, Rodrigo R, Llansola M, Montoliu C, Monfort P, ...Felipo V. Glutamatergic and gabaergic neurotransmission and neuronal circuits in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2009a;24(1):69-80. doi: 10.1007/s11011-008-9115-4.

Cauli O, Rodrigo R, Piedrafita B, Llansola M, Mansouri MT, Felipe V. Neuroinflammation contributes to hypokinesia in rats with hepatic encephalopathy: ibuprofen restores its motor activity. *J Neurosci Res*. 2009b;87(6):1369-74. doi: 10.1002/jnr.21947.

Cavanna AE, Trimble MR. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain*. 2006;129(Pt 3):564-83. doi: 10.1093/brain/awl004.

Chaganti J, Zeng G, Tun N, Lockart I, Abdelshaheed C, ...Danta M. Novel magnetic resonance KTRANS measurement of blood-brain barrier permeability correlated with covert HE. *Hepatol Commun*. 2023;7(4):e0079. doi: 10.1097/HC9.0000000000000079.

Cheemerla S, Balakrishnan M. Global Epidemiology of Chronic Liver Disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2021;17(5):365-370. doi: 10.1002/cld.1061.

Chen HJ, Zhu XQ, Shu H, Yang M, Zhang Y, ...Teng GJ. Structural and functional cerebral impairments in cirrhotic patients with a history of overt hepatic encephalopathy. *Eur J Radiol*. 2012a;81(10):2463-9. doi: 10.1016/j.ejrad.2011.10.008.

Chen HJ, Zhu XQ, Yang M, Liu B, Zhang Y, ...Teng GJ. Changes in the regional homogeneity of resting-state brain activity in minimal hepatic encephalopathy. *Neurosci Lett*. 2012b;507(1):5-9. doi: 10.1016/j.neulet.2011.11.033.

Chen HJ, Jiao Y, Zhu XQ, Zhang HY, Liu JC, ...Teng GJ. Brain dysfunction primarily related to previous overt hepatic encephalopathy compared with minimal hepatic encephalopathy: resting-state functional MR imaging demonstration. *Radiology*. 2013;266(1):261-70. doi: 10.1148/radiol.12120026.

Chen HJ, Wang Y, Zhu XQ, Li PC, Teng GJ. Classification of cirrhotic patients with or without minimal hepatic encephalopathy and healthy subjects using resting-state attention-related network analysis. *PLoS One*. 2014;9(3):e89684. doi: 10.1371/journal.pone.0089684.

Chen QF, Chen HJ, Liu J, Sun T, Shen QT. Machine Learning Classification of Cirrhotic Patients with and without Minimal Hepatic Encephalopathy Based on Regional Homogeneity of Intrinsic Brain Activity. *PLoS One*. 2016a;11(3):e0151263. doi: 10.1371/journal.pone.0151263.

Chen HJ, Chen QF, Liu J, Shi HB. Aberrant salience network and its functional coupling with default and executive networks in minimal hepatic encephalopathy: a resting-state fMRI study. *Sci Rep*. 2016b;6:27092. doi: 10.1038/srep27092.

Chen HJ, Lin HL, Chen QF, Liu PF. Altered dynamic functional connectivity in the default mode network in patients with cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy. *Neuroradiology*. 2017;59(9):905-914. doi: 10.1007/s00234-017-1881-4.

Chen H, Shi M, Zhang H, Zhang YD, Geng W, ...Yin X. Different Patterns of Functional Connectivity Alterations Within the Default-Mode Network and Sensorimotor Network in Basal Ganglia and Pontine Stroke. *Med Sci Monit.* 2019;25:9585-9593. doi: 10.12659/MSM.918185.

Chen HJ, Zhang XH, Shi JY, Jiang SF, Sun YF, ...Chen R. Thalamic Structural Connectivity Abnormalities in Minimal Hepatic Encephalopathy. *Front Neuroanat.* 2021;15:592772. doi: 10.3389/fnana.2021.592772.

Cheng Y, Huang L, Zhang X, Zhong J, Ji Q, ...Shen W. Liver transplantation nearly normalizes brain spontaneous activity and cognitive function at 1 month: a resting-state functional MRI study. *Metab Brain Dis.* 2015 Aug;30(4):979-88. doi: 10.1007/s11011-015-9657-1.

Cheng Y, Li JL, Zhou JM, Zhang GY, Shen W, Zhang XD. Renormalization of Thalamic Sub-Regional Functional Connectivity Contributes to Improvement of Cognitive Function after Liver Transplantation in Cirrhotic Patients with Overt Hepatic Encephalopathy. *Korean J Radiol.* 2021;22(12):2052-2061. doi: 10.3348/kjr.2020.1432.

Cheon SY, Jo D, Kim YK, Song J. Long Noncoding RNAs Regulate Hyperammonemia-Induced Neuronal Damage in Hepatic Encephalopathy. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:7628522. doi: 10.1155/2022/7628522.

Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg.* 1964;1:1-85.

Clemmesen JO, Larsen FS, Kondrup J, Hansen BA, Ott P. Cerebral herniation in patients with acute liver failure is correlated with arterial ammonia concentration. *Hepatology.* 1999;29(3):648-53. doi: 10.1002/hep.510290309.

Collewijn H, Erkelens CJ, Steinman RM. Binocular co-ordination of human vertical saccadic eye movements. *J Physiol.* 1988;404:183-97. doi: 10.1113/jphysiol.1988.sp017285.

Collins CM, D'Orazio SE. Bacterial ureases: structure, regulation of expression and role in pathogenesis. *Mol Microbiol.* 1993;9(5):907-13. doi: 10.1111/j.1365-2958.1993.tb01220.x.

Compañy L, Zapater P, Pérez-Mateo M, Jover R. Extrapyrarnidal signs predict the development of overt hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010;22(5):519-25. doi: 10.1097/MEG.0b013e328333df0f.

Conn HO, Leevy CM, Vlahcevic ZR, Rodgers JB, Maddrey WC, ...Levy LL. Comparison of lactulose and neomycin in the treatment of chronic portal-systemic encephalopathy. A double blind controlled trial. *Gastroenterology.* 1977;72(4 Pt 1):573-83.

Cooper AJ. Ammonia metabolism in mammals: interorgan relationships. *Adv Exp Med Biol.* 1993;341:21-37. doi: 10.1007/978-1-4615-2484-7_3.

Corbetta M, Shulman GL. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat Rev Neurosci.* 2002 Mar;3(3):201-15. doi: 10.1038/nrn755.

Córdoba J, Cabrera J, Lataif L, Penev P, Zee P, Blei AT. High prevalence of sleep disturbance in cirrhosis. *Hepatology.* 1998;27(2):339-45. doi: 10.1002/hep.510270204.

Córdoba J, Olivé G, Alonso J, Rovira A, Segarra A, ...Vargas V. Improvement of magnetic resonance spectroscopic abnormalities but not pallidal hyperintensity followed amelioration of hepatic encephalopathy after occlusion of a large spleno-renal shunt. *J Hepatol*. 2001;34(1):176-8. doi: 10.1016/s0168-8278(00)00010-6.

Crawford TJ, Smith ES, Berry DM. Eye Gaze and Aging: Selective and Combined Effects of Working Memory and Inhibitory Control. *Front Hum Neurosci*. 2017;11:563. doi: 10.3389/fnhum.2017.00563.

Cunniffe N, Munby H, Chan S, Saatci D, Edison E, ...Massey D. Using saccades to diagnose covert hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2015;30(3):821-8. doi: 10.1007/s11011-014-9647-8.

Dadsetan S, Balzano T, Forteza J, Agusti A, Cabrera-Pastor A, ...Felipo V. Infliximab reduces peripheral inflammation, neuroinflammation, and extracellular GABA in the cerebellum and improves learning and motor coordination in rats with hepatic encephalopathy. *J Neuroinflammation*. 2016a;13(1):245. doi: 10.1186/s12974-016-0710-8.

Dadsetan S, Balzano T, Forteza J, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, ...Felipo V. Reducing Peripheral Inflammation with Infliximab Reduces Neuroinflammation and Improves Cognition in Rats with Hepatic Encephalopathy. *Front Mol Neurosci*. 2016b;9:106. doi: 10.3389/fnmol.2016.00106.

DeLong MR, Alexander GE, Georgopoulos AP, Crutcher MD, Mitchell SJ, Richardson RT. Role of basal ganglia in limb movements. *Hum Neurobiol*. 1984;2(4):235-44.

Demirciler E, Danis N, Ergun P, Kose T, Turan I, ...Karasu Z. Psychometric tests, critical flicker frequency, and inflammatory indicators in covert hepatic encephalopathy diagnosis. *Hepatol Forum*. 2023;4(1):19-24. doi: 10.14744/hf.2022.2022.0010.

Desmurget M, Reilly KT, Richard N, Szathmari A, Mottolese C, Sirigu A. Movement intention after parietal cortex stimulation in humans. *Science*. 2009;324(5928):811-3. doi: 10.1126/science.1169896.

Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain*. 1995;118 (Pt 1):279-306. doi: 10.1093/brain/118.1.279.

Dhiman RK, Thumburu KK, Verma N, Chopra M, Rath S, ...Singh M. Comparative Efficacy of Treatment Options for Minimal Hepatic Encephalopathy: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(4):800-812.e25. doi: 10.1016/j.cgh.2019.08.047.

Díaz-Gerevini GT, Repossi G, Dain A, Tarres MC, Das UN, Eynard AR. Cognitive and motor perturbations in elderly with longstanding diabetes mellitus. *Nutrition*. 2014;30(6):628-35. doi: 10.1016/j.nut.2013.11.007.

Donaghy C, Thurtell MJ, Piro EP, Gibson JM, Leigh RJ. Eye movements in amyotrophic lateral sclerosis and its mimics: a review with illustrative cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(1):110-6. doi: 10.1136/jnnp.2010.212407.

Dorris MC, Munoz DP. A neural correlate for the gap effect on saccadic reaction times in monkey. *J Neurophysiol*. 1995;73(6):2558-62. doi: 10.1152/jn.1995.73.6.2558.

Dorris MC, Munoz DP. Saccadic probability influences motor preparation signals and time to saccadic initiation. *J Neurosci.* 1998;18(17):7015-26. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-17-07015.1998.

Douaud G, Smith S, Jenkinson M, Behrens T, Johansen-Berg H, ...James A. Anatomically related grey and white matter abnormalities in adolescent-onset schizophrenia. *Brain.* 2007;130(Pt 9):2375-86. doi: 10.1093/brain/awm184.

Elfferich MD, Nelemans PJ, Ponds RW, De Vries J, Wijnen PA, Drent M. Everyday cognitive failure in sarcoidosis: the prevalence and the effect of anti-TNF-alpha treatment. *Respiration.* 2010;80(3):212-9. doi: 10.1159/000314225.

Elithorn A, Lunzer M, Weinman J. Cognitive deficits associated with chronic hepatic encephalopathy and their response to levodopa. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1975;38(8):794-8. doi: 10.1136/jnnp.38.8.794.

Erceg S, Monfort P, Hernandez-Viadel M, Llansola M, Montoliu C, Felipe V. Restoration of learning ability in hyperammonemic rats by increasing extracellular cGMP in brain. *Brain Res.* 2005a;1036(1-2):115-21. doi: 10.1016/j.brainres.2004.12.045.

Erceg S, Monfort P, Hernández-Viadel M, Rodrigo R, Montoliu C, Felipe V. Oral administration of sildenafil restores learning ability in rats with hyperammonemia and with portacaval shunts. *Hepatology.* 2005b;41(2):299-306. doi: 10.1002/hep.20565.

European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on the management of hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2022;77(3):807-824. doi: 10.1016/j.jhep.2022.06.001.

Faccioli J, Nardelli S, Gioia S, Riggio O, Ridola L. Minimal Hepatic Encephalopathy Affects Daily Life of Cirrhotic Patients: A Viewpoint on Clinical Consequences and Therapeutic Opportunities. *J Clin Med*. 2022;11(23):7246. doi: 10.3390/jcm11237246.

Falconer J, Murphy AN, Young SP, Clark AR, Tiziani S, ...Buckley CD. Review: Synovial Cell Metabolism and Chronic Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2018;70(7):984-999. doi: 10.1002/art.40504.

Fazl A, Fleisher J. Anatomy, Physiology, and Clinical Syndromes of the Basal Ganglia: A Brief Review. *Semin Pediatr Neurol*. 2018;25:2-9. doi: 10.1016/j.spen.2017.12.005.

