



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FABRIZIO ALMEIDA PRADO

**HIPERAMONEMIA NÃO HEPÁTICA EM PACIENTES EM
TERAPIA INTENSIVA**

Londrina
2014

FABRIZIO ALMEIDA PRADO

**HIPERAMONEMIA NÃO HEPÁTICA EM PACIENTES EM
TERAPIA INTENSIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Daher Alvares Delfino.

Londrina
2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

P896h Prado, Fabrizio Almeida.

Hiperamonemia não hepática em pacientes em terapia intensiva / Fabrizio Almeida Prado. - Londrina, 2014.

62 f. il.

Orientador: Vinicius Daher Alvares Delfino.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Hiperamonemia - Diagnóstico. Teses. 2. Amônia - Metabolismo. Teses. 3. Doentes em estado crítico. Teses. 4. Unidade de tratamento intensivo – Teses. I. Delfino, Vinicius Daher Alvares. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU 616.36

FABRIZIO ALMEIDA PRADO

**HIPERAMONEMIA NÃO HEPÁTICA EM PACIENTES EM TERAPIA
INTENSIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Daher Alves
Delfino
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dra. Cintia Magalhães Carvalho Grion
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dra. Helenir Medri de Souza
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 05 de fevereiro de 2014.

LISTA DE ABREVIATURAS

AACR	Aminoácidos de cadeia ramificada
APACHE II	<i>Acute physiology and chronic health evaluation II</i>
AV	Ácido valpróico
CPS-1	Carbamoil fosfato sintetase-1
EDTA	Etildiaminotetracético
EIM	Erros inatos do metabolismo
HGI	hemorragia gastrointestinal
HNE	Hiperamonemia não hepática
LPS	Lipopolissacarídeo
LSN	Limite superior da normalidade
MDRD	<i>Modification of diet in renal diseases</i>
NAGS	N-acetil glutamato sintetase
RNI	Razão normalizada internacional
ROC	<i>Receiver operating characteristics</i>
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
UTI	Unidade de terapia intensiva

PRADO, F. A. **Hiperamonemia não hepática em pacientes em terapia intensiva**. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

RESUMO

Hiperamonemia ocorre geralmente associada à lesão do parênquima hepático em insuficiência hepática aguda ou cirrose hepática. Com menor frequência, ocorre por distúrbios não associados ao parênquima hepático, também chamada de hiperamonemia não hepática (HNE). Várias causas de HNE são descritas na literatura e pacientes gravemente enfermos são uma população específica na qual fatores etiológicos para HNE estão frequentemente presentes, no entanto não há dados disponíveis sobre a incidência e repercussões da HNE nessa população. Foi realizado um estudo prospectivo observacional em um hospital universitário para avaliar a incidência e o tempo de aparecimento da HNE em pacientes graves de unidades de terapia intensiva (UTI) bem como o papel dos fatores associados ao surgimento da HNE e suas implicações sobre a mortalidade desses pacientes. Durante o período de 05/03/2012 a 05/09/2012 foram incluídos os pacientes adultos admitidos às 2 UTIs gerais e à UTI de queimados sendo posteriormente excluídos caso apresentassem: insuficiência hepática aguda ou cirrose, óbito nas primeiras 24h de admissão, alta da UTI com menos de 48h após cirurgia eletiva ou ausência de preenchimento do termo de consentimento. Foram obtidos os diagnósticos de admissão e anotados diariamente a presença de fatores de risco para HNE e calculado o escore SOFA. Cem pacientes tiveram dosagens arteriais de amônia realizadas ao menos nas primeiras 24h de admissão e depois no 3º, 7º, 14º, 21º e 28º dias de internação caso persistissem na UTI. Desses, 73% apresentou hiperamonemia ($\geq 35 \mu\text{mol/L}$) em pelo menos uma ocasião, 40 e 60% deles nas primeiras 24h e 72h da admissão, respectivamente. Houve uma associação positiva entre HNE, escore SOFA e jejum prolongado ($P < 0,05$), entretanto não foi encontrada associação entre HNE, diagnósticos de admissão e outros fatores etiológicos. A mortalidade dos pacientes aumentou significativamente conforme a gravidade da HNE ($P < 0,01$). Análise pela curva ROC evidenciou um valor de corte de amônia de $49 \mu\text{mol/L}$ para predição de mortalidade. Nenhum caso de morte ou edema cerebral diretamente atribuído à HNE foi observado. O presente estudo demonstrou pela primeira vez uma alta incidência de HNE em pacientes de UTI. HNE foi um evento precoce cuja presença e gravidade foram associadas a maior mortalidade. A falta de associação entre HNE e fatores etiológicos comumente descritos e a associação positiva entre HNE, escore SOFA e mortalidade alertam para um possível papel da amônia como marcador clínico de gravidade.

