

# Recomendaciones para la utilización de la determinación de amonio en plasma en el Laboratorio Clínico

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular.  
Comité Científico  
Comisión Magnitudes Biológicas relacionadas con la Urgencia Médica  
Documento I. Fase 3. Versión 5

Preparado por:

R. Díaz García, A. Buño Soto, A. Galán Ortega, P. Guevara Ramírez, E. Guillén Campuzano, J.L. Marín Soria, M. Muñoz Pérez, X. Navarro Segarra, P. Oliver Sáez, N. del Río Barcenilla

## ÍNDICE

0. Introducción
1. Objeto y campo de aplicación
2. Fisiología del amonio
  - 2.1. Las fuentes del amonio
    - 2.1.1. Absorción intestinal
    - 2.1.2. Síntesis hepática
    - 2.1.3. Otras rutas metabólicas
  - 2.2. El amonio en los líquidos biológicos
  - 2.3. La eliminación del amonio
3. Patologías relacionadas con la hiperamoniemia
  - 3.1. Encefalopatía hepática
    - 3.1.1. Fisiopatología de la encefalopatía hepática
    - 3.1.2. Diagnóstico de la encefalopatía hepática
  - 3.2. Enfermedad de Alzheimer
  - 3.3. Errores congénitos del metabolismo
    - 3.3.1. Alteraciones del ciclo de la urea
    - 3.3.2. Acidemias orgánicas
    - 3.3.3. Defectos de la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos
    - 3.3.4. Síndrome de hiperinsulinismo/hiperamoniemia
  - 3.4. Enfermedad renal
  - 3.5. Terapias con determinados fármacos
    - 3.5.1. Ácido valproico
    - 3.5.2. Asparraginasa
4. Determinación del amonio
5. Recomendaciones
6. Bibliografía

## 0. INTRODUCCIÓN

El amonio es un producto tóxico del metabolismo nitrogenado. Se forma a partir de la degradación de aminoácidos y de otros compuestos que contienen nitrógeno. En el hígado se convierte en

urea a través de reacciones enzimáticas y de este modo se elimina del organismo.

Las enfermedades que comprometen la eliminación del amonio son las causantes de la hiperamoniemia y en consecuencia de la intoxicación por amonio del organismo.

El amonio es un compuesto altamente neurotóxico y su acumulación en sangre y secundariamente en sistema nervioso central es responsable, aunque no de forma exclusiva, del desarrollo de la encefalopatía hepática y en último extremo del coma hepático.

## 1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

La medida de la concentración sanguínea de amonio, tanto en pacientes adultos como en pacientes pediátricos, se utiliza para el diagnóstico y seguimiento de determinadas patologías como el daño hepático grave, el síndrome de Reye, el coma de origen desconocido, los errores congénitos del metabolismo relacionados con el ciclo de la urea, las acidemias orgánicas, el síndrome de hiperinsulinismo/hiperamoniemia y para algunas patologías renales.

La determinación de amonio también es utilizada en algunos casos para ayudar a conocer a qué se deben los cambios en la conducta o en el grado de conciencia de un paciente.

Este documento sobre "Recomendaciones para la utilización de la determinación de amonio en plasma en el laboratorio clínico" revisa las diversas patologías relacionadas con la hiperamoniemia y las diferentes técnicas de laboratorio utilizadas para su determinación.

## 2. FISIOLÓGÍA DEL AMONIO

La palabra amonio tiene su origen en el templo de Siva, situado en el antiguo Egipto y dedicado al dios Amón. Debido al estiércol de camello, que los sacerdotes usaban como combustible, en las paredes y techos del templo se formaban unas sales que recibieron el nombre de "sal ammoniaca" en referencia al dios egipcio.

El amoniaco es un compuesto químico cuya molécula está constituida por un átomo de nitrógeno y tres átomos de hidrógeno ( $\text{NH}_3$ ). El amonio es su catión asociado y su fórmula es  $\text{NH}_4^+$ .

Composición de la Comisión  
A. Buño Soto (Presidente), R. Díaz García, A. Galán Ortega, P. Guevara Ramírez, E. Guillén Campuzano, J.L. Marín Soria, M. Muñoz Pérez, X. Navarro Segarra, P. Oliver Sáez, N. del Río Barcenilla.

## 2.1. Las fuentes del amonio

Las principales fuentes de amonio sanguíneo son:

### 2.1.1. Absorción intestinal

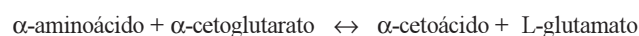
Absorción a nivel intestinal del amonio formado en el tubo digestivo por degradación bacteriana de las proteínas de la dieta y de la urea presente en el intestino. Tras su absorción llega al hígado por la circulación portal.

### 2.1.2. Síntesis hepática

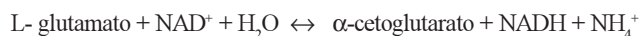
El hígado es la principal fuente endógena de amonio, cuya síntesis se inicia con el catabolismo de los aminoácidos (1). Este proceso sigue una doble vía:

A) *Separación de grupos amino*. Constituye el primer paso del metabolismo de los aminoácidos, convirtiendo sus grupos amino en urea y otros productos de excreción nitrogenados. Las dos rutas enzimáticas principales implicadas en esta etapa son:

1. *Transaminaciones*. Son reacciones catalizadas por transaminasas o aminotransferasas, tales como GOT o GPT. Tienen como coenzima el piridoxal fosfato que actúa de transportador de grupos amino. Estos grupos amino son transferidos a alfa-cetoglutarato para formar L- glutamato.



2. *Desaminación oxidativa del L-glutamato a  $\alpha$ -cetoglutarato*, catalizada por la glutamato-deshidrogenasa (GDH).

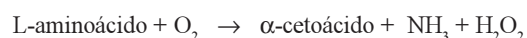


Se separan así los grupos amino, en forma de  $\text{NH}_4^+$ , que van a entrar en el ciclo de la urea.

B) *Degradación del esqueleto carbonado*. Los esqueletos carbonados de los veinte diferentes aminoácidos se canalizan hacia siete compuestos: piruvato, acetil-CoA, acetoacetylCoA,  $\alpha$ -ceto-glutarato, succinilCoA, fumarato y oxalacetato, que se incorporan al ciclo de Krebs o de los ácidos tricarbónicos.

### 2.1.3. Otras rutas catabólicas

Pequeñas cantidades de amoniaco se forman por rutas catabólicas de menor importancia tales como la desaminación oxidativa a través de L-aminoácido oxidasas y la oxidación aeróbica de diversas aminas fisiológicas, como la adrenalina y la dopamina (2).