Felipo V, Butterworth RF. Neurobiology of ammonia. *Prog Neurobiol*. 2002;67(4):259-79. doi: 10.1016/s0301-0082(02)00019-9.

Felipo V, Ordoño JF, Urios A, El Mlili N, Giménez-Garzó C, ...Montoliu C. Patients with minimal hepatic encephalopathy show impaired mismatch negativity correlating with reduced performance in attention tests. *Hepatology*. 2012a;55(2):530-9. doi: 10.1002/hep.24704.

Felipo V, Urios A, Montesinos E, Molina I, Garcia-Torres ML, ...Montoliu C. Contribution of hyperammonemia and inflammatory factors to cognitive impairment in minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2012b;27(1):51-8. doi: 10.1007/s11011-011-9269-3.

Felipo V. Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. *Nat Rev Neurosci*. 2013;14(12):851-8. doi: 10.1038/nrn3587.

Felipo V, Urios A, Valero P, Sánchez M, Serra MA, ...Montoliu C. Serum nitrotyrosine and psychometric tests as indicators of impaired fitness to drive in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *Liver Int.* 2013;33(10):1478-89. doi: 10.1111/liv.12206.

Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology.* 2002;35(3):716-21. doi: 10.1053/jhep.2002.31250.

Fox MD, Greicius M. Clinical applications of resting state functional connectivity. *Front Syst Neurosci.* 2010;4:19. doi: 10.3389/fnsys.2010.00019.

Fuchs AF, Robinson FR, Straube A. Participation of the caudal fastigial nucleus in smooth-pursuit eye movements. I. Neuronal activity. *J Neurophysiol.* 1994;72(6):2714-28. doi: 10.1152/jn.1994.72.6.2714.

García-García R, Cruz-Gómez ÁJ, Mangas-Losada A, Urios A, Forn C, ...Montoliu C. Reduced resting state connectivity and gray matter volume correlate with cognitive impairment in minimal hepatic encephalopathy. *PLoS One.* 2017;12(10):e0186463. doi: 10.1371/journal.pone.0186463.

García-García R, Cruz-Gómez ÁJ, Urios A, Mangas-Losada A, Forn C, ...Montoliu C. Learning and Memory Impairments in Patients with Minimal Hepatic Encephalopathy are Associated with Structural and Functional Connectivity Alterations in Hippocampus. *Sci Rep.* 2018;8(1):9664. doi: 10.1038/s41598-018-27978-x.

García-García R, Guerrero JF, Lavilla-Miyasato M, Magdalena JR, Ordoño JF, ...Felipo V. Hyperammonemia alters the mismatch negativity in the auditory evoked potential by altering functional connectivity and neurotransmission. *J Neurochem*. 2020;154(1):56-70. doi: 10.1111/jnc.14941.

Gazzard BG, Price H, Dawson AM. Detection of hepatic encephalopathy. *Postgrad Med J*. 1986;62(725):163-6. doi: 10.1136/pgmj.62.725.163.

GBD 2017 Cirrhosis Collaborators. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(3):245-266. doi: 10.1016/S2468-1253(19)30349-8.

Gairing SJ, Anders J, Kaps L, Nagel M, Michel M, ...Labenz C. Evaluation of IL-6 for Stepwise Diagnosis of Minimal Hepatic Encephalopathy in Patients With Liver Cirrhosis. *Hepatol Commun*. 2022;6(5):1113-1122. doi: 10.1002/hep4.1883.

Gandhi NJ, Katnani HA. Motor functions of the superior colliculus. *Annu Rev Neurosci*. 2011;34:205-31. doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113728.

Gaymard B, Rivaud S, Pierrot-Deseilligny C. Impairment of extraretinal eye position signals after central thalamic lesions in humans. *Exp Brain Res*. 1994;102(1):1-9. doi: 10.1007/BF00232433. Erratum in: *Exp Brain Res* 1995;104(2):362.

Gerok W, Häussinger D. [Ammonium detoxication and pH regulation by the liver]. *Med Welt*. 1984;35(1-2):28-34.

Gilberstadt SJ, Gilberstadt H, Zieve L, Buegel B, Collier RO Jr, McClain CJ. Psychomotor performance defects in cirrhotic patients without overt encephalopathy. *Arch Intern Med.* 1980;140(4):519-21.

Gillies MJ, Hyam JA, Weiss AR, Antoniadou CA, Bogacz R, ...Green AL. The Cognitive Role of the Globus Pallidus interna; Insights from Disease States. *Exp Brain Res.* 2017;235(5):1455-1465. doi: 10.1007/s00221-017-4905-8.

Giménez-Garzó C, Garcés JJ, Urios A, Mangas-Losada A, García-García R, ...Montoliu C. The PHES battery does not detect all cirrhotic patients with early neurological deficits, which are different in different patients. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171211. doi: 10.1371/journal.pone.0171211.

Glasser MF, Coalson TS, Robinson EC, Hacker CD, Harwell J, ...Van Essen DC. A multi-modal parcellation of human cerebral cortex. *Nature.* 2016;536(7615):171-178. doi: 10.1038/nature18933.

Gluud LL, Vilstrup H, Morgan MY. Nonabsorbable disaccharides for hepatic encephalopathy: A systematic review and meta-analysis. *Hepatology.* 2016;64(3):908-22. doi: 10.1002/hep.28598.

Gnadt JW, Bracewell RM, Andersen RA. Sensorimotor transformation during eye movements to remembered visual targets. *Vision Res.* 1991;31(4):693-715. doi: 10.1016/0042-6989(91)90010-3.

Goettker A, Gegenfurtner KR. A change in perspective: The interaction of saccadic and pursuit eye movements in oculomotor control and perception. *Vision Res.* 2021;188:283-296. doi: 10.1016/j.visres.2021.08.004.

Golden CJ. STROOP. Test de Colores y Palabras – Edición Revisada (adaptación de Ruiz-Fernández B, Luque T, y Sánchez-Sánchez F). Madrid: TEA Ediciones. 2020.

Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage*. 2001;14(1 Pt 1):21-36. doi: 10.1006/nimg.2001.0786.

Goyal O, Sidhu SS, Kishore H. Minimal hepatic encephalopathy in cirrhosis- how long to treat? *Ann Hepatol*. 2017;16(1):115-122. doi: 10.5604/16652681.1226822.

Groeneweg M, Quero JC, De Bruijn I, Hartmann IJ, Essink-bot ML, ...Schalm SW. Subclinical hepatic encephalopathy impairs daily functioning. *Hepatology*. 1998;28(1):45-9. doi: 10.1002/hep.510280108.

Groenewegen HJ. The basal ganglia and motor control. *Neural Plast*. 2003;10(1-2):107-20. doi: 10.1155/NP.2003.107.

Groner R, Groner MT. Attention and eye movement control: an overview. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci*. 1989;239(1):9-16. doi: 10.1007/BF01739737.

Groiss SJ, Butz M, Baumgarten TJ, Füllenbach ND, Häussinger D, Schnitzler A. GABA-ergic tone hypothesis in hepatic encephalopathy - Revisited. *Clin Neurophysiol*. 2019;130(6):911-916. doi: 10.1016/j.clinph.2019.03.011.

Grosbras MH, Laird AR, Paus T. Cortical regions involved in eye movements, shifts of attention, and gaze perception. *Hum Brain Mapp*. 2005;25(1):140-54. doi: 10.1002/hbm.20145.

Guerit JM, Amantini A, Fischer C, Kaplan PW, Mecarelli O, ...Amodio P; members of the ISHEN commission on Neurophysiological Investigations. Neurophysiological investigations of hepatic encephalopathy: ISHEN practice guidelines. *Liver Int.* 2009;29(6):789-96. doi: 10.1111/j.1478-3231.2009.02030.x.

Guevara M, Baccaro ME, Gómez-Ansón B, Frisoni G, Testa C, ...Ginès P. Cerebral magnetic resonance imaging reveals marked abnormalities of brain tissue density in patients with cirrhosis without overt hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2011;55(3):564-573. doi: 10.1016/j.jhep.2010.12.008.

Gupta A, Dhiman RK, Kumari S, Rana S, Agarwal R, ...Chawla Y. Role of small intestinal bacterial overgrowth and delayed gastrointestinal transit time in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2010;53(5):849-55. doi: 10.1016/j.jhep.2010.05.017.

Halassa MM, Sherman SM. Thalamocortical Circuit Motifs: A General Framework. *Neuron.* 2019;103(5):762-770. doi: 10.1016/j.neuron.2019.06.005.

Hannood S, Nasuruddin DN. Acute Inflammatory Response. 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

Heide W, Kurzidim K, Kömpf D. Deficits of smooth pursuit eye movements after frontal and parietal lesions. *Brain.* 1996;119 (Pt 6):1951-69. doi: 10.1093/brain/119.6.1951.

Helmchen C, Straube A, Büttner U. Saccade-related activity in the fastigial oculomotor region of the macaque monkey during spontaneous eye movements in light and darkness. *Exp Brain Res.* 1994a;98(3):474-82. doi: 10.1007/BF00233984.

Helmchen C, Straube A, Büttner U. Saccadic lateropulsion in Wallenberg's syndrome may be caused by a functional lesion of the fastigial nucleus. *J Neurol.* 1994b;241(7):421-6. doi: 10.1007/BF00900959.

Hermenegildo C, Montoliu C, Llansola M, Muñoz MD, Gaztelu JM, ...Felipo V. Chronic hyperammonemia impairs the glutamate-nitric oxide-cyclic GMP pathway in cerebellar neurons in culture and in the rat in vivo. *Eur J Neurosci.* 1998;10(10):3201-9. doi: 10.1046/j.1460-9568.1998.00329.x.

Hernández E, Hernández S, Molina D, Acebrón R, García Cena CE. OSCANN: Technical Characterization of a Novel Gaze Tracking Analyzer. *Sensors (Basel).* 2018;18(2):522. doi: 10.3390/s18020522.

Hernández-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Gonzalez-Usano A, Agustí A, ...Felipo V. Neuroinflammation increases GABAergic tone and impairs cognitive and motor function in hyperammonemia by increasing GAT-3 membrane expression. Reversal by sulforaphane by promoting M2 polarization of microglia. *J Neuroinflammation.* 2016a;13(1):83. doi: 10.1186/s12974-016-0549-z.

Hernández-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Taoro-González L, Malaguarnera M, Agustí A, ...Felipo V. Hyperammonemia induces glial activation, neuroinflammation and alters neurotransmitter receptors in hippocampus, impairing spatial learning: reversal by sulforaphane. *J Neuroinflammation.* 2016b;13:41. doi: 10.1186/s12974-016-0505-y.

Heuer HW, Mirsky JB, Kong EL, Dickerson BC, Miller BL, ...Boxer AL. Antisaccade task reflects cortical involvement in mild cognitive impairment. *Neurology.* 2013;81(14):1235-43. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a6cbfe.

Hikosaka O, Wurtz RH. Modification of saccadic eye movements by GABA-related substances. I. Effect of muscimol and bicuculline in monkey superior colliculus. *J Neurophysiol.* 1985;53(1):266-91. doi: 10.1152/jn.1985.53.1.266.

Hikosaka O, Sakamoto M, Usui S. Functional properties of monkey caudate neurons. I. Activities related to saccadic eye movements. *J Neurophysiol.* 1989a;61(4):780-98. doi: 10.1152/jn.1989.61.4.780.

Hikosaka O, Sakamoto M, Usui S. Functional properties of monkey caudate neurons. II. Visual and auditory responses. *J Neurophysiol.* 1989b;61(4):799-813. doi: 10.1152/jn.1989.61.4.799.

Hillary FG, Roman CA, Venkatesan U, Rajtmajer SM, Bajo R, Castellanos ND. Hyperconnectivity is a fundamental response to neurological disruption. *Neuropsychology.* 2015;29(1):59-75. doi: 10.1037/neu0000110.

Hovens IB, Schoemaker RG, van der Zee EA, Absalom AR, Heineman E, van Leeuwen BL. Postoperative cognitive dysfunction: Involvement of neuroinflammation and neuronal functioning. *Brain Behav Immun.* 2014;38:202-10. doi: 10.1016/j.bbi.2014.02.002.

Huettel SA, Song AW, McCarthy G. BOLD fMRI: origins and properties. *Functional Magnetic Resonance imaging.* 3rd ed., Sunderland: Sinauer Associates, Inc.; 2014, p. 212–6.