Palavras-chave: Amônia. Hiperamonemia. Hiperamonemia/diagnóstico. Mortalidade. Unidades de terapia intensiva. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica.

PRADO, F. A. **Hiperamonemia não Hepática em Pacientes em Terapia Intensiva**. 2014. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

ABSTRACT

Hyperammonemia usually results from hepatic parenchymal injury in acute liver failure or hepatic cirrhosis. More rarely, it occurs in the absence of hepatic disease, a condition known as non-hepatic hyperammonemia (NHH). Several causes of NHH are reported in literature, many of them present in critically ill patients, however, data about its incidence and clinical repercussions are not available. A prospective observational study was conducted in two medical-surgical intensive care units (ICU) and one burn ICU from a university hospital in Brazil to verify the incidence and time appearance of NHH in critically ill patients and to look for correlations between NHH and risk factors for the condition as well as a possible effect of NHH on mortality of these patients. Patients were excluded in case of acute liver failure or hepatic cirrhosis, death in the first 24h of ICU admission, being discharged from ICU within 48 h of elective surgery or lack of signed informed consent. One hundred critically ill patients had their arterial ammonia levels collected at least at the ICU admission, and then in the 3rd, 7th, 14th, 21st and 28th days of admission if remained in the ICU. Seventy-three patients presented with hyperammonemia ($\geq 35 \mu\text{mol/L}$), 40% and 60% of them in the first 24h and 72h of admission, respectively. Ammonia levels were analyzed together with APACHE II and SOFA scores, admission diagnostics and predisposing factors for NHH. There was a statistically significant correlation between SOFA score, prolonged fasting and NHH, however, no correlation between NHH, etiological factors and admission diagnostics was found. NHH severity was associated with progressively higher mortality rates. ROC curve analysis resulted in arterial ammonia cut off level of $49 \mu\text{mol/L}$ for mortality prediction. No cases of documented brain edema or death directly attributed to hyperammonemic encephalopathy were observed. This study showed for the first time a very high incidence of NHH in ICU patients. NHH was an early finding, and its presence and severity were associated with high mortality rates. Due the lack of association with commonly reported risk factors and its positive association with SOFA scores and mortality rates, it raises awareness to a possible role of ammonia as a marker of disease severity.

Keywords: Ammonia. Hyperammonemia. Hyperammonemia/diagnosis. Mortality rate. Intensive care units. Systemic inflammatory response syndrome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ciclo da ureia	14
Figura 2 -	Interação entre ciclo da ureia e do ácido cítrico	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Mecanismos de neurotoxicidade da hiperamonemia	15
Tabela 2 -	Etiologias de hiperamonemia não hepática em adultos	17

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1	Metabolismo da amônia.....	12
2.2	Mecanismos de neurotoxicidade.....	15
2.3	Hiperamonemia não hepática.....	16
2.3.1	<i>Diminuição da eliminação</i>	18
2.3.2	<i>Aumento da produção</i>	19
2.3.3	<i>Mecanismo desconhecido</i>	22
3	OBJETIVOS.....	23
3.1	Objetivo principal.....	23
3.2	Objetivos secundários.....	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1	Delineamento da pesquisa.....	24
4.2	Período e local da realização.....	24
4.3	População estudada e amostra.....	24
4.4	Critérios de inclusão.....	24
4.5	Critérios de exclusão.....	24
4.6	Parecer do comitê de ética.....	25
4.7	Coleta de dados.....	25
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
6	ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA CRITICAL CARE MEDICINE.....	29
7	CONCLUSÃO.....	47
8	REFERÊNCIAS DA DISSERTAÇÃO.....	48