## 2.2. El amonio en los líquidos biológicos

En los líquidos biológicos el amonio está presente de dos formas: como ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y como amoniaco ( $\text{NH}_3$ ). A pH fisiológico (7,4) el 98% del amonio sanguíneo se encuentra en forma ionizada y sólo el 2% como no ionizada. En el líquido intracelular, donde el pH es aproximadamente igual a 7, incluso se encuentra una fracción más pequeña de amoniaco. A medida que el pH aumenta también lo hace la fracción de amoniaco. Como las membranas biológicas son mucho más permeables a las moléculas no ionizadas que a las ionizadas sólo el  $\text{NH}_3$  libre difunde a través de ellas. Esto

tiene especial relevancia en el caso de la barrera hematoencefálica ya que el amonio libre es un importante neurotóxico y su acumulación se encuentra asociada a la disfunción y al daño cerebral.

## 2.3. La eliminación del amonio

Muchos grupos amino derivados del metabolismo de los aminoácidos son reutilizados en la síntesis de nuevos aminoácidos. Los restantes deben ser eliminados del organismo siendo excretados fundamentalmente como urea.

El organismo se deshace del amonio por medio de:

A) *La urea*. La mayor parte del amonio es eliminado por formación de urea a través del denominado ciclo de la urea, que tiene lugar en el hígado (figura 1).

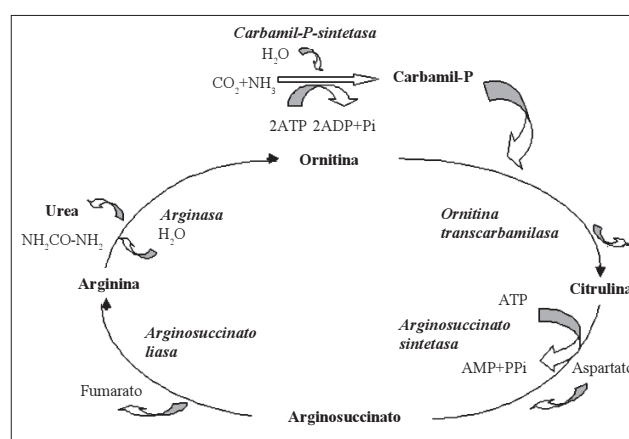
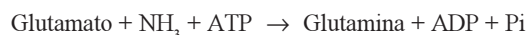


Figura 1. Ciclo de la urea.

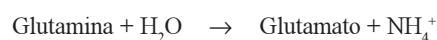
Los grupos amino procedentes de las reacciones de desaminación oxidativa del L-glutamato penetran en el ciclo de la urea y tras una serie de reacciones en las que las enzimas participantes son carbamilsintetasa (CPS), que es la enzima reguladora del ciclo, ornitina transcarbamilasa (OTC), arginossuccinato sintetasa (ASS), arginossuccinato liasa (ASL) y arginasa, se obtiene como producto final la urea, que va a ser eliminada por la orina.

B) *La glutamina*. Se forma a partir del ácido glutámico, principalmente en el hígado, pero también en el cerebro y en el músculo esquelético. Esta reacción es catalizada por la glutamina sintetasa.



La glutamina, junto con la alanina, son los aminoácidos con mayor concentración media en el plasma y se cree que ambos representan una forma no tóxica de depósito y transporte del amoniaco desde el músculo y otros tejidos hacia el hígado.

La glutamina sintetizada en el hígado es transportada por la sangre a los riñones y constituye la fuente principal de la génesis renal del amonio. En los túbulos renales es hidrolizada de nuevo a ácido glutámico, que pierde su nitrógeno amínico en forma de ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) por acción de la glutaminasa que está localizada principalmente en riñón.



El amonio así formado se excreta en la orina y constituye, junto con el fosfato, los dos tampones más importantes del sistema urinario.

No obstante, parte de la glutamina circulante también puede ser hidrolizada en el hígado por la glutaminasa hepática para dar iones amonio que serán convertidos en urea o reutilizados en la síntesis de aminoácidos.

### 3. PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON LA HIPERAMONIEMIA

Las patologías relacionadas con la hiperamoniemia tienen un origen muy diverso, aunque su manifestación final suele ser la aparición de daño neurológico. A continuación se detallan las principales características de estas patologías que tienen que ver con el exceso de amonio.

#### 3.1. Encefalopatía hepática

El hígado normofuncionante metaboliza la mayor parte del amonio que llega por la vena porta. De esta forma se garantiza la ausencia de su paso a la circulación sistémica, lo que resulta esencial pues cantidades mínimas de amonio son muy tóxicas para el sistema nervioso central (SNC).

La enfermedad hepática grave es la etiología más frecuente en la hiperamoniemia. La disfunción hepática puede comprometer seriamente la eliminación de este compuesto, por lo que su concentración sanguínea aumenta produciéndose una intoxicación por amonio.

Todo esto se debe a que los hepatocitos dañados son incapaces de metabolizar el amonio y convertirlo en urea, por lo que pasa inalterado a la circulación general (3). Además, por el desarrollo de una hipertensión portal y la aparición de circulación colateral portosistémica también se va a presentar derivación de sangre rica en amonio de origen intestinal desde el sistema porta a la circulación general, aunque la función hepática residual siguiese siendo efectiva.

La encefalopatía hepática (EH) se define como un síndrome neuropsiquiátrico caracterizado por la alteración del estado mental de pacientes con enfermedad hepática y/o shunt portosistémico asociado a la presencia de hipertensión portal. Se puede dividir en:

- *Encefalopatía tipo A.* Se puede presentar en individuos con enfermedad aguda del hígado que progresa a fallo hepático fulminante.
- *Encefalopatía tipo B.* En raras ocasiones la encefalopatía se puede presentar por una derivación portosistémica quirúrgica en ausencia de enfermedad hepática.
- *Encefalopatía tipo C.* Se puede presentar en personas que tienen enfermedad hepática crónica avanzada (cirrosis) con hipertensión portal. Dentro del tipo C asociado a la cirrosis se incluye la encefalopatía hepática mínima (EHM).

La etiología de la EH debe ser considerada multifactorial ya que pueden contribuir varias causas a su desarrollo: hemorragia digestiva; hipocaliemia frecuentemente desencadenada por el uso excesivo de diuréticos y ligada a la alcalosis metabólica; infecciones graves normalmente asociadas a estados hipercatabólicos; insuficiencia renal; uso de sedantes, etc. Sin embargo, las manifestaciones clínicas de la EH se deben a la derivación de sustancias potencialmente nocivas para el sistema nervioso central desde la circulación portal a la circulación sistémica.

La reversibilidad de la encefalopatía hepática y la ausencia de alteraciones morfológicas neuronales sugieren que se trata de un

trastorno metabólico, y la principal sustancia neurotóxica implicada en la patogénesis de esta enfermedad es el amonio. Sin embargo, dado que el 10-20% de los pacientes con EH tienen concentraciones sanguíneas de amonio fisiológicas, es evidente que no es el único mecanismo responsable (4).

#### 3.1.1. Fisiopatología de la encefalopatía hepática

Son múltiples las hipótesis que han sido descritas como posibles desencadenantes de la EH. Todas parecen intervenir en la fisiopatología de este síndrome, pero hay tres que explican mejor el cuadro neuropsiquiátrico: la toxicidad del amonio, la intervención de falsos neurotransmisores, y el aumento de la actividad del ácido gammaaminobutírico (GABA) y benzodiazepinas endógenas.