Hyvärinen J, Poranen A. Receptive field integration and submodality convergence in the hand area of the post-central gyrus of the alert monkey. *J Physiol.* 1978;283:539-56. doi: 10.1113/jphysiol.1978.sp012518.

Ilg UJ. The role of areas MT and MST in coding of visual motion underlying the execution of smooth pursuit. *Vision Res.* 2008;48(20):2062-9. doi: 10.1016/j.visres.2008.04.015.

Izquierdo-Altarejos P, Cabrera-Pastor A, Gonzalez-King H, Montoliu C, Felipo V. Extracellular Vesicles from Hyperammonemic Rats Induce Neuroinflammation and Motor Incoordination in Control Rats. *Cells.* 2020;9(3):572. doi: 10.3390/cells9030572.

Izquierdo-Altarejos P, Martínez-García M, Felipo V. Extracellular Vesicles From Hyperammonemic Rats Induce Neuroinflammation in Cerebellum of Normal Rats: Role of Increased TNF α Content. *Front Immunol.* 2022;13:921947. doi: 10.3389/fimmu.2022.921947.

Jenkinson M, Smith S. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal.* 2001;5(2):143-56. doi: 10.1016/s1361-8415(01)00036-6.

Jenkinson M, Bannister P, Brady M, Smith S. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage.* 2002;17(2):825-41. doi: 10.1016/s1053-8119(02)91132-8.

Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TE, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *Neuroimage.* 2012;62(2):782-90. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.09.015.

Jenne CN, Kubes P. Immune surveillance by the liver. *Nat Immunol.* 2013;14(10):996-1006. doi: 10.1038/ni.2691.

Jolliffe IT, Cadima J. Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.* 2016;374(2065):20150202. doi: 10.1098/rsta.2015.0202.

Jones EA, Weissenborn K. Neurology and the liver. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1997;63(3):279-93. doi: 10.1136/jnnp.63.3.279.

Jover R, Compañy L, Gutiérrez A, Zapater P, Pérez-Serra J, ...Pérez-Mateo M. Minimal hepatic encephalopathy and extrapyramidal signs in patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(7):1599-604. doi: 10.1111/j.1572-0241.2003.07528.x.

Jover R, Compañy L, Gutiérrez A, Lorente M, Zapater P, ...Pérez-Mateo M. Clinical significance of extrapyramidal signs in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 2005;42(5):659-65. doi: 10.1016/j.jhep.2004.12.030.

Jover R, Rodrigo R, Felipe V, Insausti R, Sáez-Valero J, ...Pérez-Mateo M. Brain edema and inflammatory activation in bile duct ligated rats with diet-induced hyperammonemia: A model of hepatic encephalopathy in cirrhosis. *Hepatology.* 2006;43(6):1257-66. doi: 10.1002/hep.21180. Erratum in: *Hepatology.* 2006;44(3):771.

Kaji K, Saikawa S, Takaya H, Fujinaga Y, Furukawa M, ...Yoshiji H. Rifaximin Alleviates Endotoxemia with Decreased Serum Levels of Soluble CD163 and Mannose Receptor and Partial Modification of Gut Microbiota in Cirrhotic Patients. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(4):145. doi: 10.3390/antibiotics9040145.

Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, ...Kim WR. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology.* 2001;33(2):464-70. doi: 10.1053/jhep.2001.22172.

Kang DJ, Betrapally NS, Ghosh SA, Sartor RB, Hylemon PB, ...Bajaj JS. Gut microbiota drive the development of neuroinflammatory response in cirrhosis in mice. *Hepatology*. 2016;64(4):1232-48. doi: 10.1002/hep.28696.

Kaps L, Hildebrand K, Nagel M, Michel M, Kremer WM, ...Labenz C. Validation of EncephalApp_Stroop as screening tool for the detection of minimal hepatic encephalopathy in German patients with liver cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2022;46(4):101873. doi: 10.1016/j.clinre.2022.101873.

Kircheis G, Wettstein M, Timmermann L, Schnitzler A, Häussinger D. Critical flicker frequency for quantification of low-grade hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 2002;35(2):357-66. doi: 10.1053/jhep.2002.30957.

Koikkalainen J, Hirvonen J, Nyman M, Lötjönen J, Hietala J, Ruotsalainen U. Shape variability of the human striatum--Effects of age and gender. *Neuroimage*. 2007;34(1):85-93. doi: 10.1016/j.neuroimage.2006.08.039.

Kosenko E, Tikhonova L, Alilova G, Montoliu C. A Look into Liver Mitochondrial Dysfunction as a Hallmark in Progression of Brain Energy Crisis and Development of Neurologic Symptoms in Hepatic Encephalopathy. *J Clin Med*. 2020;9(7):2259. doi: 10.3390/jcm9072259.

Kosenko E, Tikhonova L, Alilova G, Montoliu C. Is NMDA-Receptor-Mediated Oxidative Stress in Mitochondria of Peripheral Tissues the Essential Factor in the Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy? *J Clin Med*. 2022;11(3):827. doi: 10.3390/jcm11030827.

Koval MJ, Hutchison RM, Lomber SG, Everling S. Effects of unilateral deactivations of dorsolateral prefrontal cortex and anterior cingulate cortex on saccadic eye movements. *J Neurophysiol*. 2014;111(4):787-803. doi: 10.1152/jn.00626.2013.

Krappmann P, Everling S, Flohr H. Accuracy of visually and memory-guided antisaccades in man. *Vision Res.* 1998;38(19):2979-85. doi: 10.1016/s0042-6989(98)00101-1. Erratum in: *Vision Res* 1999;39(16):2794.

Krieger S, Jauss M, Jansen O, Theilmann L, Geissler M, Krieger D. Neuropsychiatric profile and hyperintense globus pallidus on T1-weighted magnetic resonance images in liver cirrhosis. *Gastroenterology.* 1996;111(1):147-55. doi: 10.1053/gast.1996.v111.pm8698193.

Krieger S, Jauss M, Jansen O, Stiehl A, Sauer P, ...Krieger D. MRI findings in chronic hepatic encephalopathy depend on portosystemic shunt: results of a controlled prospective clinical investigation. *J Hepatol.* 1997;27(1):121-6. doi: 10.1016/s0168-8278(97)80290-5.

Krismer F, Roos JC, Schranz M, Graziadei IW, Mechtcheriakov S, ...Zoller H. Saccadic latency in hepatic encephalopathy: a pilot study. *Metab Brain Dis.* 2010;25(3):285-95. doi: 10.1007/s11011-010-9210-1.

Lall R. How Multiple Imputation Makes a Difference. *Political Analysis.* 2017;24(4):414-433. doi:10.1093/pan/mpw020

Lan RY, Salunga TL, Tsuneyama K, Lian ZX, Yang GX, ...Gershwin ME. Hepatic IL-17 responses in human and murine primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun.* 2009;32(1):43-51. doi: 10.1016/j.jaut.2008.11.001.

Lario M, Muñoz L, Ubeda M, Borrero MJ, Martínez J, ...Albillos A. Defective thymopoiesis and poor peripheral homeostatic replenishment of T-helper cells cause T-cell lymphopenia in cirrhosis. *J Hepatol.* 2013;59(4):723-30. doi: 10.1016/j.jhep.2013.05.042.

Lasker AG, Zee DS, Hain TC, Folstein SE, Singer HS. Saccades in Huntington's disease: initiation defects and distractibility. *Neurology*. 1987;37(3):364-70. doi: 10.1212/wnl.37.3.364.

Lazar M, Butz M, Baumgarten TJ, Füllenbach ND, Jördens MS, ...Lange J. Impaired Tactile Temporal Discrimination in Patients With Hepatic Encephalopathy. *Front Psychol*. 2018;9:2059. doi: 10.3389/fpsyg.2018.02059.

Lazeyras F, Spahr L, DuPasquier R, Delavelle J, Burkhard P, ...Vingerhoets F. Persistence of mild parkinsonism 4 months after liver transplantation in patients with preoperative minimal hepatic encephalopathy: a study on neuroradiological and blood manganese changes. *Transpl Int*. 2002;15(4):188-95. doi: 10.1007/s00147-002-0415-z.

LaBerge D, Buchsbaum MS. Positron emission tomographic measurements of pulvinar activity during an attention task. *J Neurosci*. 1990;10(2):613-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.10-02-00613.1990.

Leone P, Mincheva G, Balzano T, Malaguarnera M, Felipo V, Llansola M. Rifaximin Improves Spatial Learning and Memory Impairment in Rats with Liver Damage-Associated Neuroinflammation. *Biomedicines*. 2022;10(6):1263. doi: 10.3390/biomedicines10061263.

Levy R, Goldman-Rakic PS. Segregation of working memory functions within the dorsolateral prefrontal cortex. *Exp Brain Res*. 2000;133(1):23-32. doi: 10.1007/s002210000397.

Li JX, Lisberger SG. Learned timing of motor behavior in the smooth eye movement region of the frontal eye fields. *Neuron*. 2011;69(1):159-69. doi: 10.1016/j.neuron.2010.11.043.

Limón ID, Angulo-Cruz I, Sánchez-Abdon L, Patricio-Martínez A. Disturbance of the Glutamate-Glutamine Cycle, Secondary to Hepatic Damage, Compromises Memory Function. *Front Neurosci.* 2021;15:578922. doi: 10.3389/fnins.2021.578922.

Lin S, Guo Z, Chen S, Lin X, Ye M, Qiu Y. Progressive Brain Structural Impairment Assessed via Network and Causal Analysis in Patients With Hepatitis B Virus-Related Cirrhosis. *Front Neurol.* 2022;13:849571. doi: 10.3389/fneur.2022.849571.

Lin WC, Hsu TW, Chen CL, Lu CH, Chen HL, Cheng YF. Resting State-fMRI with ReHo Analysis as a Non-Invasive Modality for the Prognosis of Cirrhotic Patients with Overt Hepatic Encephalopathy. *PLoS One.* 2015;10(5):e0126834. doi: 10.1371/journal.pone.0126834.

Liu R, Kang JD, Sartor RB, Sikaroodi M, Fagan A, ...Bajaj JS. Neuroinflammation in Murine Cirrhosis Is Dependent on the Gut Microbiome and Is Attenuated by Fecal Transplant. *Hepatology.* 2020;71(2):611-626. doi: 10.1002/hep.30827.

Liu YB, Chen MK. Epidemiology of liver cirrhosis and associated complications: Current knowledge and future directions. *World J Gastroenterol.* 2022;28(41):5910-5930. doi: 10.3748/wjg.v28.i41.5910.

Liu X, Li Y, Xu L, Zhang T, Cui H, ...Wang J. Spatial and Temporal Abnormalities of Spontaneous Fixational Saccades and Their Correlates With Positive and Cognitive Symptoms in Schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2024;50(1):78-88. doi: 10.1093/schbul/sbad039.

Llansola M, Montoliu C, Agusti A, Hernandez-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, ...Felipo V. Interplay between glutamatergic and GABAergic neurotransmission alterations in cognitive and motor impairment in minimal hepatic encephalopathy. *Neurochem Int.* 2015;88:15-9. doi: 10.1016/j.neuint.2014.10.011.

Lockwood AH, Murphy BW, Donnelly KZ, Mahl TC, Perini S. Positron-emission tomographic localization of abnormalities of brain metabolism in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology.* 1993;18(5):1061-8.

Lowe KA, Zinke W, Cosman JD, Schall JD. Frontal eye fields in macaque monkeys: prefrontal and premotor contributions to visually guided saccades. *Cereb Cortex.* 2022;32(22):5083-5107. doi: 10.1093/cercor/bhab533.

Lunn J, Donovan T, Litchfield D, Lewis C, Davies R, Crawford T. Saccadic Eye Movement Abnormalities in Children with Epilepsy. *PLoS One.* 2016;11(8):e0160508. doi: 10.1371/journal.pone.0160508.

Luo M, Hu FR, Wang PD, Yao L, Hu SJ, Bai FH. EncephalApp stroop test versus electronic number connection test-A for screening minimal hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis: a comparative study. *Scand J Gastroenterol.* 2022;57(9):1066-1069. doi: 10.1080/00365521.2022.2055975.

Mahanama B, Jayawardana Y, Rengarajan S, Jayawardena G, Chukoskie L, ...Jayarathna S. Eye movement and pupil measures: a review. *Front Comput Sci.* 2021;3:1-22. doi: 10.3389/fcomp.2021.733531

Malaguarnera M, Balzano T, Castro MC, Llansola M, Felipo V. The Dual Role of the GABAA Receptor in Peripheral Inflammation and Neuroinflammation: A Study in Hyperammonemic Rats. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):6772. doi: 10.3390/ijms22136772.