APÊNDICES	53
APÊNDICE A -	Termo de consentimento livre e esclarecido.....	54
ANEXOS	56
ANEXO A –	Parecer do comitê de ética em pesquisa.....	57
ANEXO B –	Normas para redação do artigo para a revista Critical Care Medicine	58

1 INTRODUÇÃO

A amônia (NH_3) é um constituinte normal dos fluidos orgânicos que, em níveis fisiológicos de pH, existe principalmente como íon amônio (NH_4^+). Em níveis elevados pode cursar com desenvolvimento de alterações no sistema nervoso central (encefalopatia hepática) que vão desde manifestações comportamentais leves até edema e herniação cerebral (BOSOI e ROSE, 2009).

Hiperamonemia é reconhecida em pacientes com falência hepática aguda ou doença hepática crônica (cirrose), e está associada a um pior prognóstico no primeiro caso (CLEMMESEN *et al.*, 1999; KUMAR *et al.*, 2012). Quando causada por condições não associadas à doença do parênquima hepático, é denominada hiperamonemia não-hepática (HNE). A HNE tem como etiologia erros inatos do metabolismo, principalmente relacionados ao ciclo da ureia, que se manifestam comumente no período neonatal ou na infância (HÄBERLE, 2011), mas podendo apresentar-se também tardiamente em adultos (WALKER, 2012; SMITH *et al.*, 2005).

Além das causas já citadas, vários outros fatores associados à HNE já foram descritos, cujos mecanismos basicamente propiciam aumento na produção de amônia, ou redução da sua eliminação (LAISH e BEN ARI, 2011; BACHMANN, 2002; HAWKES *et al.*, 2001).

A encefalopatia por hiperamonemia é uma patologia grave, potencialmente tratável (remoção de fatores predisponentes, diálise, adequação de dieta), que necessita de alto grau de suspeição para o seu diagnóstico (MATHIAS, KOSTINER & PACKMAN, 2001; ELGOUHARI e O'SHEA, 2009). Pacientes em UTI constituem uma população onde diversos fatores predisponentes à HNE estão concentrados (CLAY e HAINLINE, 2007). A ocorrência deste distúrbio nessa população não é bem conhecida e não há estudos, até onde vai nosso conhecimento, que avaliem a sua frequência, etiologias ou implicações prognósticas.

O conhecimento de dados de incidência e de apresentação dessa condição pode permitir a identificação da HNE em pacientes em terapia intensiva e aqueles que estiverem sob risco ou mesmo com dano cerebral decorrente da hiperamonemia, poderão se beneficiar do pronto tratamento da condição.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Metabolismo da amônia

O metabolismo da amônia se dá principalmente em cinco órgãos: fígado, intestinos, rins, músculos e cérebro, sendo ela produzida, convertida em outras substâncias ou eliminada do organismo (OLDE DAMINK *et al.*, 2002, OLDE DAMINK, DEJONG & JALAN, 2009; WRIGHT *et al.*, 2011; LAISH e BEN ARI, 2011).

Nos intestinos, ela é gerada por bactérias intestinais produtoras de urease que metabolizam a ureia (e possivelmente aminoácidos) gerada a partir da digestão proteica. Pode ser ainda gerada a partir da deaminação da glutamina - substrato energético para os enterócitos - que é convertida em glutamato e amônia pela enzima glutaminase, que nos intestinos tem alta atividade (ROMERO-GÓMEZ *et al.*, 2009). Estima-se que 50% da amônia produzida nos intestinos seja originada no intestino delgado, por conversão de glutamina, e a outra metade no intestino grosso, que produz amônia principalmente a partir da ureia removida do sangue arterial (OLDE DAMINK *et al.*, 2002).