Dado que el tema que nos ocupa es el amonio, se va a reseñar únicamente la hipótesis relacionada con su toxicidad.

#### Toxicidad del amonio

Ante una alteración importante de la función hepática la eliminación del amonio se compromete seriamente. El exceso que llega al torrente sanguíneo sistémico logra pasar al cerebro a través de la barrera hematoencefálica, dando lugar a un complejo conjunto de cambios que afectan a múltiples sistemas de transmisión nerviosa. Esto es aún más importante si se presenta un aumento de pH, ya que en estas condiciones se produce un incremento de la forma no ionizada, que atraviesa con más facilidad la membrana celular. La toxicidad del amonio se debe a varias causas:

1º El amonio inactiva la función neurotransmisora del glutamato. El glutamato es considerado, desde la década de los sesenta, el principal neurotransmisor excitador, con una amplia e intensa distribución en el SNC, pero ante el exceso de amonio se convierte en glutamina que no posee dicha propiedad. En el cerebro, y concretamente en los astrocitos, el amonio se une al glutamato y es transformado en glutamina por medio de la glutaminasintetasa, aumentando de esta forma la relación glutamina/glutamato y produciéndose así un déficit de la función de excitación a nivel de la sinapsis en el sistema nervioso central. Esto se traduce en una disminución de la transmisión nerviosa (5).

2º Se ha identificado que el amonio en el cerebro produce inhibición de los receptores de glutamato, tanto en los NMDA (N-metil-D-aspartato) como en los no-NMDA, disminuyendo de esta forma la actividad neuroexcitatoria.

3º Concentraciones elevadas de amonio en el cerebro producen un aumento de glutamina en los astrocitos. Esto da lugar a un desequilibrio osmótico que va a provocar una retención de agua responsable primero de la hiperhidratación celular y después del edema cerebral (6, 7). Para tratar de evitar este problema se pone en funcionamiento la bomba de sodio-potasio ATPasa, que transporta sodio hacia el exterior celular e inicia de esta forma una tendencia osmótica opuesta de salida de agua de la célula, lo que es esencial para el mantenimiento del volumen celular y la transmisión del impulso nervioso.

Todo este proceso requiere un importante gasto energético que conduce a una depleción del ATP, que es la fuente de energía cerebral. La reducción de ATP afecta al metabolismo celular, a las bombas iónicas dependientes de energía y a la capacidad de las células de mantener su potencial de membrana en reposo.

Aunque las primeras investigaciones establecieron que la hipótesis del desequilibrio osmótico inducido por la acumulación de glutamina en los astrocitos es la que mejor explica el edema cerebral,

estudios recientes cuestionan que pueda darse por definitiva la relación entre las alteraciones en los astrocitos y los cambios en el metabolismo energético del cerebro, por lo que se requieren nuevas investigaciones sobre la dinámica del metabolismo cerebral que precisen mejor la función de la acumulación de glutamina (8).

4º El amonio provoca también una disminución de  $\alpha$ -cetoglutarato en el cerebro y en el hígado, pues se une a este compuesto para formar glutamato. Esto supone la retirada de un intermediario del ciclo de los ácidos tricarbónicos y por tanto una bajada en el ritmo de actividad del ciclo de Krebs, que se traducirá en una disminución de la producción de ATP, que es la fuente de energía para el cerebro.

### 3.1.2. Diagnóstico de la encefalopatía hepática

El diagnóstico de la EH se basa fundamentalmente en el examen físico y en criterios clínicos, debiendo pensar en ella en el caso de un paciente que presenta disfunción hepática grave con alteración neurológica y del estado de conciencia. Sin embargo, las pruebas bioquímicas, y en especial la concentración de amonio, ayudan a confirmar o excluir el diagnóstico y a monitorizar la respuesta al tratamiento (9).

Existen numerosos estudios que manifiestan que la gravedad de esta patología es mayor en pacientes con concentraciones elevadas de amonio. Además, recientemente ha sido reevaluada la relación entre amonio y el grado de encefalopatía hepática y los resultados obtenidos establecen una vez más su importancia en este proceso (10, 11, 12).

No obstante, la hiperamoniemia no es patognomónica de la EH. Una concentración elevada de amonio indica una disminución de su aclaramiento hepático y no que el paciente sufra necesariamente este cuadro.

La determinación de amonio se puede utilizar no sólo como soporte al diagnóstico y pronóstico de la EH, sino también para detectar pacientes con encefalopatía hepática mínima (EHM), aquellos que presentan mayor riesgo de desarrollar a corto plazo una EH. Para esto se emplea la prueba de la sobrecarga oral de glutamina o prueba de la glutamina oral. Consiste en evaluar las concentraciones de amonio sanguíneos obtenidos tras la administración oral de glutamina. Así, pacientes con cirrosis hepática y con concentraciones de amonio por encima de 75  $\mu\text{mol/L}$ , 60 minutos después de la ingestión de 10 g de glutamina, presentaron un 25% más de riesgo de desarrollar una EH (13).

El uso de esta prueba permitiría establecer de forma más objetiva qué pacientes serían candidatos a ensayos clínicos que posibiliten los estudios de tratamientos nuevos más eficaces, y quizás también podría emplearse para dar prioridad a la lista de espera de trasplantes.

## 3.2. Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer es la alteración neurodegenerativa que se relaciona con más frecuencia con la edad. Alteraciones en la capacidad cognitiva, de la memoria y de la conducta son los síntomas característicos de esta patología.

Se han publicado gran número de posibles factores etiológicos y patogénicos responsables de esta enfermedad. Entre los factores tóxicos, el amonio requiere especial interés por las razones siguientes:

a) El amonio se sintetiza en casi todos los órganos y tejidos del organismo y es el compuesto neurotóxico endógeno más común. En

el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer se ha demostrado una síntesis excesiva de este compuesto, y también se ha visto que algunos de estos pacientes presentan concentraciones sanguíneas elevadas.

b) La no eliminación del amonio conduce a graves patologías. Así, varios síntomas y daños histológicos de la encefalopatía hepática, en la que el amonio ha sido reconocido como un factor patógeno, se asemejan a los encontrados en la enfermedad de Alzheimer.

c) La lesión y posterior destrucción neuronal que se produce en el Alzheimer está en relación con la aparición de depósitos extra e intracelulares de amiloide. El elemento fundamental de estos depósitos es la proteína  $\beta$ -amiloide, que es insoluble y se produce por una escisión anómala de la APP (proteína precursora de amiloide). El amonio es el modulador natural más importante en el proceso de síntesis de esta proteína.

d) Está ampliamente reconocido que en la patología del Alzheimer están implicados procesos inflamatorios y activadores de la microglía, y el amonio es capaz de afectar a las funciones características de este tejido nervioso, como la endocitosis y la producción de citoquinas.