Mangas-Losada A, García-García R, Urios A, Escudero-García D, Tosca J, ...Felipo V. Minimal hepatic encephalopathy is associated with expansion and activation of CD4+CD28-, Th22 and Tfh and B lymphocytes. *Sci Rep.* 2017;7(1):6683. doi: 10.1038/s41598-017-05938-1.

Mangas-Losada A, García-García R, Leone P, Ballester MP, Cabrera-Pastor A, ...Felipo V. Selective improvement by rifaximin of changes in the immunophenotype in patients who improve minimal hepatic encephalopathy. *J Transl Med.* 2019;17(1):293. doi: 10.1186/s12967-019-2046-5.

Mardini H, Smith FE, Record CO, Blamire AM. Magnetic resonance quantification of water and metabolites in the brain of cirrhotics following induced hyperammonaemia. *J Hepatol.* 2011;54(6):1154-60. doi: 10.1016/j.jhep.2010.09.030.

Marini JC, Broussard SR. Hyperammonemia increases sensitivity to LPS. *Mol Genet Metab.* 2006;88(2):131-7. doi: 10.1016/j.ymgme.2005.12.013.

Matsumura M, Kojima J, Gardiner TW, Hikosaka O. Visual and oculomotor functions of monkey subthalamic nucleus. *J Neurophysiol.* 1992;67(6):1615-32. doi: 10.1152/jn.1992.67.6.1615.

Mencarelli A, Migliorati M, Barbanti M, Cipriani S, Palladino G, ...Fiorucci S. Pregnane-X-receptor mediates the anti-inflammatory activities of rifaximin on detoxification pathways in intestinal epithelial cells. *Biochem Pharmacol.* 2010;80(11):1700-7. doi: 10.1016/j.bcp.2010.08.022.

Mendes BG, Schnabl B. From intestinal dysbiosis to alcohol-associated liver disease. *Clin Mol Hepatol.* 2020;26(4):595-605. doi: 10.3350/cmh.2020.0086.

Mencarelli A, Renga B, Palladino G, Claudio D, Ricci P, ...Fiorucci S. Inhibition of NF- κ B by a PXR-dependent pathway mediates counter-regulatory activities of rifaximin on innate immunity in intestinal epithelial cells. *Eur J Pharmacol.* 2011;668(1-2):317-24. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.06.058.

Menon V. Large-scale brain networks and psychopathology: a unifying triple network model. *Trends Cogn Sci.* 2011;15(10):483-506. doi: 10.1016/j.tics.2011.08.003.

Michalak A, Butterworth RF. Ornithine transcarbamylase deficiency: pathogenesis of the cerebral disorder and new prospects for therapy. *Metab Brain Dis.* 1997;12(3):171-82.

Miese F, Kircheis G, Wittsack HJ, Wenserski F, Hemker J, ...Cohnen M. 1H-MR spectroscopy, magnetization transfer, and diffusion-weighted imaging in alcoholic and nonalcoholic patients with cirrhosis with hepatic encephalopathy. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006;27(5):1019-26.

Mínguez B, Rovira A, Alonso J, Córdoba J. Decrease in the volume of white matter lesions with improvement of hepatic encephalopathy. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007;28(8):1499-500. doi: 10.3174/ajnr.A0611.

Mirpour K, Ong WS, Bisley JW. Microstimulation of posterior parietal cortex biases the selection of eye movement goals during search. *J Neurophysiol.* 2010;104(6):3021-8. doi: 10.1152/jn.00397.2010.

Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(7):1126-67. doi: 10.1089/ars.2012.5149.

Mizusaki BEP, O'Donnell C. Neural circuit function redundancy in brain disorders. *Curr Opin Neurobiol.* 2021;70:74-80. doi: 10.1016/j.conb.2021.07.008.

Mohammadi H, Sayad A, Mohammadi M, Niknahad H, Heidari R. N-acetyl cysteine treatment preserves mitochondrial indices of functionality in the brain of hyperammonemic mice. *Clin Exp Hepatol.* 2020;6(2):106-115. doi: 10.5114/ceh.2020.95814.

Mokdad AA, Lopez AD, Shahrzaz S, Lozano R, Mokdad AH, ...Naghavi M. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med.* 2014;12:145. doi: 10.1186/s12916-014-0145-y.

Molitor RJ, Ko PC, Ally BA. Eye movements in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2015;44(1):1-12. doi: 10.3233/JAD-141173.

Montagnese S, Gordon HM, Jackson C, Smith J, Tognella P, ...Morgan MY. Disruption of smooth pursuit eye movements in cirrhosis: relationship to hepatic encephalopathy and its treatment. *Hepatology.* 2005;42(4):772-81. doi: 10.1002/hep.20855.

Montagnese S, Russo FP, Amodio P, Burra P, Gasbarrini A, ...Scarpignato C. Hepatic encephalopathy 2018: A clinical practice guideline by the Italian Association for the Study of the Liver (AISF). *Dig Liver Dis.* 2019;51(2):190-205. doi: 10.1016/j.dld.2018.11.035.

Montoliu C, Piedrafita B, Serra MA, del Olmo JA, Urios A, ...Felipo V. IL-6 and IL-18 in blood may discriminate cirrhotic patients with and without minimal hepatic encephalopathy. *J Clin Gastroenterol.* 2009;43(3):272-9. doi: 10.1097/MCG.0b013e31815e7f58.

Montoliu C, Gonzalez-Escamilla G, Atienza M, Urios A, Gonzalez O, ...Cantero JL. Focal cortical damage parallels cognitive impairment in minimal hepatic encephalopathy. *Neuroimage*. 2012;61(4):1165-75. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.03.041.

Montoliu C, Urios A, Forn C, García-Panach J, Avila C, ...Felipo V. Reduced white matter microstructural integrity correlates with cognitive deficits in minimal hepatic encephalopathy. *Gut*. 2014;63(6):1028-30. doi: 10.1136/gutjnl-2013-306175.

Montoliu C, Llansola M, Felipo V. Neuroinflammation and neurological alterations in chronic liver diseases. 2015. Recuperado de <http://nnjournal.net/article/view/1110/565>

Morris TP, White IR, Royston P. Tuning multiple imputation by predictive mean matching and local residual draws. *BMC Med Res Methodol*. 2014;14:75. doi: 10.1186/1471-2288-14-75.

Msall M, Batshaw ML, Suss R, Brusilow SW, Mellits ED. Neurologic outcome in children with inborn errors of urea synthesis. Outcome of urea-cycle enzymopathies. *N Engl J Med*. 1984;310(23):1500-5. doi: 10.1056/NEJM198406073102304.

Naegele T, Grodd W, Viebahn R, Seeger U, Klose U, ...Voigt K. MR imaging and (1)H spectroscopy of brain metabolites in hepatic encephalopathy: time-course of renormalization after liver transplantation. *Radiology*. 2000;216(3):683-91. doi: 10.1148/radiology.216.3.r00se27683.

Nagel-Leiby S, Buchtel HA, Welch KM. Cerebral control of directed visual attention and orienting saccades. *Brain*. 1990;113 (Pt 1):237-76. doi: 10.1093/brain/113.1.237.

Nardone R, Taylor AC, Höller Y, Brigo F, Lochner P, Trinka E. Minimal hepatic encephalopathy: A review. *Neurosci Res.* 2016;111:1-12. doi: 10.1016/j.neures.2016.04.009.

Newsome WT, Paré EB. A selective impairment of motion perception following lesions of the middle temporal visual area (MT). *J Neurosci.* 1988;8(6):2201-11. doi: 10.1523/JNEUROSCI.08-06-02201.1988.

Nguyen JC, Killcross AS, Jenkins TA. Obesity and cognitive decline: role of inflammation and vascular changes. *Front Neurosci.* 2014;8:375. doi: 10.3389/fnins.2014.00375.

Ni L, Qi R, Zhang LJ, Zhong J, Zheng G, ...Lu GM. Altered regional homogeneity in the development of minimal hepatic encephalopathy: a resting-state functional MRI study. *PLoS One.* 2012;7(7):e42016. doi: 10.1371/journal.pone.0042016.

Nickerson LD, Smith SM, Öngür D, Beckmann CF. Using Dual Regression to Investigate Network Shape and Amplitude in Functional Connectivity Analyses. *Front Neurosci.* 2017;11:115. doi: 10.3389/fnins.2017.00115.

Nitschke K, Köstering L, Finkel L, Weiller C, Kaller CP. A Meta-analysis on the neural basis of planning: Activation likelihood estimation of functional brain imaging results in the Tower of London task. *Hum Brain Mapp.* 2017;38(1):396-413. doi: 10.1002/hbm.23368.

Norenberg MD. The role of astrocytes in hepatic encephalopathy. *Neurochem Pathol.* 1987;6(1-2):13-33. doi: 10.1007/BF02833599.

Odeh M, Sabo E, Srugo I, Oliven A. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha correlate with severity of hepatic encephalopathy due to chronic liver failure. *Liver Int.* 2004;24(2):110-6. doi: 10.1111/j.1478-3231.2004.0894.x.

Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(24):9868-72. doi: 10.1073/pnas.87.24.9868.

Ojetti V, Lauritano EC, Barbaro F, Migneco A, Ainora ME, ...Gasbarrini A. Rifaximin pharmacology and clinical implications. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2009;5(6):675-82. doi: 10.1517/17425250902973695.

Ouerfelli-Ethier J, Elsaied B, Desgroseilliers J, Munoz DP, Blohm G, Khan AZ. Anti-saccades predict cognitive functions in older adults and patients with Parkinson's disease. *PLoS One.* 2018;13(11):e0207589. doi: 10.1371/journal.pone.0207589.

Pahwa R, Goyal A, Jialal I. Chronic Inflammation. 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

Palomero-Gallagher N, Mohlberg H, Zilles K, Vogt B. Cytology and receptor architecture of human anterior cingulate cortex. *J Comp Neurol.* 2008;508(6):906-26. doi: 10.1002/cne.21684.

Patel VC, Lee S, McPhail MJW, Da Silva K, Guilly S, ...Shawcross DL. Rifaximin- α reduces gut-derived inflammation and mucin degradation in cirrhosis and encephalopathy: RIFSYS randomised controlled trial. *J Hepatol.* 2022;76(2):332-342. doi: 10.1016/j.jhep.2021.09.010.

Petrides M. Lateral prefrontal cortex: architectonic and functional organization. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2005;360(1456):781-95. doi: 10.1098/rstb.2005.1631.

Philips CA, Augustine P. Gut Barrier and Microbiota in Cirrhosis. *J Clin Exp Hepatol.* 2022;12(2):625-638. doi: 10.1016/j.jceh.2021.08.027.

Pierrot-Deseilligny C, Rivaud S, Gaymard B, Agid Y. Cortical control of reflexive visually-guided saccades. *Brain.* 1991;114 (Pt 3):1473-85. doi: 10.1093/brain/114.3.1473.

Pierrot-Deseilligny Ch, Müri RM, Nyffeler T, Milea D. The role of the human dorsolateral prefrontal cortex in ocular motor behavior. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1039:239-51. doi: 10.1196/annals.1325.023.

Pinkhardt EH, Jürgens R, Lulé D, Heimrath J, Ludolph AC, ...Kassubek J. Eye movement impairments in Parkinson's disease: possible role of extradopaminergic mechanisms. *BMC Neurol.* 2012;12:5. doi: 10.1186/1471-2377-12-5.

Pisarek W. Minimal hepatic encephalopathy - diagnosis and treatment. *Prz Gastroenterol.* 2021;16(4):311-317. doi: 10.5114/pg.2021.111389.

Postle BR, D'Esposito M. Dissociation of human caudate nucleus activity in spatial and nonspatial working memory: an event-related fMRI study. *Brain Res Cogn Brain Res.* 1999;8(2):107-15. doi: 10.1016/s0926-6410(99)00010-5.

Postle BR, D'Esposito M. Spatial working memory activity of the caudate nucleus is sensitive to frame of reference. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2003;3(2):133-44. doi: 10.3758/cabn.3.2.133.

Poudyal NS, Chaudhary S, Kc S, Paudel BN, Basnet BK, ...Gayam V. Precipitating Factors and Treatment Outcomes of Hepatic Encephalopathy in Liver Cirrhosis. *Cureus*. 2019;11(4):e4363. doi: 10.7759/cureus.4363.