Os rins têm também papel importante na produção e eliminação da amônia. O metabolismo renal auxilia no equilíbrio acidobásico, sendo a amônia fonte de eliminação ou geração de prótons. Os rins contêm tanto as enzimas glutaminase quanto a glutamina sintetase. A amônia é produzida no túbulo proximal a partir da deaminação da glutamina e secretada para a luz tubular, sendo posteriormente reabsorvida no ramo ascendente da alça de Henle, concentrada no interstício medular, secretada em sua maior parte no ducto coletor e excretada na urina. O metabolismo da glutamina e da amônia contribuem para a regeneração de bicarbonato (GARIBOTTO *et al.*, 2008; WEINER e VERLANDER, 2011) e para a homeostase acidobásica.

Habitualmente, 30% da amônia produzida nos rins é excretada na urina, sendo os 70% restantes devolvidos à circulação sistêmica pela veia renal. Em situações de distúrbio acidobásico, ocorre uma alteração no manejo renal da amônia, cuja eliminação é aumentada ou diminuída. Em um contexto de acidose a excreção urinária de amônia pode elevar-se até 70% de sua produção renal (TIZIANELLO *et al.*, 1982). Foi também demonstrado que a presença de insuficiência renal crônica, mesmo em

estágios avançados, não está associada a níveis mais elevados de amônia (IMRAN *et al.*, 2012).

Ainda que sem uma definição precisa da origem e destino da amônia no tecido muscular esquelético (ADEVA *et al.*, 2012), acredita-se que após atividade muscular intensa a amônia seja gerada a partir da reação de deaminação de adenosina monofosfato (AMP) para inosina monofosfato (IMP) (VAN HALL *et al.*, 1995). Os músculos esqueléticos tem papel importante na detoxificação da amônia, pois, ainda que tendo pouca atividade da enzima glutamina sintetase, devido à proporção de sua massa, é um dos tecidos com maior produção de glutamina (OLDE DAMINK *et al.*, 2002).

A amônia chega ao fígado livremente ou então como glutamina. No fígado, a enzima glutaminase age sobre a glutamina liberando glutamato e amônia. O glutamato, por sua vez, pode fornecer mais amônia sob a ação da enzima glutamato desidrogenase.

O metabolismo hepático da amônia se dá através do ciclo da ureia, que ocorre nos hepatócitos periportais, mediado por algumas enzimas, conforme apresentado na figura 1. Nestes hepatócitos, ela é metabolizada em ureia e excretada pela urina e pelas fezes. No entanto, cerca de 20% da amônia ultrapassa esse sistema e é captada por hepatócitos perivenosos sendo convertida em glutamina pela enzima glutamina sintetase (HAÜSSINGER, 1990).

O ciclo da ureia apresenta interação com o ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs) (figura 2) que fornece o oxaloacetato como um de seus produtos intermediários. O oxaloacetato, após sofrer reação de transaminação com o glutamato, a qual é catalisada pela enzima aspartato aminotransferase, é convertido em aspartato. Aspartato e citrulina formam o argininosuccinato que dará origem à arginina, último aminoácido antes da formação da ureia. Do argininosuccinato também surge o fumarato, que volta a integrar o ciclo do ácido cítrico. Da degradação da arginina, além da ureia, forma-se a ornitina, que dará início a um novo ciclo de conversão de amônia à ureia (LEHNINGER *et al.*, 2007).