Basándose en estos hechos se constata que el amonio es un compuesto que, no sólo es capaz de producir síntomas en la enfermedad de Alzheimer, sino que también puede afectar a la progresión de la enfermedad (14).

## 3.3. Errores congénitos del metabolismo

Los errores congénitos del metabolismo (ECM) son enfermedades de base genética en las que se producen alteraciones en diferentes rutas o ciclos metabólicos. Aunque la incidencia de cada una de ellas es baja, la creciente y continua descripción de nuevas enfermedades hace que, consideradas en conjunto, no sean infrecuentes: uno de cada 800 recién nacidos vivos nace con un ECM y el 50% de ellos desarrollan la enfermedad durante el periodo neonatal. Es por esto que las enfermedades metabólicas tienen cada vez mayor importancia en la patología del recién nacido.

Las consecuencias del mal funcionamiento de las vías metabólicas son variadas, pero pueden manifestarse como cuadros agudos en los que muchas veces la alteración analítica predominante es la hiperamoniemia. Estos cuadros agudos requieren diagnóstico y tratamiento urgente y se pueden presentar como una descompensación aguda en un paciente previamente diagnosticado o como una forma de presentación inicial de la enfermedad metabólica.

Los errores congénitos del metabolismo relacionados con concentraciones elevadas de amonio son sobre todo: los trastornos del ciclo de la urea, las acidemias orgánicas, algunos defectos de la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y el síndrome de hiperinsulinismo/hiperamoniemia.

### 3.3.1. Alteraciones del ciclo de la urea

El ciclo de la urea es un conjunto de reacciones metabólicas mediante las que el amonio, que procede de la degradación de los aminoácidos y otros compuestos nitrogenados, se transforma en urea soluble en agua. De esta forma se elimina del organismo por vía renal.

Aunque comúnmente se asocian con el periodo neonatal, la mayoría de las alteraciones del ciclo de la urea se detectan en la infancia (15). Los signos y síntomas suelen ser vagos, aunque

vinculados frecuentemente a daños neurológicos recurrentes, por lo que deben ser sospechados en niños que presenten especialmente manifestaciones neurológicas reiteradas, retraso del desarrollo, trastornos psiquiátricos y deterioro mental.

Deficiencias en las enzimas de la ureagénesis, cualitativas o cuantitativas, dan lugar a alteraciones en el ciclo de la urea. Esto implica la eliminación inadecuada del amonio y su acumulación en las células del organismo. Es decir, el grado de hiperamoniemia no indica *per se* la existencia de un defecto particular, sino la interrupción del ciclo de la urea. En base al tipo de deficiencia enzimática, se establece la siguiente clasificación:

- **Hiperamoniemia tipo I.** La deficiencia se produce en la enzima carbamilfosfato sintetasa (CPS-I), que es la enzima reguladora del ciclo de la urea.
- **Hiperamoniemia tipo II.** El fallo se produce en la enzima ornitina transcarbamilasa (OTC). La deficiencia de OTC es la más común y normalmente se detecta en neonatos y niños, pero se ha descrito algún caso en el que el diagnóstico fue realizado en el adulto, en el curso de un coma inexplicable (16).
- **Citrulinemia.** El fallo está en la enzima ácido argininsuccínico sintetasa (ASS).
- **Aciduria arginosuccínica.** El déficit está en la argininsuccinasa (ASL) y es el segundo defecto más frecuente.
- **Argininemia.** El fallo se encuentra en la enzima arginasa.

También se puede presentar una deficiencia de N-acetilglutamato sintetasa (NAGS), que es el activador más importante del ciclo de la urea y actúa sobre la enzima CPS. No obstante, este déficit ha sido descrito en muy pocos casos en la literatura. Asimismo, se generan hiperamoniemias importantes por fallos en el transporte de metabolitos intermediarios del ciclo, como sucede en el síndrome de hiperornitinemia-homocitrulinuria-hiperamoniemia (HHH), en el que el defecto se produce en el transporte de la ornitina a través de la membrana mitocondrial, que conduce a una alteración en el ciclo de la urea y a una concentración elevada en plasma de ornitina, amonio y citrulina (17,18).

La sospecha diagnóstica de una posible alteración en el ciclo de la urea se apoya sobre todo en dos pilares: por un lado, en los datos clínicos del paciente, que son muy semejantes sea cual sea el déficit enzimático; y por otro, en el estudio analítico donde el amonio es una magnitud fundamental. Sin embargo, para establecer un diagnóstico definitivo es necesario realizar un estudio enzimático específico que permita conocer de forma concreta cuál es la enzima deficitaria.

Es importante señalar que todos los pacientes con trastornos en el ciclo de la urea tienen riesgo de sufrir una descompensación metabólica. Esta descompensación puede precipitarse por diversas situaciones: excesiva ingesta proteica, estrés, dolor, infecciones, etc., pudiendo conducir en primer lugar a una hiperamoniemia, secundariamente a una encefalopatía y en último extremo al coma.

También es primordial tener en cuenta que pacientes con déficit de OTC requieren tratamiento específico en el curso de una anestesia, con el fin de evitar un desequilibrio metabólico que podría conducir a concentraciones elevadas de amonio en sangre y consecuentemente a una encefalopatía (19,20).

### 3.3.2. Acidemias orgánicas

Las acidemias orgánicas, también conocidas como acidurias orgánicas, constituyen un grupo de enfermedades metabólicas en

las que se halla un exceso de ácidos orgánicos en la sangre y en la orina (21).

El metabolismo de los aminoácidos implica un importante número de reacciones intermedias que generan gran cantidad de ácidos orgánicos. Las alteraciones en este metabolismo son la causa de distintas patologías que se caracterizan, sobre todo, por presentar importantes descompensaciones metabólicas, resultado de la acidosis sanguínea producida y la posterior aciduria (22).

La interrupción de algún paso del catabolismo de los aminoácidos va a ser responsable de las acidemias relacionadas con la hiperamoniemia que se muestran en la figura 2.

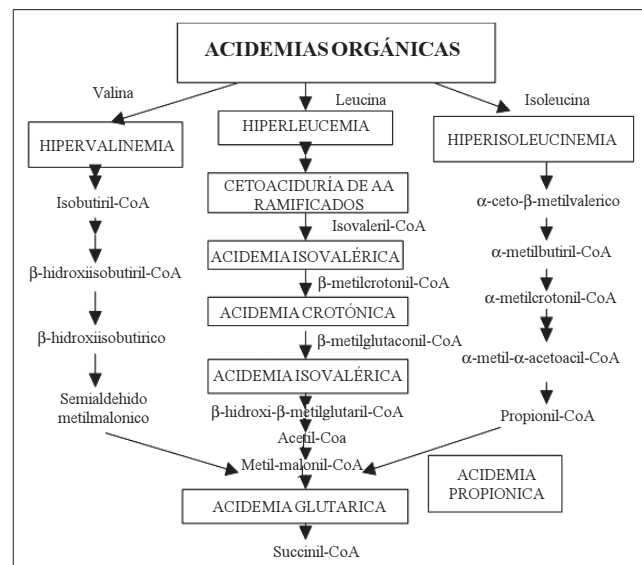


Figura 2. Acidemias orgánicas

La presencia de acidosis permite distinguir entre las alteraciones del ciclo de la urea y las acidemias orgánicas. Es decir, si un aumento de amonio se acompaña de acidosis se trata de un acidemia, pues la interrupción del ciclo de la urea no la produce.