Prasad S, Dhiman RK, Duseja A, Chawla YK, Sharma A, Agarwal R. Lactulose improves cognitive functions and health-related quality of life in patients with cirrhosis who have minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 2007;45(3):549-59. doi: 10.1002/hep.21533.

Pretegianni E, Optican LM. Eye Movements in Parkinson's Disease and Inherited Parkinsonian Syndromes. *Front Neurol*. 2017;8:592. doi: 10.3389/fneur.2017.00592.

Pruim RHR, Mennes M, van Rooij D, Llera A, Buitelaar JK, Beckmann CF. ICA-AROMA: A robust ICA-based strategy for removing motion artifacts from fMRI data. *Neuroimage*. 2015;112:267-277. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.02.064.

Ptak R, Camen C, Morand S, Schnider A. Early event-related cortical activity originating in the frontal eye fields and inferior parietal lobe predicts the occurrence of correct and error saccades. *Hum Brain Mapp*. 2011;32(3):358-69. doi: 10.1002/hbm.21025.

Puca FM, Antonaci F, Panella C, Guglielmi FW, Barone M, ...Cerutti R. Psychomotor dysfunctions in alcoholic and post-necrotic cirrhotic patients without overt encephalopathy. *Acta Neurol Scand*. 1989;79(4):280-7. doi: 10.1111/j.1600-0404.1989.tb03785.x.

Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973;60(8):646-9. doi: 10.1002/bjs.1800600817.

Pujol A, Pujol J, Graus F, Rimola A, Peri J, ...Tolosa E. Hyperintense globus pallidus on T1-weighted MRI in cirrhotic patients is associated with severity of liver failure. *Neurology*. 1993;43(1):65-9. doi: 10.1212/wnl.43.1_part_1.65.

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, ...Williams SM, editors. *Neuroscience*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. Types of Eye Movements and Their Functions.

Qi R, Zhang LJ, Xu Q, Zhong J, Wu S, ...Lu G. Selective impairments of resting-state networks in minimal hepatic encephalopathy. *PLoS One*. 2012;7(5):e37400. doi: 10.1371/journal.pone.0037400.

Qi R, Zhang LJ, Zhong J, Zhang Z, Ni L, Zheng G, Lu GM. Disrupted thalamic resting-state functional connectivity in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Eur J Radiol*. 2013a;82(5):850-6. doi: 10.1016/j.ejrad.2012.12.016.

Qi R, Zhang LJ, Zhong J, Zhang Z, Ni L, ...Lu G. Altered effective connectivity network of the basal ganglia in low-grade hepatic encephalopathy: a resting-state fMRI study with Granger causality analysis. *PLoS One*. 2013b;8(1):e53677. doi: 10.1371/journal.pone.0053677.

Qi R, Zhang LJ, Zhong J, Zhu T, Zhang Z, ...Lu GM. Grey and white matter abnormalities in minimal hepatic encephalopathy: a study combining voxel-based morphometry and tract-based spatial statistics. *Eur Radiol*. 2013c;23(12):3370-8. doi: 10.1007/s00330-013-2963-2.

Qi R, Zhang LJ, Luo S, Ke J, Kong X, ...Lu GM. Default mode network functional connectivity: a promising biomarker for diagnosing minimal hepatic encephalopathy: CONSORT-compliant article. *Medicine (Baltimore)*. 2014;93(27):e227. doi: 10.1097/MD.0000000000000227.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2023.

Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology*. 2006;43(2 Suppl 1):S54-62. doi: 10.1002/hep.21060.

Raftery G, He J, Pearce R, Birchall D, Newton JL, ...Isaacs JD. Disease activity and cognition in rheumatoid arthritis: an open label pilot study. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(6):R263. doi: 10.1186/ar4108.

Rega D, Aiko M, Peñaranda N, Urios A, Gallego JJ, ...Montoliu C. Patients with Minimal Hepatic Encephalopathy Show Altered Thermal Sensitivity and Autonomic Function. *J Clin Med*. 2021;10(2):239. doi: 10.3390/jcm10020239.

Rey I, Effendi-Ys R. Association Between Serum IL-6, IL-10, IL-12, and IL-23 Levels and Severity of Liver Cirrhosis. *Med Arch*. 2021;75(3):199-203. doi: 10.5455/medarh.2021.75.199-203.

Ridola L, Cardinale V, Riggio O. The burden of minimal hepatic encephalopathy: from diagnosis to therapeutic strategies. *Ann Gastroenterol*. 2018;31(2):151-164. doi: 10.20524/aog.2018.0232.

Ridola L, Faccioli J, Nardelli S, Gioia S, Riggio O. Hepatic Encephalopathy: Diagnosis and Management. *J Transl Int Med.* 2020;8(4):210-219. doi: 10.2478/jtim-2020-0034.

Rikkens L, Jenko P, Rudman D, Freides D. Subclinical hepatic encephalopathy: detection, prevalence, and relationship to nitrogen metabolism. *Gastroenterology.* 1978;75(3):462-9.

Robinson FR, Straube A, Fuchs AF. Role of the caudal fastigial nucleus in saccade generation. II. Effects of muscimol inactivation. *J Neurophysiol.* 1993;70(5):1741-58. doi: 10.1152/jn.1993.70.5.1741.

Rodrigo R, Cauli O, Gomez-Pinedo U, Agusti A, Hernandez-Rabaza V, ...Felipo V. Hyperammonemia induces neuroinflammation that contributes to cognitive impairment in rats with hepatic encephalopathy. *Gastroenterology.* 2010;139(2):675-84. doi: 10.1053/j.gastro.2010.03.040.

Rohart F, Gautier B, Singh A, Lê Cao KA. mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(11):e1005752. doi: 10.1371/journal.pcbi.1005752.

Romero-Gómez M, Boza F, García-Valdecasas MS, García E, Aguilar-Reina J. Subclinical hepatic encephalopathy predicts the development of overt hepatic encephalopathy. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:2718–2723.

Romero-Gómez M, Córdoba J, Jover R, del Olmo J, Fernández A, ...Felipo V; Red Nacional de Investigación en Encefalopatía Hepática. Tablas de normalidad de la población española para los tests psicométricos utilizados en el diagnóstico de la encefalopatía hepática mínima. *Med Clin (Barc).* 2006;127(7):246-9.

Romero-Gómez M, Córdoba J, Jover R, del Olmo JA, Ramírez M, ...Felipo V. Value of the critical flicker frequency in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 2007;45(4):879-85. doi: 10.1002/hep.21586.

Rosazza C, Minati L. Resting-state brain networks: literature review and clinical applications. *Neurol Sci*. 2011;32(5):773-85. doi: 10.1007/s10072-011-0636-y.

Rose C, Butterworth RF, Zayed J, Normandin L, Todd K, ...Pomier-Layrargues G. Manganese deposition in basal ganglia structures results from both portal-systemic shunting and liver dysfunction. *Gastroenterology*. 1999;117(3):640-4. doi: 10.1016/s0016-5085(99)70457-9.

Rovira A, Córdoba J, Sanpedro F, Grivé E, Rovira-Gols A, Alonso J. Normalization of T2 signal abnormalities in hemispheric white matter with liver transplant. *Neurology*. 2002;59(3):335-41. doi: 10.1212/wnl.59.3.335.

Rovira A, Mínguez B, Aymerich FX, Jacas C, Huerga E, ...Alonso J. Decreased white matter lesion volume and improved cognitive function after liver transplantation. *Hepatology*. 2007;46(5):1485-90. doi: 10.1002/hep.21911.

Rubin, D. Multiple imputation for nonresponse in surveys. Wiley-Interscience. 2004. doi:10.1002/9780470316696. ISBN 9780471087052.

Rubio T, Felipo V, Tarazona S, Pastorelli R, Escudero-García D, ...Montoliu C. Multi-omic analysis unveils biological pathways in peripheral immune system associated to minimal hepatic encephalopathy appearance in cirrhotic patients. *Sci Rep*. 2021;11(1):1907. doi: 10.1038/s41598-020-80941-7.

Saalmann YB, Kastner S. Cognitive and perceptual functions of the visual thalamus. *Neuron*. 2011;71(2):209-23. doi: 10.1016/j.neuron.2011.06.027.

San Martín-Valenzuela C, Borrás-Barrachina A, Gallego JJ, Urios A, Mestre-Salvador V, ...Montoliu C. Motor and Cognitive Performance in Patients with Liver Cirrhosis with Minimal Hepatic Encephalopathy. *J Clin Med*. 2020;9(7):2154. doi: 10.3390/jcm9072154.

Sarter M, Givens B, Bruno JP. The cognitive neuroscience of sustained attention: where top-down meets bottom-up. *Brain Res Brain Res Rev*. 2001;35(2):146-60. doi: 10.1016/s0165-0173(01)00044-3.

Sato H, Noda H. Saccadic dysmetria induced by transient functional decortication of the cerebellar vermis [corrected]. *Exp Brain Res*. 1992;88(2):455-8. doi: 10.1007/BF02259122. Erratum in: *Exp Brain Res* 1992;89(3):690.

Scarpignato C, Pelosini I. Rifaximin, a poorly absorbed antibiotic: pharmacology and clinical potential. *Chemotherapy*. 2005;51 Suppl 1:36-66. doi: 10.1159/000081990.

Schall JD. Neural basis of saccade target selection. *Rev Neurosci*. 1995;6(1):63-85. doi: 10.1515/revneuro.1995.6.1.63.

Schall JD. Production, control, and visual guidance of saccadic eye movements. *ISRN Neurol*. 2013;2013:752384. doi: 10.1155/2013/752384.

Schomerus H, Hamster W, Blunck H, Reinhard U, Mayer K, Dölle W. Latent portasystemic encephalopathy. I. Nature of cerebral functional defects and their effect on fitness to drive. *Dig Dis Sci*. 1981;26(7):622-30. doi: 10.1007/BF01367675.

Shawcross DL, Davies NA, Williams R, Jalan R. Systemic inflammatory response exacerbates the neuropsychological effects of induced hyperammonemia in cirrhosis. *J Hepatol.* 2004;40(2):247-54. doi: 10.1016/j.jhep.2003.10.016.

Shawcross DL, Wright G, Olde Damink SW, Jalan R. Role of ammonia and inflammation in minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 2007;22(1):125-38. doi: 10.1007/s11011-006-9042-1.

Shawcross DL, Sharifi Y, Canavan JB, Yeoman AD, Abeles RD, ...Wendon JA. Infection and systemic inflammation, not ammonia, are associated with Grade 3/4 hepatic encephalopathy, but not mortality in cirrhosis. *J Hepatol.* 2011;54(4):640-9. doi: 10.1016/j.jhep.2010.07.045.

Sherlock S, Summerskill WH, White LP, Phear EA. Portal-systemic encephalopathy; neurological complications of liver disease. *Lancet.* 1954;267(6836):454-7.

Shin SY, Julian L, Katz P. The relationship between cognitive function and physical function in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2013;40(3):236-43. doi: 10.3899/jrheum.120871.

Sidhu SS, Goyal O, Mishra BP, Sood A, Chhina RS, Soni RK. Rifaximin improves psychometric performance and health-related quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy (the RIME Trial). *Am J Gastroenterol.* 2011;106(2):307-16. doi: 10.1038/ajg.2010.455.

Sidhu SS, Goyal O, Parker RA, Kishore H, Sood A. Rifaximin vs. lactulose in treatment of minimal hepatic encephalopathy. *Liver Int.* 2016;36(3):378-85. doi: 10.1111/liv.12921.

Smith A. SDMT-Test de símbolos y dígitos (adaptación de Arribas D). Madrid: TEA ediciones. 2012.

Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp.* 2002;17(3):143-55. doi: 10.1002/hbm.10062.

Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, ...Matthews PM. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage.* 2004;23 Suppl 1:S208-19. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.07.051.

Solé C, Guilly S, Da Silva K, Llopis M, Le-Chatelier E, ...Ginès P. Alterations in Gut Microbiome in Cirrhosis as Assessed by Quantitative Metagenomics: Relationship With Acute-on-Chronic Liver Failure and Prognosis. *Gastroenterology.* 2021;160(1):206-218.e13. doi: 10.1053/j.gastro.2020.08.054.

Sometti D, Ballan C, Wang H, Braun C, Enck P. Effects of the antibiotic rifaximin on cortical functional connectivity are mediated through insular cortex. *Sci Rep.* 2021;11(1):4479. doi: 10.1038/s41598-021-83994-4.

Stallings WC, Metzger AL, Pattridge KA, Fee JA, Ludwig ML. Structure-function relationships in iron and manganese superoxide dismutases. *Free Radic Res Commun.* 1991;12-13 Pt 1:259-68. doi: 10.3109/10715769109145794.