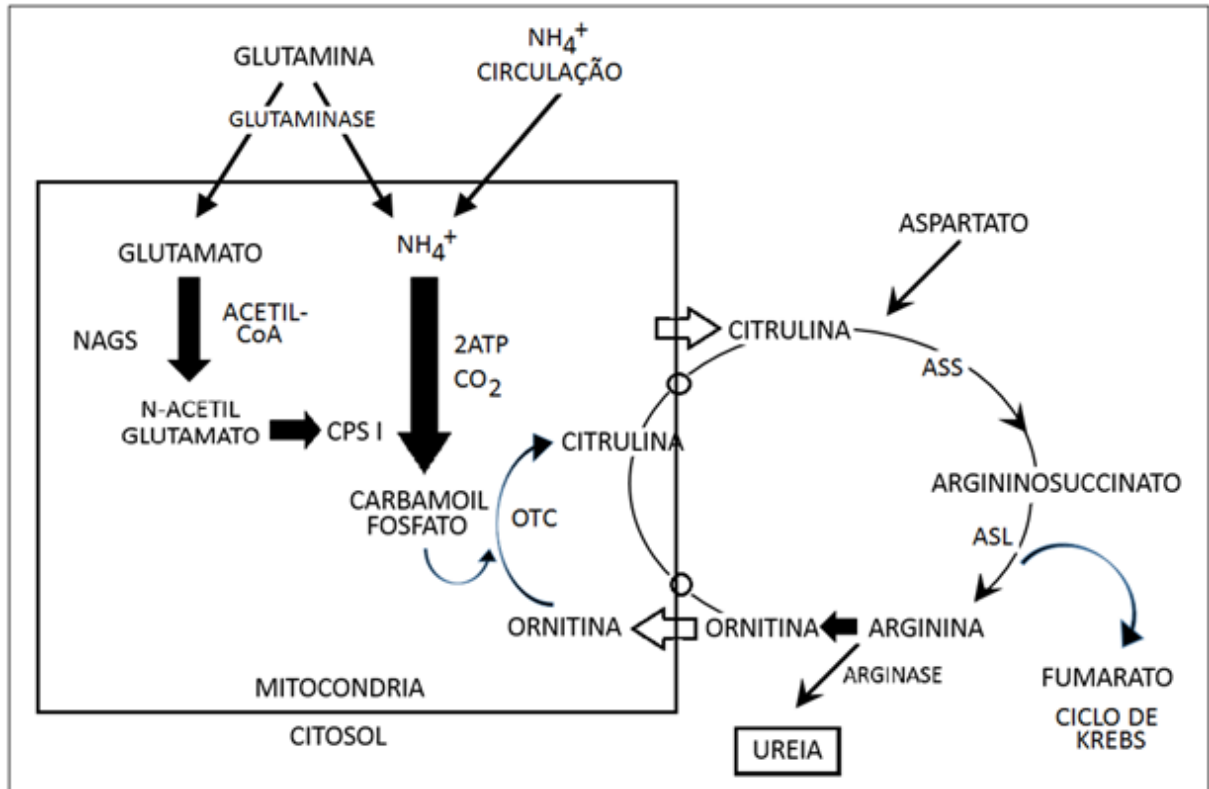


Figura 1: O ciclo da ureia. ASL: argininosuccinato liase; ASS: argininosuccinato sintetase; CPS I: carbamoil fosfato sintetase I; NAGS: n-acetil glutamato sintetase; OTC: ornitintrancarbamilase