### 3.3.3. Defectos de la β-oxidación de los ácidos grasos

Se han descrito diversos defectos enzimáticos relacionados con el proceso denominado β-oxidación de los ácidos grasos que tiene lugar en las mitocondrias y mediante el que se obtienen intermediarios como la acetil-CoA y la propionil-CoA. El más frecuente es la deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena media (MCAD = *medium chain acyl dehydrogenase deficiency*) o de ácidos grasos de cadena larga (LCAD = *long chain acyl dehydrogenase deficiency*).

A consecuencia de esta deficiencia se produce hipoglucemia e hiperamoniemia, que pueden desencadenar el coma e incluso la muerte.

### 3.3.4. Síndrome de hiperinsulinismo/hiperamoniemia

El síndrome de hiperinsulinismo/hiperamoniemia (HI/HA) representa la segunda forma más común de hiperinsulinismo congénito de base conocida. Se caracteriza por hipoglucemias sintomáticas recurrentes, secundarias a hiperinsulinismo y asociadas a un moderado incremento de la hiperamoniemia.

El HI/HA es debido a mutaciones activadoras en el gen *GLUD-1* de la glutamato deshidrogenasa (GDH), la enzima que cataliza la desaminación oxidativa de glutamato a  $\alpha$ -cetoglutarato más amonio, y cuyo aumento de actividad determina la hipersecreción de insulina por las células  $\beta$  y un incremento del amonio de origen hepático.

En el hígado, el incremento de la actividad de la GDH no sólo aumenta la producción neta de amonio, sino que al reducir las concentraciones de glutamato también reducirá las de su derivado el N-acetilglutamato, que es un activador de la carbamil-fosfato-sintetasa, la enzima limitante del ciclo de la urea. Por consiguiente, la hiperamoniemia será debida no sólo a un incremento de su síntesis, sino también a una disminución de su catabolismo (23, 24).

La asociación de hipoglucemia y concentraciones moderadamente elevadas de amonio debe hacer sospechar la existencia de HI/HA, aunque siempre debe ser confirmada mediante estudios moleculares.

### 3.4. Enfermedad renal

Aproximadamente el 25% del volumen de sangre bombeada por el corazón hacia la circulación sistémica fluye a través de los riñones, que son los principales reguladores de depuración de la mayoría de las sustancias presentes en los líquidos orgánicos y los responsables fundamentales del mantenimiento de la homeostasis hidroelectrolítica.

Una de las principales funciones del sistema renal consiste en eliminar de la sangre las sustancias no deseables y potencialmente tóxicas para el organismo que se obtienen de los distintos procesos metabólicos.

El amonio, uno de los principales productos del metabolismo nitrogenado, es generado en el catabolismo proteico y excretado en la orina como urea. Por su parte, el amonio de la orina no aumenta directamente según el grado de amoniemia, sino que es uno de los mecanismos renales para la excreción de hidrogeniones ( $H^+$ ).

En las células tubulares renales se forma amoniaco procedente, en parte de la hidrólisis de la glutamina por la glutaminasa, que la transforma en glutamato más  $NH_3$ , y en parte de la desaminación oxidativa de los  $\alpha$ -aminoácidos. El  $NH_3$  difunde hacia el interior del líquido tubular y se une al ión hidrógeno para formar ión amonio ( $NH_4^+$ ), que es excretado en la orina. El control de la desaminación en las células tubulares desempeña, por tanto, un importante papel en el tamponamiento del exceso de  $H^+$  producido por los procesos metabólicos. Es decir, la homeostasis ácido-base depende en gran medida del metabolismo renal del amonio.

Investigaciones recientes han permitido conocer mejor el mecanismo molecular del transporte renal de este compuesto. En particular, la teoría de que el transporte de amonio ocurre casi exclusivamente por difusión de  $NH_3$  y formación de  $NH_4^+$ , ha dado paso al modelo que defiende una variedad de proteínas específicas en el transporte de  $NH_3$  y  $NH_4^+$ , pero además ese transporte es crítico para el metabolismo fisiológico de este compuesto (25).

Las patologías asociadas a los defectos de la función tubular renal pueden provocar una disminución de la reabsorción o de la secreción, o alteraciones de la concentración y dilución urinarias. Aquéllas vinculadas a la insuficiencia renal, en las que los riñones reducen el ritmo de filtración o dejan de filtrar sangre de forma eficaz, van a ser la causa, entre otros daños, de la acumulación de los productos de desecho metabólicos en la sangre y por tanto de sustancias nocivas para el organismo. El exceso de amonio acumulado como consecuencia del daño renal, de uno u otro tipo, será el responsable de las patologías ligadas a la hiperamoniemia.

## 3.5. Terapias con determinados fármacos

### Ácido valproico

El ácido valproico (VPA) es un antiepiléptico muy utilizado y normalmente bien tolerado. No obstante, en algunos pacientes pueden presentarse complicaciones importantes: hepatotoxicidad inducida por VPA y encefalopatía sin disfunción hepática inducida por VPA. Esta última patología se puede presentar en pacientes que sufren alguna deficiencia asintomática del ciclo de la urea puesta de manifiesto al emplear este fármaco, ya sea durante los estados iniciales o a lo largo del tratamiento con este anticonvulsivante.

Si bien la etiopatogenia de la encefalopatía inducida por ácido valproico sin disfunción hepática no está completamente aclarada, distintos estudios señalan que puede afirmarse que la hiperamoniemia es la principal causa del síndrome clínico (26-30).

El incremento de las concentraciones de amonio en suero puede ser debido a varios mecanismos, aunque el más importante parece estar relacionado con la inhibición de la carbamilfosfato sintetasa-I, enzima que inicia el ciclo de la urea. La hiperamoniemia conduce a un aumento de las concentraciones de glutamina en el cerebro que produce hiperhidratación de los astrocitos y edema cerebral (31, 32).

Según esto, es importante considerar la posibilidad de una hiperamoniemia en aquellos pacientes que, sometidos a terapia con ácido valproico, presentan cambios en la conducta, signos neurológicos focales, alteración progresiva de la consciencia y coma.

Ahora bien, dado que también se ha señalado algún caso de encefalopatía inducida por ácido valproico sin hiperamoniemia, algunos autores sugieren el estudio de las concentraciones de glutamina en suero y líquido cefalorraquídeo, ya que están inicialmente elevados en la mayoría de los pacientes en los que se sospecha esta patología (33).

### Asparaginasa

La enzima L-asparaginasa (L-Asp) es uno de los fármacos más utilizados en el tratamiento de las enfermedades malignas derivadas del sistema linfocítico (leucemia linfoblástica aguda y linfoma no-Hodgkin).