Stoeckel C, Gough PM, Watkins KE, Devlin JT. Supramarginal gyrus involvement in visual word recognition. *Cortex.* 2009;45(9):1091-6. doi: 10.1016/j.cortex.2008.12.004.

Streetz KL, Tacke F, Leifeld L, Wüstefeld T, Graw A, ...Trautwein C. Interleukin 6/gp130-dependent pathways are protective during chronic liver diseases. *Hepatology*. 2003;38(1):218-29. doi: 10.1053/jhep.2003.50268.

Stroop JR. Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*. 1935; 18,643– 662.

Sunil HV, Mittal BR, Kurmi R, Chawla YK, Dhiman RK. Brain perfusion single photon emission computed tomography abnormalities in patients with minimal hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol*. 2012;2(2):116-21. doi: 10.1016/S0973-6883(12)60099-1.

Tamai Y, Iwasa M, Eguchi A, Shigefuku R, Kamada Y, ...Takei Y. Rifaximin ameliorates intestinal inflammation in cirrhotic patients with hepatic encephalopathy. *JGH Open*. 2021;5(7):827-830. doi: 10.1002/jgh3.12596.

Taoro-Gonzalez L, Arenas YM, Cabrera-Pastor A, Felipo V. Hyperammonemia alters membrane expression of GluA1 and GluA2 subunits of AMPA receptors in hippocampus by enhancing activation of the IL-1 receptor: underlying mechanisms. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):36. doi: 10.1186/s12974-018-1082-z.

Tarter RE, Hegedus AM, Van Thiel DH, Schade RR, Gavalier JS, Starzl TE. Nonalcoholic cirrhosis associated with neuropsychological dysfunction in the absence of overt evidence of hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*. 1984;86(6):1421-7.

Tenenhaus M, Esposito Vinzi V, Chatelin YM, Lauro C. PLS path modeling. *Computational Statistics & Data Analysis*. 2005; 48(1): 159-205. doi: 10.1016/j.csda.2004.03.005

Teunissen CE, van Boxtel MP, Bosma H, Bosmans E, Delanghe J, ...de Vente J. Inflammation markers in relation to cognition in a healthy aging population. *J Neuroimmunol*. 2003;134(1-2):142-50. doi: 10.1016/s0165-5728(02)00398-3.

Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, McAulay M, Millward-Sadler H, Sheron N. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology*. 1998;28(6):1597-606. doi: 10.1002/hep.510280620.

Thurston SE, Leigh RJ, Crawford T, Thompson A, Kennard C. Two distinct deficits of visual tracking caused by unilateral lesions of cerebral cortex in humans. *Ann Neurol*. 1988;23(3):266-73. doi: 10.1002/ana.410230309.

Troost BT, Weber RB, Daroff RB. Hypometric saccades. *Am J Ophthalmol*. 1974;78(6):1002-5. doi: 10.1016/0002-9394(74)90815-0.

Tseng CE, Chien YL, Liu CM, Wang HL, Hwu HG, Tseng WY. Altered cortical structures and tract integrity of the mirror neuron system in association with symptoms of schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2015 Mar 30;231(3):286-91. doi: 10.1016/j.psychres.2015.01.010.

van Buuren S, Groothuis-Oudshoorn K. mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. *Journal of Statistical Software*. 2011;45(3):1-67. doi:10.18637/jss.v045.i03.

Vatansever D, Manktelow AE, Sahakian BJ, Menon DK, Stamatakis EA. Cognitive Flexibility: A Default Network and Basal Ganglia Connectivity Perspective. *Brain Connect*. 2016;6(3):201-7. doi: 10.1089/brain.2015.0388.

Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, ...Wong P. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology*. 2014;60(2):715-35. doi: 10.1002/hep.27210.

Vlachogiannakos J, Saveriadis AS, Viazis N, Theodoropoulos I, Foudoulis K, ...Karamanolis DG. Intestinal decontamination improves liver haemodynamics in patients with alcohol-related decompensated cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(9):992-9. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.03958.x.

Walker V. Ammonia metabolism and hyperammonemic disorders. *Adv Clin Chem*. 2014;67:73-150. doi: 10.1016/bs.acc.2014.09.002.

Wang H, Braun C, Enck P. Effects of Rifaximin on Central Responses to Social Stress-a Pilot Experiment. *Neurotherapeutics*. 2018;15(3):807-818. doi: 10.1007/s13311-018-0627-2.

Wang JY, Bajaj JS, Wang JB, Shang J, Zhou XM, ...Zhang NP. Lactulose improves cognition, quality of life, and gut microbiota in minimal hepatic encephalopathy: A multicenter, randomized controlled trial. *J Dig Dis*. 2019;20(10):547-556. doi: 10.1111/1751-2980.12816.

Wasmuth HE, Kunz D, Yagmur E, Timmer-Stranghöner A, Vidacek D, ...Lammert F. Patients with acute on chronic liver failure display "sepsis-like" immune paralysis. *J Hepatol*. 2005;42(2):195-201. doi: 10.1016/j.jhep.2004.10.019.

Weaver JD, Huang MH, Albert M, Harris T, Rowe JW, Seeman TE. Interleukin-6 and risk of cognitive decline: MacArthur studies of successful aging. *Neurology*. 2002;59(3):371-8. doi: 10.1212/wnl.59.3.371.

Wechsler D. WAIS-IV, Escala de inteligencia de Wechsler para adultos-IV (adaptación de De la guía E, Hernandez A, Paradell E, Vallar F). Madrid: Pearson Educación. 2012.

Weissenborn K, Ennen JC, Schomerus H, Rückert N, Hecker H. Neuropsychological characterization of hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2001;34(5):768-73. doi: 10.1016/s0168-8278(01)00026-5.

Weissenborn K, Heidenreich S, Giewekemeyer K, Rückert N, Hecker H. Memory function in early hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2003;39(3):320-5. doi: 10.1016/s0168-8278(03)00295-2.

Weissenborn K, Giewekemeyer K, Heidenreich S, Bokemeyer M, Berding G, Ahl B. Attention, memory, and cognitive function in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2005;20(4):359-67. doi: 10.1007/s11011-005-7919-z.

Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. 2016.

Wimmer RD, Schmitt LI, Davidson TJ, Nakajima M, Deisseroth K, Halassa MM. Thalamic control of sensory selection in divided attention. *Nature*. 2015;526(7575):705-9. doi: 10.1038/nature15398.

Winkler AM, Ridgway GR, Webster MA, Smith SM, Nichols TE. Permutation inference for the general linear model. *Neuroimage*. 2014;92(100):381-97. doi: 10.1016/j.neuroimage.2014.01.060.

Woodhouse CA, Patel VC, Singanayagam A, Shawcross DL. Review article: the gut microbiome as a therapeutic target in the pathogenesis and treatment of chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;47(2):192-202. doi: 10.1111/apt.14397.

Woolrich MW, Jbabdi S, Patenaude B, Chappell M, Makni S, ...Smith SM. Bayesian analysis of neuroimaging data in FSL. *Neuroimage.* 2009;45(1 Suppl):S173-86. doi: 10.1016/j.neuroimage.2008.10.055.

Xiong Y, Ye C, Chen Y, Zhong X, Chen H, ...Huang M. Altered Functional Connectivity of Basal Ganglia in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Brain Sci.* 2022 Nov 15;12(11):1555. doi: 10.3390/brainsci12111555.

Xue A, Kong R, Yang Q, Eldaief MC, Angeli PA, ...Yeo BTT. The detailed organization of the human cerebellum estimated by intrinsic functional connectivity within the individual. *J Neurophysiol.* 2021;125(2):358-384. doi: 10.1152/jn.00561.2020.

Yaffe K, Lindquist K, Penninx BW, Simonsick EM, Pahor M, ...Harris T. Inflammatory markers and cognition in well-functioning African-American and white elders. *Neurology.* 2003;61(1):76-80. doi: 10.1212/01.wnl.0000073620.42047.d7.

Yang L, Zhang Y, Wang L, Fan F, Zhu L, ...Chen Y. Amelioration of high fat diet induced liver lipogenesis and hepatic steatosis by interleukin-22. *J Hepatol.* 2010;53(2):339-47. doi: 10.1016/j.jhep.2010.03.004.

Yela M. Coordinación bimanual: manual. Madrid: TEA ediciones. 1978.

Yela M. Coordinación visomotora: manual. Madrid: TEA ediciones. 1979.

Yu X, Jin Y, Zhou W, Xiao T, Wu Z, ...Xiao Y. Rifaximin Modulates the Gut Microbiota to Prevent Hepatic Encephalopathy in Liver Cirrhosis Without Impacting the Resistome. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;11:761192. doi: 10.3389/fcimb.2021.761192.

Zahler SH, Taylor DE, Wong JY, Adams JM, Feinberg EH. Superior colliculus drives stimulus-evoked directionally biased saccades and attempted head movements in head-fixed mice. *Elife*. 2021;10:e73081. doi: 10.7554/eLife.73081.

Zeng X, Tang XJ, Sheng X, Ni W, Xin HG, ...Xie WF. Does low-dose rifaximin ameliorate endotoxemia in patients with liver cirrhosis: a prospective study. *J Dig Dis*. 2015;16(11):665-74. doi: 10.1111/1751-2980.12294.

Zhang LJ, Zheng G, Zhang L, Zhong J, Wu S, ...Lu G. Altered brain functional connectivity in patients with cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy: a functional MR imaging study. *Radiology*. 2012a;265(2):528-36. doi: 10.1148/radiol.12120185.

Zhang LJ, Zheng G, Zhang L, Zhong J, Wu S, ...Lu G. Altered brain functional connectivity in patients with cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy: a functional MR imaging study. *Radiology*. 2012b;265(2):528-36. doi: 10.1148/radiol.12120185.

Zhang LJ, Qi R, Zhong J, Ni L, Zheng G, ...Lu GM. Disrupted functional connectivity of the anterior cingulate cortex in cirrhotic patients without overt hepatic encephalopathy: a resting state fMRI study. *PLoS One*. 2013;8(1):e53206. doi: 10.1371/journal.pone.0053206.

Zhu XQ, Chen HJ, Wang Y, Cui Y, Teng GJ. Aberrant resting-state corticostriatal functional connectivity in cirrhotic patients with hyperintense globus pallidus on T1-weighted MR imaging. *PLoS One*. 2012;7(11):e48886. doi: 10.1371/journal.pone.0048886.

IX. Anexos

Anexo 1: Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los test de movimientos sacádicos y los test psicométricos

Debido al tamaño de las tablas presentadas en este anexo, y a la similitud entre estas, el texto presentado a continuación hará las veces de pie de tabla para todas estas, y puede ser consultado por igual para discernir información sobre cualquiera de ellas:

En todos los casos se usó la correlación de Spearman. En rojo se marcan los parámetros de movimientos oculares en los que se observaron alteraciones estadísticamente significativas al analizar las idferencias entre grupos de estudio. En la tabla no se incluyen los parámetros de movimientos oculares ni los test psicométricos en los que no se observó ninguna correlación estadísticamente significativa. *PHES*: Psychometric hepatic encephalopathy score. *DST*: Digit span test. *NCT-A*: Number connection test A. *NCT-B*: Number connection test B. *SD*: Serial dotting. *LTT*: Line tracking test. *SDMT*: Symbol digit modalities test. *SWJ*: Square wave jerks. *BCEA*: Bivariate Contour Ellipse Area. *: indica un $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) o $p < 0,001$ (***)

Tabla A1. Correlaciones del test de sácadass visuales horizontales. Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros del test de sácadass visuales horizontales y los test psicométricos realizados.

	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Desviación típica de la ganancia	Recuento de sácadass anticipadas	Latencia media de retorno	Desviación típica de la latencia de retorno
Puntuación global PHES	-0,271*	-0,333**				
DST	-0,393**	-0,414**			-0,359**	
NCT-A	0,341*	0,515***	0,297*		0,328*	
NCT-B		0,391**				
SD		0,34*				0,286*
LTT		0,336*				
Tarea congruente Stroop			-0,268*			
Tarea neutra Stroop		-0,32*				
SDMT Oral	-0,29*	-0,336**				
TR d2	-0,316*	-0,275*				
TA d2	-0,284*					
TOT d2	-0,321*					
Coordinación bimanual	0,421***	0,396**			0,313*	
Coordinación visomotora	0,272*	0,397**		0,274*		

Tabla A2. Correlaciones del test de sácadass visuales verticales. Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros del test de sácadass visuales verticales y los test psicométricos realizados.