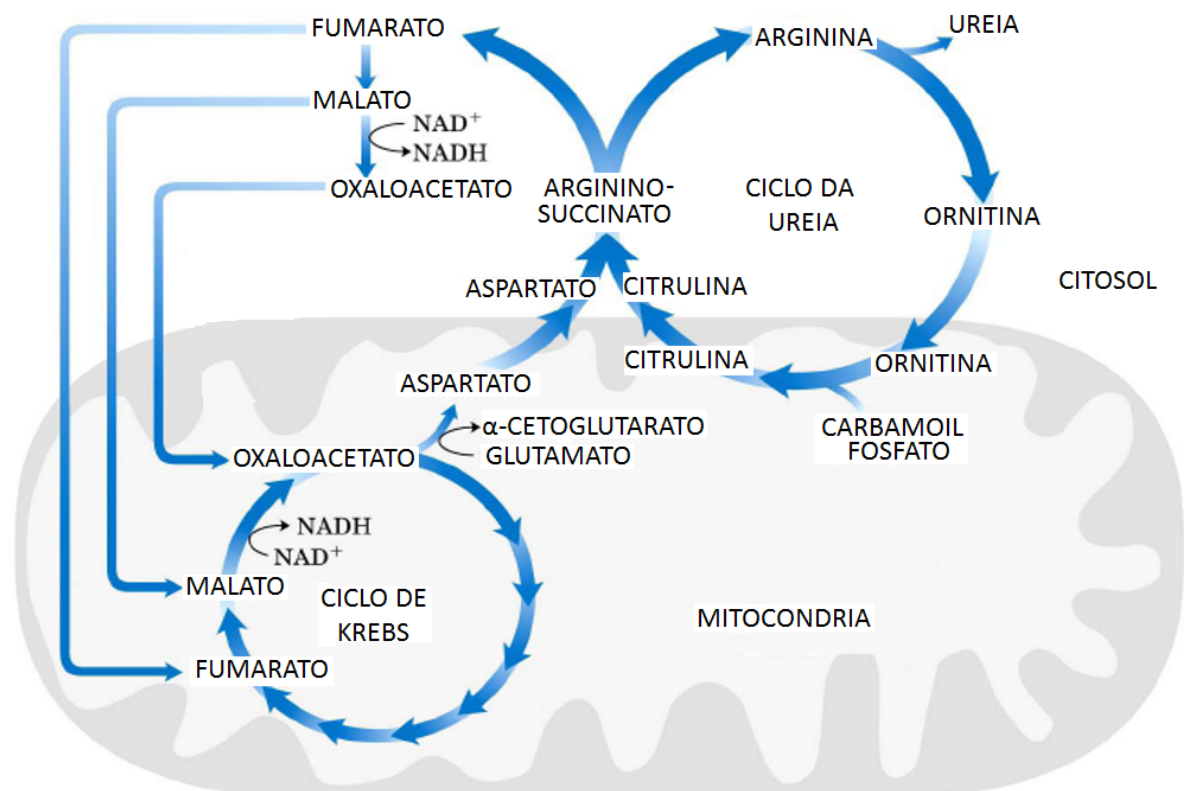


Figura 2: Interação entre ciclo da ureia e do ácido cítrico (Adaptado de Lehninger *et al.*, 2007)

2.2 Mecanismos de neurotoxicidade

O cérebro é o local onde se expressa a maior, senão única, toxicidade da amônia. A amônia pode ser direta e indiretamente neurotóxica e são vários os mecanismos que interagem causando a neurotoxicidade (BJERRING *et al.*, 2008), como mostrado na tabela 1.

Tabela 1: Mecanismos de neurotoxicidade da hiperamonemia (Adaptado de Bjerring *et al.*, 2008)

Transporte de amônia pela barreira hemato-encefálica
Modulação de neurotransmissores
Distúrbios metabólicos
Disfunção astrocitária
Stress oxidativo e nitrosativo
Regulação no volume celular
Alteração na regulação do fluxo sanguíneo cerebral
Mediadores pró-inflamatórios

A amônia, diretamente, causa alterações no pH intracelular e aumento da excitabilidade neuronal (BOSOI e ROSE, 2009). Foi demonstrado que a hiperamonemia, principalmente em um contexto de falência hepática aguda, causa aumento da atividade inflamatória e da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que levam a aumento do fluxo sanguíneo cerebral (JALAN e BERNUAU, 2007), perda da auto regulação e vasodilatação cerebral, com a hipóxia ocorrendo como um efeito secundário à queda da pressão de perfusão cerebral por hipotensão sistêmica ou hipertensão intracraniana (VAQUERO, CHUNG & BLEI, 2004). Além disso, a barreira hemato-liquórica, que já é altamente permeável à amônia, sofre aumento na sua permeabilidade e, conseqüentemente, maior difusão e concentração de amônia no cérebro (SKOWROŃSKA e ALBRECHT, 2012).

Como mecanismo de detoxificação cerebral da amônia, uma vez que o cérebro não possui o sistema do ciclo da ureia, os astrócitos passam a converter amônia e glutamato em glutamina através da enzima glutamina sintetase, presente, no tecido cerebral, quase que unicamente nessas células. A glutamina produzida não é tóxica, porém é osmoticamente ativa e acarreta aumento volumétrico dos astrócitos e edema

cerebral. Os astrócitos adaptam-se a essa situação extruindo o mioinositol, também osmoticamente ativo, para o meio extracelular. Assim, este processo patológico se torna muito mais importante na hiperamonemia aguda, na qual não há tempo suficiente para adaptação astrocitária (BRUSLOW *et al.*, 2010).