La L-Asp cataliza la hidrólisis de los aminoácidos asparagina y glutamina en ácido aspártico, ácido glutámico y amonio. El amonio representa por lo tanto un metabolito directo de la reacción bioquímica catalizada por esta enzima.

La terapia inducida con L-Asp es muy efectiva en el tratamiento de niños con leucemia linfoblástica aguda, pero en el curso del tratamiento se pueden presentar efectos secundarios graves, tales como daño en hígado y SNC. Por tanto, dado que el amonio es un neurotóxico potencial importante, cuando la situación clínica lo sugiera, debe determinarse la concentración sanguínea de este compuesto. No obstante, son necesarios más estudios que permitan valorar mejor el alcance y la toxicidad sobre el SNC que puede provocar esta terapia (34, 35).

## 4. DETERMINACIÓN DEL AMONIO

La medida del amonio se utiliza en la práctica clínica para el diagnóstico, monitorización y pronóstico de las enfermedades relacionadas con la hiperamoniemia. La exactitud de la determinación del amonio depende en gran medida tanto de factores preanalíticos como de la metodología utilizada (36).

## 4.1. Factores preanalíticos

### 4.1.1. Ligados al paciente

#### La edad

Las concentraciones de amonio son de cuatro a ocho veces más altos en neonatos y de dos a tres veces mayores en niños menores de tres años. A partir de esa edad son similares a los del adulto.

#### El tabaco

Se ha comprobado que las concentraciones de amonio se elevan aproximadamente 10  $\mu\text{mol/L}$  después de un cigarrillo. Se recomienda que el paciente permanezca sin fumar al menos 12 horas antes de la extracción (36).

#### El ejercicio

Los valores fisiológicos de amonio se incrementan más de tres veces tras el ejercicio. Este incremento es superior en hombres que en mujeres. En un reciente estudio se afirma, además, que en el ejercicio prolongado la entrada y la acumulación de amonio en el cerebro pueden provocar fatiga, ya que afecta al metabolismo neurotransmisor (37).

#### Tratamientos con determinados fármacos

El uso de algunos fármacos, como los barbitúricos, la acetazolamida o los diuréticos, puede incrementar las concentraciones de amonio, por lo que es importante saber si un paciente los está tomando.

### 4.1.2. Ligados a la muestra

#### Tipo de muestra

Desde hace décadas se discute si el amonio debe ser estudiado en sangre venosa o arterial. En personas sin daño hepático aparente la concentración de amonio en sangre venosa es similar a la arterial. No obstante, hay que considerar que la isquemia inducida por el torniquete y la contracción muscular pueden ser causa de liberación de amonio en sangre venosa lo que puede provocar concentraciones falsamente elevadas. Por ello, se debe prestar especial atención al tiempo de torniquete, que debe ser mínimo, y a la contracción muscular, pues hay que evitar apretar y relajar el puño durante la extracción dado que pueden incrementarse las concentraciones de amonio.

En pacientes con insuficiencia hepática los músculos desempeñan un importante papel en la eliminación del amonio al convertir el glutamato en glutamina. Por esta razón, la concentración de amonio en sangre venosa reflejará no sólo la eliminación a nivel hepático sino también el aclarado por músculos, riñones y cerebro. En consecuencia la concentración de amonio en sangre venosa será siempre menor que en sangre arterial. La medida de amonio en sangre arterial, salvo graves inconvenientes, parece más lógica y preferible que en sangre venosa.

A pesar de esto, en recientes publicaciones se señala que la medida de amonio en sangre venosa es tan útil en la práctica clínica como la medida en sangre arterial. Asimismo, las concentraciones de amonio en sangre venosa se correlacionan con la gravedad de la EH de igual forma que las concentraciones de amonio en sangre arterial (11, 38, 45).

En un intento de sustituir las punciones arteriales se valoraron otras muestras alternativas para la determinación de amonio. El método que utilizaba muestra capilar obtenida por punción en el dedo fue descartado dada la pobre correlación entre la determinación arterial y la capilar. Además la reproducibilidad de esta determinación era muy baja (11). Por el contrario, los resultados obtenidos con muestra capilar del lóbulo de la oreja fueron mejores por lo que se planteó como una posible elección en pacientes pediátricos (39).

#### Tipo de anticoagulante

La muestra de suero no se recomienda para la determinación de las concentraciones sanguíneas de amonio. Para la obtención de plasma, los anticoagulantes de elección para la determinación cuantitativa de amonio son el EDTA y la heparina libre de amonio. No obstante, en algunos trabajos recientes, en los que se utiliza el método enzimático con glutamato dehidrogenasa, los resultados obtenidos comparando ambos anticoagulantes señalan que el EDTA es el único anticoagulante aceptable. Esta afirmación se basa en que, en las muestras heparinizadas se obtuvieron resultados con concentraciones más bajas e incluso resultados falsos negativos, frente a las que contenían EDTA (40, 41).

Para evitar este tipo de problemas analíticos es conveniente utilizar el anticoagulante que se señala expresamente en la metodología elegida.

#### Tratamiento de la muestra

Como el amonio es un producto del metabolismo celular, los siguientes pasos son críticos para la prevención de concentraciones falsamente elevadas.

A) Una vez obtenida la muestra introducirla inmediatamente en hielo. Se ha demostrado que la velocidad de aumento de amonio sanguíneo es de aproximadamente 0,017  $\mu\text{g/mL}$  de sangre/minuto a 25°C.

B) El amonio se incrementa como consecuencia de la continuidad del metabolismo celular *in vitro*, aproximadamente el 20% al cabo de una hora y casi el 100% al cabo de dos, aunque este incremento es mucho mayor cuando hay enfermedad hepática por la elevada actividad de la GGT (36). Por lo tanto, la muestra mantenida en hielo se debe enviar inmediatamente al laboratorio.

C) Es importante conservar la muestra en el recipiente tapado (tubo con tapón) hasta el momento de realizar la determinación.

D) Tan pronto como la muestra llegue al laboratorio se procederá a su centrifugación, preferiblemente en centrifuga refrigerada. A continuación se separará el plasma, que es estable de dos a tres horas a 2°-4° C y 24 horas si se mantiene a -18° C (2).

El empleo de hielo en el transporte de la muestra, la inmediata centrifugación y la rápida separación del plasma son esenciales para garantizar la exactitud de los resultados obtenidos en la determinación de amonio.

#### Presencia de hemólisis

Aunque la presencia de hemólisis podría ser motivo de rechazo de la muestra dado que los eritrocitos poseen concentraciones de amonio 2,8 veces superiores a las del plasma, algunas metodologías señalan expresamente que se podría realizar la determinación de amonio siempre que el grado de hemólisis no sobrepasase una determinada concentración de hemoglobina libre (42). Es por tanto muy importante considerar en cada caso las limitaciones analíticas de la metodología utilizada.