	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Latencia media de retorno
Puntuación global PHES	-0,299*		-0,408***
DST	-0,453***		-0,52***
NCT-A	0,384***		0,432***
NCT-B	0,395***		0,525***
SD	0,299*		0,299*
LTT	0,286*		0,368**
Tarea congruente Stroop	-0,372***		-0,39***
Tarea neutra Stroop	-0,39***		-0,389***
Tarea incongruente Stroop			-0,267*
SDMT Oral	-0,393***		-0,444***
TR d2	-0,289*		-0,313*
TA d2	-0,295*		-0,322**
TOT d2	-0,302*		-0,315*
CON d2	-0,283*		-0,303*
Test de letras y números WAIS			-0,301*
Coordinación bimanual	0,433***	0,281*	0,468***
Coordinación visomotora	0,343**		0,424***

Tabla A3. Correlaciones del test de sácdas de memoria horizontales. Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros del test de sácdas de memoria horizontales y los test psicométricos realizados.

	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Ganancia media	Velocidad máxima media	Desviación típica del error positivo	Error negativo medio	Desviación típica del error negativo	Número de sácdas anticipadas	Número de sácdas correctas	Latencia media de retorno
Puntuación global PHES	-0,351**			0,265*		0,275*	-0,334*	0,253*	0,427***	
DST	-0,425***								0,534***	
NCT-A	0,368**					-0,357**			-0,465***	0,273*
NCT-B	0,361**			-0,273*					-0,523***	
SD	0,417***								-0,295*	
LTT	0,289*			-0,29*				-0,279*	-0,478***	
Tarea congruente Stroop									0,29*	
Tarea neutra Stroop	-0,338**					0,31*			0,375***	
Tarea incongruente stroop	-0,321**								0,285*	
SDMT Oral	-0,443***					0,29*			0,507***	
TR d2	-0,301*								0,275*	
TA d2	-0,332**					0,322*			0,338**	
C d2	0,31*									
TOT d2	-0,337**					0,28*			0,325**	
CON d2	-0,347**					0,327*			0,335**	
Test de dígitos directos WAIS									0,32**	
Test de dígitos inversos WAIS						0,334*			0,324**	
Test de letras y números WAIS	-0,372**		0,28*	0,291*					0,365**	
Coordinación bimanual	0,385**	0,32*			0,298*	-0,334*			-0,428***	
Coordinación visomotora	0,331**					-0,287*	0,346*		-0,55***	

Tabla A4. Correlaciones del test de sácdas de memoria verticales. Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros del test de sácdas de memoria verticales y los test psicométricos realizados.

	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Error negativo medio	Número de sácdas correctas	Desviación típica de la velocidad máxima de retorno
Puntuación global PHES	-0,355**			0,464***	
DST	-0,383**			0,542***	
NCT-A	0,452***			-0,464***	
NCT-B	0,398**			-0,466***	
SD	0,309*			-0,283*	
LTT				-0,491***	
Tarea congruente Stroop		-0,339*		0,359**	
Tarea neutra Stroop			0,351*	0,456***	
Tarea incongruente Stroop				0,324**	
SDMT Oral	-0,372**			0,588***	
TR d2				0,348**	
TA d2				0,408***	0,347*
TOT d2				0,393***	
CON d2				0,406***	
Test de dígitos directos WAIS				0,445***	
Test de dígitos inversos WAIS				0,329**	
Test de letras y números WAIS	-0,391**		0,389*	0,366**	
Coordinación bimanual	0,373**			-0,515***	
Coordinación visomotora			-0,362*	-0,604***	

Tabla A5. Correlaciones del test de antisácadadas horizontales (I). Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros de latencia y duración de los movimientos sacádicos del test de antisácadadas horizontales y los test psicométricos realizados.

	Antisácadadas principales		Sácadadas reflexivas				Sácadadas de retorno	
	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Duración media	Desviación típica de la duración	Latencia media de retorno	Desviación típica de la latencia de retorno
Puntuación global PHES								
DST	-0,325*		-0,515***	-0,326**	-0,469***	-0,357**		
NCT-A	0,336**		0,536***	0,388***	0,448***	0,325**		
NCT-B	0,363**		0,604***	0,465***	0,532***	0,421***		0,254*
SD			0,367***		0,317**			
LTT	0,264*		0,394***	0,291*	0,375***	0,235*		
Tarea congruente Stroop								
	-0,417***		-0,441***	-0,253*	-0,4***	-0,301**		
Tarea neutra Stroop	-0,258*		-0,418***	-0,325**	-0,384***	-0,278*		-0,212*
Tarea incongruente Stroop	-0,269*		-0,374***	-0,267*	-0,329**	-0,312**		-0,211*
SDMT Oral	-0,489***	-0,312*	-0,613***	-0,429***	-0,553***	-0,434***		-0,242*
TR d2	-0,448***	-0,357*	-0,538***	-0,428***	-0,52***	-0,424***	-0,274**	-0,22*
TA d2	-0,285*	-0,301*	-0,478***	-0,4***	-0,442***	-0,359***	-0,233*	-0,251*
O d2	-0,256*							
C d2			0,354***	0,384***	0,326**	0,352**		
TOT d2	-0,422***	-0,341*	-0,549***	-0,448***	-0,515***	-0,428***	-0,263*	-0,249*
CON d2	-0,31*	-0,303*	-0,478***	-0,389***	-0,438***	-0,353**	-0,24*	-0,258*
Test de dígitos directos WAIS								
	-0,284*		-0,29**	-0,308**	-0,258*	-0,252*		
Test de dígitos inversos WAIS								
	-0,301*		-0,329**	-0,272*				
Test de letras y números WAIS								
	-0,404**		-0,503***	-0,338**	-0,44***	-0,329**		-0,236*
Coordinación bimanual								
	0,459***		0,547***	0,389***	0,469***	0,343**		
Coordinación visomotora								
	0,3914**		0,554***	0,423***	0,452***	0,373***		

Tabla A6. Correlaciones del test de antisácadas horizontales (II). Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros de recuento de movimientos sacádicos y error de la mirada del test de antisácadas horizontales y los test psicométricos realizados.

	Error positivo medio	Desviación típica del error positivo	Error negativo medio	Desviación típica del error negativo	Número de antisácadas correctas	Número de antisácadas corregidas	Número de antisácadas incorrectas	Número de sácadas reflexivas de 2º orden	Número de antisácadas anticipadas
Puntuación global PHES	-0,35***	-0,333**	0,296**	-0,308**	0,475***		-0,4***	-0,23*	
DST	-0,406***	-0,377**	0,422***	-0,343**	0,497***		-0,426***	-0,276**	-0,257*
NCT-A	0,333**		-0,394***	0,415***	-0,469***		0,42***	0,258*	
NCT-B	0,372***	0,264*	-0,446***	0,49***	-0,57***		0,502***	0,268*	0,283**
SD	0,287*	0,311**	-0,258*	0,284*	-0,389***		0,223*	0,274**	
LTT	0,338**	0,398***	-0,369***	0,444***	-0,509***		0,429***		
Tarea congruente Stroop	-0,311**	-0,233*	0,251*	-0,323**	0,331***		-0,222*		
Tarea neutra Stroop	-0,267*	-0,23*	0,258*	-0,28*	0,511***		-0,383***	-0,229*	
Tarea incongruente Stroop	-0,264*		0,341**	-0,306**	0,536***		-0,367***	-0,214*	-0,221*
SDMT Oral	-0,358***	-0,374***	0,441***	-0,429***	0,554***		-0,505***	-0,286**	-0,243*
TR d2	-0,274*	-0,242*	0,222*	-0,327**	0,397***		-0,309**	-0,201*	-0,214*
TA d2	-0,261*		0,288**	-0,36**	0,413***		-0,358***		-0,241*
O d2			-0,356***	0,256*					
C d2			-0,296**	0,238*	-0,257*		0,267**		
TOT d2	-0,281**	-0,238*	0,283**	-0,374**	0,424***		-0,361***	-0,205*	-0,242*
CON d2	-0,255*		0,302**	-0,363**	0,409***		-0,359***		-0,249*
Test de dígitos directos WAIS			0,251*		0,352***		-0,342***	-0,217*	
Test de dígitos inversos WAIS			0,379***	-0,368**	0,43***		-0,367***		
Test de letras y números WAIS	-0,271*		0,4***	-0,409***	0,443***		-0,412***		
Coordinación bimanual	0,349**	0,348**	-0,297**	0,35**	-0,432***		0,401***		
Coordinación visomotora	0,39***	0,38***	-0,423***	0,428***	-0,45***	-0,197*	0,483***	0,205*	0,211*

Tabla A7. Correlaciones del test de antisacadas verticales (I). Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros de latencia y duración de los movimientos sacádicos del test de antisacadas verticales y los test psicométricos realizados.

Antisacadas principales		Sácadadas reflexivas				
	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Latencia media	Desviación típica de la latencia	Duración media	Desviación típica de la duración
Puntuación global PHES						
DST	-0,376**		-0,434***		-0,304**	
	-0,322*		-0,53***		-0,358**	
NCT-A	0,388**		0,532***		0,398***	
NCT-B	0,4**		0,549***		0,38***	
SD	0,36**		0,346**		0,252*	
LTT	0,385**	0,351*	0,422***		0,28*	
Tarea congruente Stroop						
			-0,405***		-0,279*	
Tarea neutra Stroop	-0,333**		-0,487***	-0,267*	-0,382***	
Tarea incongruente Stroop	-0,324*		-0,451***	-0,304*	-0,31**	
SDMT Oral	-0,471***	-0,38*	-0,601***	-0,259*	-0,404***	
TR d2	-0,338*	-0,332*	-0,446***		-0,283*	
TA d2	-0,335*		-0,39***		-0,306**	
C d2			0,303**			
TOT d2	-0,39**	-0,37*	-0,453***		-0,306**	
CON d2	-0,327*		-0,395***		-0,297**	
Test de dígitos directos WAIS						
	-0,3*					
Test de dígitos inversos WAIS	-0,295*		-0,27*	-0,265*		
Test de letras y números WAIS	-0,438***	-0,357*	-0,478***	-0,436***	-0,4***	-0,327*
Coordinación bimanual	0,416**		0,55***		0,399***	
Coordinación visomotora	0,468***		0,585***		0,44***	

Tabla A8. Correlaciones del test de antisacadas verticales (II). Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros de recuento de movimientos sacádicos y error de la mirada del test de antisacadas verticales y los test psicométricos

	Error positivo medio	Desviación típica del error positivo	Error negativo medio	Desviación típica del error negativo	Número de antisacadas correctas	Número de antisacadas corregidas	Número de antisacadas incorrectas	Número de sacadas reflexivas de 2º orden	Número de antisacadas anticipadas
Puntuación global PHES	-0,383**	-0,301*	0,294**		0,451***		-0,428***		-0,229*
DST	-0,403**		0,339**	-0,312*	0,454***	0,279**	-0,493***		-0,311**
NCT-A	0,293*		-0,356**		-0,437***		0,463***		0,241*
NCT-B	0,308*		-0,341**	0,349**	-0,496***		0,426***		0,438***
SD			-0,276*		-0,358***		0,331**		
LTT	0,422***		-0,262*		-0,461***		0,424***		0,225*
Tarea congruente Stroop	-0,266*				0,363***		-0,366***	-0,251*	
Tarea neutra Stroop	-0,354**		0,378***	-0,289*	0,421***	0,239*	-0,486***		-0,251*
Tarea incongruente Stroop	-0,301*		0,309**		0,42***		-0,416***		-0,263*
SDMT Oral	-0,378**		0,387***	-0,373**	0,486***	0,301**	-0,504***		-0,334***
TR d2	-0,297*		0,235*		0,42***		-0,366***		
TA d2	-0,281*			-0,274*	0,39***		-0,387***		
C d2					-0,232*		0,275**		
TOT d2	-0,303*		0,26*	-0,285*	0,429***		-0,397***		
CON d2	-0,272*			-0,271*	0,388***		-0,396***		
Test de dígitos directos WAIS			0,265*		0,271*	0,222*	-0,377***		-0,338**
Test de dígitos inversos WAIS			0,339**	-0,33*	0,42***	0,256*	-0,393***		
Test de letras y números WAIS			0,305**		0,494***	0,24*	-0,391***		-0,436***
Coordinación bimanual	0,293*		-0,286*	0,294*	-0,383***		0,472***		
Coordinación visomotora	0,389**	0,312*	-0,431***	0,366**	-0,39***	-0,271**	0,491***		0,307**

Tabla A9. Correlaciones del test de seguimiento horizontal. Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros del test de seguimiento horizontal y los test psicométricos realizados.