O glutamato consumido é repostado pela aaminação do α -cetogluturato pela enzima glutamato desidrogenase. A depleção do α -cetogluturato, além de impedir maior detoxificação de amônia, leva ao comprometimento do ciclo de Krebs, em um ambiente onde o gasto energético já está aumentado (para a geração de glutamina). Como resultado, há utilização de vias anaeróbicas de energia, acúmulo de lactato, aumento da concentração de amônia com surgimento de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio, aumento de atividade inflamatória e consequente alteração na regulação do fluxo sanguíneo cerebral (BJERRING *et al.*, 2008).

A amônia também causa diretamente alterações nos mecanismos de transmissão sináptica, afetando tanto os mecanismos inibitórios quanto excitatórios. Além disso, interfere com o sistema de neurotransmissão pelo glutamato, que, como já dito, é consumido na conversão de amônia em glutamina (FELIPO e BUTTERWORTH, 2002). Outras alterações neurofisiológicas também ocorrem na encefalopatia hepática, mas não podem, no entanto, ser explicadas somente pela contribuição da amônia.

As alterações neurofisiológicas induzidas pela hiperamonemia, como mudanças no pH, interferência nos mecanismos de transmissão sináptica e adaptação osmótica astrocitária, em consonância, levam aos sintomas iniciais da encefalopatia como torpor e convulsões. Caso não seja prontamente diagnosticada e tratada, a hiperamonemia pode promover alterações profundas no nível de consciência, edema e herniação cerebral. Em pacientes com insuficiência hepática aguda, níveis sanguíneos de amônia maiores que 124 $\mu\text{mol/L}$ foram associados a maior mortalidade, edema cerebral, convulsões e encefalopatia (BATHIA, SINGH & ACHARYA, 2006) e valores maiores que 150 $\mu\text{mol/L}$ foram associados à herniação cerebral (CLEMMESSEN *et al.*, 1999).

2.3 Hiperamonemia não hepática

Como já mencionado, várias são as situações implicadas na ocorrência de HNE que, de modo geral, causam aumento na produção e/ou diminuição na eliminação da

amônia (Tabela 2). Em muitas dessas situações clínicas o mecanismo não é bem compreendido. A seguir, expomos algumas dessas condições. Muitas delas são bem estudadas, já outras se resumem a relatos ou séries de casos. Dado o interesse da nossa pesquisa, procuramos focar a revisão naquelas condições de relevância para pacientes adultos gravemente enfermos.

Tabela 2: Etiologias de hiperamonemia não hepática em adultos (adaptado de Walker 2012)

Diminuição na eliminação de amônia:

Distúrbios no ciclo da ureia com manifestação tardia
 Acidemias orgânicas (muito raro)
 Ácido Valpróico
 Sulfadiazina + Pirimetamina
 Deficiência de Carnitina

Aumento na produção de amônia:

Nutrição parenteral
 Suplementação com glutamina
 Jejum prolongado
 Hemorragia gastrointestinal
 Corticoterapia sistêmica
 Infecção do trato urinário por microrganismos capazes de decompor a ureia, por exemplo, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*
 Derivações urinárias
 Convulsões repetidas
 Traumas graves
 Queimaduras
 Anestésicos gerais (halotano e enflurano)
 Quimioterapia (5-fluorouracil, asparaginase)
 Pós-operatório de transplante alogênico de medula óssea
 Mieloma múltiplo / leucemia /linfoma

Mecanismo desconhecido:

Carbamazepina

2.3.1 Diminuição da eliminação

a. Erros inatos do metabolismo (EIM) do ciclo da ureia

Os EIM do ciclo da ureia são doenças causadas por distúrbios genéticos que alteram a função de qualquer uma das enzimas desse ciclo. Manifestam-se comumente no período neonatal ou precocemente na infância e cursam com concentrações muito elevadas de amônia, rebaixamento do nível de consciência, coma e podem evoluir a óbito caso a condição não seja reconhecida e imediatamente tratada. Podem apresentar-se também na idade adulta, ainda que raramente. Nesse caso, a HNE costuma ser desencadeada por fatores precipitantes como por exemplo infecções graves, queimadura, desnutrição e uso de medicações como ácido valpróico (SMITH *et al.*, 2005; SUMMAR *et al.*, 2005).