## 4.2. Métodos analíticos

Los métodos utilizados para la medida del amonio en sangre pueden clasificarse en (43):

### 4.2.1. Métodos de difusión

Se basan en el principio de liberación del amoniaco de la muestra como base libre  $\text{NH}_3$  mediante la adición de álcali. El amoniaco se desprende de la muestra hacia la atmósfera de una cámara cerrada y es capturado por una solución ácida. El  $\text{NH}_3$  liberado puede cuantificarse por titulación con ácido, con el reactivo de Nessler, por determinación fotométrica de color producido con ninhidrina o mediante la reacción del indofenol, por valoración coulombimétrica con hidrobromuro producido electrónicamente u otros métodos.

Actualmente estos métodos casi no se utilizan porque son poco exactos, poco precisos y tienen baja sensibilidad.

### 4.2.2. Métodos de intercambio iónico

El  $\text{NH}_3$  se separa del plasma por adsorción en una resina de intercambio catiónico. Se cuantifica después con el reactivo de Nessler o la reacción del indofenol en la que el  $\text{NH}_4^+$  reacciona con el fenóxido sódico en presencia de hipoclorito y nitroprusiato, dando un color azul estable que se mide espectrofotométricamente.

Estos métodos son generalmente más exactos y tienen buena sensibilidad, pero requieren un tratamiento prolongado, lo que afecta de manera importante a su reproducibilidad y a la rapidez de resultados.

### 4.2.3. Métodos de electrodo selectivo

El amoniaco es liberado de la muestra por alcalinización. Se hace difundir a través de una membrana hidrófoba permeable al gas hacia una solución de cloruro de amonio acuoso, hasta que la presión parcial se iguala a ambos lados de la membrana. La hidrólisis de una pequeña porción del amonio disuelto con un electrodo de vidrio, utilizando un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata, produce un aumento del pH que se mide.

Este método presenta buena precisión y exactitud, pero la falta de estabilidad de los electrodos y las membranas han limitado su uso.

### 4.2.4. Método de química seca

Tiene como base la tecnología de la química seca, que emplea reactivos multicapa incorporados en un soporte de poliéster. El método utilizado es una técnica colorimétrica a punto final. Usando tampones de pH alcalino el ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) se convierte en amoniaco gas ( $\text{NH}_3$ ), que reacciona con el indicador azul de bromofenol. Se obtiene un compuesto coloreado que se mide a 600 nm.

### 4.2.5. Métodos enzimáticos

Son los más empleados. Se basan en la determinación de amonio plasmático utilizando la enzima glutamato dehidrogenasa (GLDH) que cataliza la conversión de amonio más  $\alpha$ -cetoglutarato a glutamato con la oxidación de NADPH a  $\text{NADP}^+$ . La medida de la disminución de absorbancia a 340 nm es proporcional a la concentración de amoniaco. Este método fue introducido por Mondzac et al en 1965 (44).

Son métodos precisos, exactos, rápidos y requieren pequeños volúmenes de muestra.

### 4.2.6. Métodos de medida de la presión parcial de amoniaco

La presión parcial de amoniaco ( $p\text{NH}_3$ ) se calcula en base a las concentraciones de amoniaco y pH en sangre usando la fórmula descrita por Manning. Como parámetro podría reflejar mejor la exposición cerebral al amoniaco, ya que representa la fracción no ionizada del mismo ( $\text{NH}_3$ ) que difunde libremente a través de la barrera hematoencefálica. Sin embargo, hay datos contradictorios al respecto, mientras algunos estudios demuestran que este parámetro no se correlaciona con el grado o gravedad de la EH mejor que la medida de amonio en muestra arterial o venosa (38, 45), otros señalan que la presión parcial de amonio es mejor parámetro para la evaluación fisiopatológica de la EH (46).

## 5. RECOMENDACIONES

1. Las indicaciones más frecuentes para la medida de las concentraciones sanguíneas de amonio son el diagnóstico y seguimiento de patologías relacionadas con el daño hepático grave, determinados errores congénitos del metabolismo, daños provocados por ciertos tratamientos y en ocasiones puede ayudar a conocer a qué se deben los cambios en la conducta o la consciencia de un paciente.

2. Para la correcta interpretación de las concentraciones sanguíneas de amonio es importante conocer los siguientes datos del paciente: edad, hábito de fumar, si realizó ejercicio reciente, qué tratamientos farmacológicos recibe.

3. En pacientes en los que no hay sospecha de daño hepático se puede utilizar muestra de sangre venosa o arterial. En pacientes con insuficiencia hepática, aunque desde el punto de vista teórico la muestra arterial parece preferible, trabajos actuales demuestran que la muestra venosa es adecuada y útil en la práctica clínica. Si se extrae sangre venosa hay que considerar que el tiempo de torniquete debe ser lo más corto posible.

4. Las condiciones de recogida, transporte y procesamiento de la muestra, tal y como fueron señaladas en el apartado de "Tratamiento de la muestra", son fundamentales para garantizar la exactitud de los resultados.

5. Los métodos enzimáticos son los más empleados para el estudio del amonio por su precisión, exactitud y rapidez. Además, al estar automatizados permiten una practicabilidad, disponibilidad y tiempo de respuesta muy adecuados con la urgencia médica.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Lehninger, Nelson, Cox. Principios de Bioquímica. Segunda Edición. Ediciones Omega. 1993.
2. Henry JB. El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 9ª Edición. Editorial Masson-Salvat. 1993
3. Lockwood AH, McDonald JM, Reiman RE, Gelbard AS. The dynamics of Ammonia Metabolism in Man. J Clinical Investigation 1979;63:449-60.
4. Mojica Peñaranda M., Mojica Muñoz E. Guías para Manejo de Urgencias. Capítulo XI: Encefalopatía hepática. pp. 772-79.
5. Idrovo V. Encefalopatía hepática. Rev Colomb Gastroenterol 2003;18: 163-67.
6. Jalan R, Sahawcross D, Davies N. The molecular pathogenesis of hepatic encephalopathy. Int J Biochem Cell Biol 2003; 35: 1175-81.
7. Blei AT. The pathophysiology of brain edema in acute liver failure. Neurochemistry International 2005; 47: 71-77. hyperammonemic brain: further studies using NMR spectroscopy. Neurochem Int 2005; 47: 19-30.