	Sácdas Catch- up	Sácdas Back-up	SWJ	Tiempo de seguimiento	Latencia	ECM de posición total	ECM de posición durante el seguimiento	Ganancia media	ECM de velocidad durante el seguimiento
Puntuación global PHES		-0,293**	-0,229*			-0,307**	-0,305**	0,327**	
DST		-0,262*			-0,32**	-0,391***	-0,393***	0,382***	-0,218*
NCT-A	0,21*	0,263*	0,268*	-0,247*	0,357***	0,39***	0,392***	-0,478***	
NCT-B				-0,239*	0,349**	0,449***	0,449***	-0,489***	
SD			0,308**			0,382***	0,381***	-0,267*	
LTT		0,232*				0,332**	0,336**	-0,383***	
Tarea congruente Stroop		-0,206*		0,253*	-0,284**	-0,35***	-0,353***	0,367***	
Tarea neutra Stroop		-0,336***		0,297**	-0,28**	-0,362***	-0,365***	0,363***	
Tarea incongruente Stroop		-0,241*		0,229*	-0,268**	-0,283**	-0,28**	0,289**	
SDMT Oral		-0,302**		0,23*	-0,323**	-0,398***	-0,401***	0,408***	
TR d2					-0,222*	-0,208*	-0,214*		
TA d2			-0,269**		-0,214*	-0,278**	-0,278**	0,249*	
C d2					0,279**				
TOT d2			-0,217*		-0,234*	-0,254*	-0,258*	0,23*	
CON d2			-0,245*		-0,237*	-0,284**	-0,284**	0,244*	
Test de dígitos directos WAIS					-0,219*			0,234*	
Test de dígitos inversos WAIS		-0,21*			-0,343**	-0,357***	-0,357***	0,303**	-0,265*
Test de letras y números WAIS					-0,318**	-0,47***	-0,473***	0,386***	
Coordinación bimanual	0,264*	0,32**	0,27**	-0,248*		0,392***	0,394***	-0,477***	
Coordinación visomotora	0,228*	0,328**	0,274**	-0,272**	0,249*	0,416***	0,413***	-0,459***	

Tabla A10. Correlaciones del test de seguimiento vertical. Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros del test de seguimiento vertical y los test psicométricos realizados.

	Sácadass Catch- up	Sácadass Back-up	SWJ	Tiempo de seguimiento	ECM de posición total	ECM de posición durante el seguimiento	Ganancia media	ECM de velocidad durante el seguimiento
Puntuación global PHES			-0,241*		-0,347***	-0,351***	0,314**	
DST		-0,227*	-0,314**		-0,422***	-0,428***	0,412***	-0,234*
NCT-A		0,282*	0,487***	-0,244*	0,442***	0,443***	-0,337***	
NCT-B		0,294*	0,371***	-0,236*	0,5***	0,51***	-0,417***	
SD			0,282*		0,265*	0,263*	-0,27*	
LTT					0,386***	0,391***	-0,422***	
Tarea congruente Stroop				0,231*	-0,314**	-0,317**	0,397***	
Tarea neutra Stroop		-0,251*	-0,238*	0,339**	-0,412***	-0,417***	0,384***	-0,24*
Tarea incongruente Stroop		-0,281**	-0,26*		-0,383***	-0,389***	0,311**	
SDMT Oral			-0,254*		-0,382***	-0,395***	0,348***	
TR d2			-0,241*					
TA d2			-0,308**		-0,279*	-0,279*		
O d2		0,247*						
C d2			0,228*					
TOT d2			-0,275*		-0,263*	-0,263*		
CON d2			-0,322**		-0,293**	-0,293**		
Test de dígitos directos WAIS					-0,287**	-0,296**		
Test de dígitos inversos WAIS		-0,277*	-0,272*		-0,422***	-0,427***	0,235*	
Test de letras y números WAIS		-0,303**	-0,267*		-0,42***	-0,43***	0,398***	
Coordinación bimanual			0,347**		0,33**	0,329**	-0,358***	
Coordinación visomotora	0,271*		0,412***	-0,313**	0,502***	0,498***	-0,334**	0,343**

Tabla A11. Correlaciones del test de seguimiento sinusoidal. Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros del test de seguimiento sinusoidal y los test psicométricos realizados.

	Sácdas Catch- up	Sácdas Back-up	SWJ	Tiempo de seguimiento	Latencia	ECM de posición total	ECM de posición durante el seguimiento	Ganancia media	ECM de velocidad durante el seguimiento
Puntuación global PHES						-0,284*	-0,285*		
DST	-0,286*			0,238*	-0,307*	-0,357**	-0,361**	0,275*	-0,317**
NCT-A	0,295*	0,325**	0,28*	-0,288*		0,385**	0,384**	-0,345**	0,251*
NCT-B		0,325**	0,228*	-0,279*	0,233*	0,427***	0,423***	-0,324**	0,284*
SD						0,276*	0,28*		
LTT				-0,24*	0,299*	0,367**	0,368**		
Tarea congruente Stroop	-0,284*	-0,222*			-0,243*	-0,274*	-0,276*	0,223*	
Tarea neutra Stroop				0,239*		-0,286*	-0,291*	0,283*	
Tarea incongruente Stroop						-0,284*	-0,282*	0,258*	
SDMT Oral	-0,261*	-0,305**	-0,236*	0,341**		-0,415***	-0,418***	0,319**	-0,239*
TR d2									-0,285*
TA d2		-0,242*	-0,24*			-0,281*	-0,28*		-0,363**
C d2					0,365**	0,24*	0,243*	-0,262*	0,313**
TOT d2		-0,228*			-0,234*	-0,26*	-0,259*		-0,34**
CON d2		-0,241*	-0,232*		-0,239*	-0,293*	-0,291*	0,237*	-0,374**
Test de dígitos directos WAIS			-0,251*	0,315*					-0,308*
Test de dígitos inversos WAIS		-0,296*		0,252*		-0,345**	-0,341**	0,264*	-0,31*
Test de letras y números WAIS				0,316*		-0,465***	-0,455***	0,319*	-0,239*
Coordinación bimanual	0,325**	0,289*	0,279*	-0,282*	0,228*	0,421***	0,428***	-0,373**	
Coordinación visomotora	0,327**	0,338**		-0,301*	0,236*	0,425***	0,426***	-0,319**	0,259*

Tabla A12. Correlaciones del test de fijación (I). Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros de recuento de movimientos oculares y precisión de la mirada del test de fijación y los test psicométricos realizados.

	Parpadeos	Sácadasy voluntarias	SWJmonofásicos	SWJbifásicos	Distracciones	BCEA	Errorhorizontal de posición medio	Errorvertical de posición medio	Desviación típica de la posición horizontal	Desviación típica de la posición vertical
Puntuación global PHES						-0,285*			-0,296*	
DST					-0,251*			-0,326*	-0,333*	-0,313*
NCT-A		0,255*		0,276*		0,315*			0,32*	
NCT-B		0,321*			0,308*	0,301*			0,29*	0,285*
SD						0,291*			0,31*	
LTT		0,254*				0,315*			0,297*	0,262*
Tarea congruente Stroop		-0,248*				-0,295*		-0,246*	-0,278*	-0,288*
Tarea neutra Stroop		-0,262*				-0,322*		-0,307*	-0,328*	-0,281*
Tarea incongruente Stroop	-0,297*	-0,296*				-0,362*		-0,294*	-0,321*	-0,316*
SDMT Oral		-0,296*		-0,254*		-0,319*		-0,259*	-0,341*	
TR d2		-0,337*	-0,267*			-0,275*			-0,263*	
TA d2		-0,315*				-0,279*			-0,268*	
TOT d2		-0,34*	-0,257*			-0,291*			-0,276*	
CON d2		-0,306*				-0,262*				
Test de dígitos inversos WAIS		-0,289*					-0,287*			
Test de letras y números WAIS						-0,257*		-0,305*	-0,31*	
Coordinación bimanual		0,246*				0,25*			0,284*	
Coordinación visomotora	0,249*					0,288*		0,32*	0,312*	

Tabla A13. Correlaciones del test de fijación (II). Relación completa de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros de características de los movimientos oculares del test de fijación y los test psicométricos realizados.

	Amplitud media de las microsácadas	Velocidad media de las microsácadas	Velocidad máxima media de las microsácadas	Desviación típica de la velocidad máxima de las microsácadas	Velocidad media de los drifts	Velocidad máxima media de los drifts
Puntuación global PHES	-0,303*	-0,266*	-0,25*			
DST	-0,287*	-0,266*				
NCT-A	0,36*	0,309*	0,326*			
NCT-B						
SD		0,263*				
LTT	0,26*	0,284*				
SDMT Oral	-0,253*					
C d2				-0,28*		
Coordinación bimanual	0,301*	0,34*	0,301*			
Coordinación visomotora	0,284*	0,262*	0,259*		0,323*	0,321*

Anexo 2: Informe del comité ético sobre las investigaciones realizadas

INFORME DEL COMITE ETICO DE INVESTIGACION CLINICA DEL HOSPITAL CLINIC UNIVERSITARI DE VALENCIA

Don Diego V. Cano Blanquer, Secretario del Comité Ético de Investigación del Hospital Clínic Universitari de Valencia

CERTIFICA

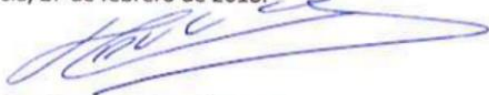
Que en este Comité, en su reunión de fecha 27 de febrero de 2018, y según consta en el acta de la misma, se han analizado los aspectos éticos y científicos relacionados al proyecto de investigación que lleva por título:

Caracterización de las alteraciones neurológicas y cerebrales en pacientes con encefalopatía hepática mínima. Contribución de la inflamación. Implicaciones diagnósticas y terapéuticas

Mismo que será llevado a cabo en el Laboratorio de Deterioro Neurológico del Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA en colaboración con el Servicio de Medicina Digestiva y cuya investigadora principal es la Dra. Carmina Montoliu Félix, acordando que reúne las características adecuadas referentes a información a los pacientes y cumplimiento de los criterios éticos para la investigación médica y biomédica establecidos en la ***Declaración de Helsinki*** (Junio 1964, Helsinki, Finlandia) de la Asamblea Médica Mundial, y sus revisiones (Octubre 1975, Tokio, Japón), (Octubre 1983, Venecia, Italia), (Septiembre 1989, Hong Kong), (Octubre 1996, Somerset West, Sudáfrica), (Octubre 2000, Edimburgo), (Octubre 2008 Seúl, Corea) y (Octubre 2013 Fortaleza, Brasil) y en la ***Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos del Hombre de la UNESCO*** y los acuerdos del ***Protocolo Adicional del Consejo de Europa para la protección de los Derechos del Hombre y de la dignidad del ser humano frente a la aplicaciones de la biología y de la medicina*** (Paris 12-1-1998, ratificado el 23-7-1999).

Lo que certifico a efectos oportunos de la convocatoria de Ayudas a Proyectos de Investigación en Salud del Instituto de Salud Carlos III 2018.

Valencia, 27 de febrero de 2018.



Fdo. : Don Diego V. Cano Blanquer
Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica

Valencia, 02 de marzo de 2018

Estimada Dra. Montoliu,

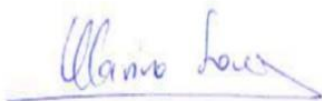
El motivo de la presente es informarle que en la pasada reunión del Comité de Ética del Hospital Clínico Universitario de Valencia de fecha 27 de febrero de 2018, ha sido evaluado el proyecto titulado "Caracterización de las alteraciones neurológicas y cerebrales en pacientes con encefalopatía hepática mínima. Contribución de la Inflamación. Implicaciones diagnósticas y terapéuticas" del cual usted es la investigadora principal.

En dicha evaluación, se acordó informar favorablemente.

Así mismo, se le informa que la legislación vigente en investigaciones donde se va a proceder a la toma de muestras de pacientes, es la Ley 14/2007 de 3 de julio, de Investigación Biomédica y estas investigaciones deberán cumplir dicha normativa.

En caso de requerir información adicional, no dude en ponerse en contacto con la secretaria del Comité.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.



Dra. Marina Soro Domingo
Presidenta del Comité Ético de Investigación