8. Zwingmann C, Butterworth R. An update on the role of brain glutamine synthesis and its relation to cell-specific energy metabolism in the of hepatic encephalopathy. Pathogenesis of hepatic encephalopathy.
9. 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 11<sup>th</sup> World Congresses of Gastroenterology, Vienne, 1998. *Hepatology* 2002; 35: 716-21.
10. Lockwood AH. Blood Ammonia Levels and Hepatic Encephalopathy. *Metabolic Brain Disease* 2004; 19: 345-9.
11. Quero JC, Herrerías JM. Diagnostic methods in hepatic encephalopathy. *Clin Chim Acta* 2006; 365: 1-8.
12. Bhatia V, Singh R, Acharya SK. Predictive value of arterial ammonia for complications and outcome in acute liver failure. *New Engl J Med* 2006; 55: 98-104.
13. Romero-Gomez M, Grande L, Camacho I, Benitez S, Irlés JA, Castro M. Altered response to oral glutamine challenge as prognostic factor for episodes in patients with minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2002; 37: 781-7.
14. Seiler N. Ammonia and Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2002; 41: 189-207.
15. Smith W, Kishnani PS, Lee B, Singh RH, Rhead WJ, Sniderman King L et al. Urea cycle disorders: clinical presentation outside the newborn period. *Crit Care Clin* 2005; 21: 9-17.
16. Rimbaux S, Hommet C, Perrier D, Cottier JP, Legras A, Labarthe F et al. Adult onset ornithine transcarbamylase deficiency: an unusual cause of semantic disorders. *J Neurolo Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 1073-5.
17. Briones MP, Marchante C, Pintos Morell G, Sanjurjo P, Vilaseca MA. Protocolo para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los trastornos del ciclo de la urea. Asociación Española para el Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo.
18. Salvi S, Santorelli FM, Bertini E, Boldrini R, Meli C, Donati A, Burlina AB, Rizzo C, Di Capua M, Fariello G, Dionisi-Vici C. Clinical and molecular findings in hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria syndrome. *Neurology* 2001; 57:911-4
19. Schmidt J, Schroth M, Irouschek A, Birkholz T, Kurzai M, Krober S et al. Patients with ornithine transcarbamylase deficiency. Anaesthesiological and intensive care management. *Anaesthesist* 2005; 54: 1201-8.
20. Schmidt J, Kroeber S, Irouschek A, Birkholz T, Schroth M, Albrecht S. Anesthetic management of patients with ornithine transcarbamylase deficiency. *Paediatr Anaesth* 2006; 16: 333-7.
21. Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS. The Metabolic Basis of Inherited Disease. 3<sup>a</sup> Edición. Capítulos 17, 21 y 22. Editorial McGraw-Hill, pp. 370-392; 426-458.
22. Nyhan WL, Ozand PT, Atlas of Metabolic Diseases. 1<sup>a</sup> ed, Chapman and Hall Medical, London 1998.
23. Stanley CA. Hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome: insights into the regulatory role of glutamate dehydrogenase in ammonia metabolism. *Mol Genet Metab* 2004; 81: 45-51.
24. Montero C, Pozo J, Muñoz MT, Martos G, Donoso MA, Rubios O et al. Síndrome de hiperinsulinismo-hiperamoniemia por mutación de *novoo* en el exón 7 (G979A) del gen *GLUD-1*, con excelente respuesta a diazóxido. *Ann Pediatr (Barc)* 2004; 61: 433-7.
25. Weiner ID, Hamm LL. Molecular Mechanisms of Renal Ammonia Transport. *Ann Rev Physiol* 2007; 69: 317-40.
26. Barrueto F Jr, Hack JB. Hyperammonemia and coma without hepatic dysfunction induced by valproate therapy. *Acad Emerg Med* 2001; 8:999-1001.
27. Elgudin L, Hall Y, Schubert D. Ammonia induced encephalopathy from valproic acid in a bipolar patient: case report. *Int J Psychiatry Med* 2003; 33: 91-6.
28. McCall M, Bourgeois JA. Valproic acid-induced hyperammonemia: a case report. *J Clin Psychopharmacol* 2004; 24: 521-6.
29. Turcato Mde F, Fernandes RM, Wichert-Ana L, Funayama CA. Hyperammonemia secondary to the use of valproic acid: case report. *Arq Neuropsiquiatr* 2005; 63: 364-6.
30. Cuturic M, Abramson RK. Acute hyperammonemic coma with chronic valproic acid therapy. *Ann Pharmacother* 2005; 39: 2119-23.
31. Ricard C, Martin K, Tournier M, Begaud B, Verdoux H. A case of Parkinsonian syndrome, cognitive impairment and hyperammonemia induced by divalproate sodium prescribed for bipolar disorder. *Encephale* 2005; 31 (1 PT 1):98-101.
32. Segura-Bruna N, Rodriguez-Campello A, Puente V, Roquer J. Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy. *Acta Neurol Scand* 2006; 114: 1-7.
33. Vossler DG, Wilensky AJ, Cawthon DF, Kraemer DL, Ojemann LM, Caylor LM et al. Serum and CSF glutamine levels in valproate-related hyperammonemic encephalopathy. *Epilepsia* 2002; 43: 154-9.
34. Laterza OF, Gerhardt G, Sokoll LJ. Measurement of Plasma Ammonia is Affected in Patients Receiving Asparaginase Therapy. *Clin Chem* 2003; oct; 49(10): 1710-1.
35. Steiner M, Attarbaschi A, Kastner U, Dworzak M, Haas OA, Gadner H et al. Distinct fluctuations of ammonia levels during asparaginase therapy for childhood acute leukemia. *Pediatric Blood Cancer* 2007; 49(5): 640-2.
36. NACB Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG) – Dufour R, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Laboratory Guidelines for Screening, Diagnosis and Monitoring of Hepatic Injury 2000.
37. Nybo L, Dalsgaard MK, Steensberg A, Moller K, Secher NH. Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. *J Physiol* 2005; 563:285-90.
38. Ong JP, Aggarwal A, Krieger D, Easley KA, Karafa MT, Van Lente F, et al. Correlations between ammonia levels and severity of hepatic encephalopathy. *Am J Med* 2003; 114: 188-93.
39. Huizenga JR, Gips CH, Conn HO, Jansen PLM. Determination of ammonia in ear-lobe capillary blood is an alternative to arterial blood ammonia. *Clin Chim Acta* 1995; 239:65-70.
40. Wannasilp N, Sribhen K, Pussara N, Opartkiatikul N. EDTA should be the anticoagulant of choice for the measurement of plasma ammonia: Report of a problem sample. *Clin Chim Acta* 2005; 357: 84-5.
41. Wannasilp N, Sribhen K, Pussara N, Hwanpuch T, Wangchaijaroenkit S, Opartkiatikul N. *Clin Chim Acta* 2006; 371: 196-7.
42. Dimeski G. Effects of Hemolysis on the Roche Ammonia Method for Hitachi Analyzers. *Clin Chem* 2004; 50: 976-7.
43. Kaplan-Pesce. Química Clínica. Teoría, análisis y correlación. Editorial Panamericana 1986.
44. Humphries BA, Meinychuk M, Donegan EJ, Snee RD. Automated Enzymatic Assay for Plasma Ammonia. *Clin Chem* 1979; 25: 26-30.
45. Nicolao F, Efrati C, Masini A, Merli M, Attili AF, Riggio O. Role of determination of partial pressure of ammonia in cirrhotic patients with and without hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2003; 38: 441-6.
46. Kramer L, Tribl B, Gendo A. Partial pressure of ammonia versus ammonia in hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2000; 31: 30- 4.

Correspondencia

rosa.diaz.garcia@sergas.es