Dos EIM do ciclo da ureia, o mais comum na infância e também na idade adulta, é a deficiência da enzima ornitino-transcarbamilase (SMITH *et al.*, 2005).

b. Ácido valpróico

É uma medicação que foi inicialmente utilizada para tratamento de epilepsias e tem sido muito usado recentemente, inclusive para tratamento de distúrbios psiquiátricos como depressão e transtorno bipolar (CHOPRA *et al.*, 2012). O seu uso tem sido associado à ocorrência de HNE associada ou não aos EIM do ciclo da ureia. A hiperamonemia relacionada ao ácido valpróico (AV) pode cursar assintomaticamente ou com encefalopatia, que se manifesta com quadros de alteração comportamental leve e também com quadros de hiperamonemia grave, com convulsões, coma e morte. Cerca de 50% dos pacientes que utilizam essa medicação apresentam níveis discretamente elevados de amônia (LEWIS *et al.*, 2012). São vários os mecanismos implicados na fisiopatologia da hiperamonemia por AV. Brevemente, o AV é um ácido graxo de cadeia curta e como tal, é metabolizado via β -oxidação. Seus metabólitos, de modo especial valproil-CoA e propionil-CoA mostraram-se, em modelo animal, capazes de inibir a enzima n-acetil glutamato sintetase (NAGS). Além disso, o AV liga-se à carnitina formando valproilcarnitina, um metabólito solúvel em água, excretado na urina. A carnitina é indispensável à β -oxidação, pois permite a transferência de ácidos graxos de cadeia média e longa pela membrana mitocondrial para que sejam oxidados e forneçam radicais acetil. Assim, sua deficiência causa, a

nível mitocondrial, diminuição na disponibilidade de acetil-CoA. Este último é substrato para a formação do ativador alostérico da carbamil-fosfato-sintetase-1, o n-acetilglutamato, que, diminuído, leva à redução no funcionamento do ciclo da ureia (AIRES *et al.*, 2010, 2011).

Assim, a combinação de depleção de carnitina e acúmulo de metabólitos do AV, explica, em grande parte, o mecanismo de hiperamonemia nesse contexto.

c. Deficiência de carnitina

A deficiência de carnitina pode ocorrer em pacientes mal nutridos. Limketkai e Zucker (2007) descrevem uma paciente submetida a cirurgia bariátrica para tratamento de obesidade e também ressecção pancreática para tratamento de pancreatite hereditária que desenvolveu quadro súbito de letargia e confusão mental evoluindo para coma. Já Ling *et al.* (2012) descreveram o caso de um paciente cronicamente alimentado por nutrição enteral que apresentava elevação nos níveis séricos de amônia, encefalopatia e deficiência de carnitina, a qual não estava presente na dieta enteral. Após suplementação de carnitina, o paciente apresentou melhora.

d. Sulfadiazina e pirimetamina

Apenas um relato de caso descreve a ocorrência de hiperamonemia com uso oral de sulfadiazina e pirimetamina (associados) em um paciente com concomitante deficiência de carnitina (SEKAS e PAUL, 1993) e o mecanismo não foi elucidado.

2.3.2 Aumento da produção

a. Jejum prolongado, sepse, queimaduras, trauma, exercício, convulsões

Condições que cursam com aumento do catabolismo proteico em pacientes com defeito subjacente no ciclo da ureia, podem, devido ao aumento da carga nitrogenada da degradação proteica, sobrecarregar a capacidade de detoxificação da amônia com resultante elevação da mesma (SUMMAR *et al.*, 2005; CLAY e HAINLINE, 2007; LAISCH e BEN ARI, 2011).

b. Nutrição, hemorragia gastrointestinal

Uso prolongado de nutrição enteral (WELSH, KUCERA & PERLOFF, 2010) e parenteral, por aumento da carga nitrogenada, pode causar hiperamonemia. Especificamente a nutrição parenteral pode levar à hiperamonemia quando contiver somente aminoácidos essenciais, devido à depleção de ornitina, ou em pacientes que tenham algum defeito não conhecido do ciclo da ureia (LAISCH e BEN ARI, 2011).

Sangramento digestivo contribui para hiperamonemia e encefalopatia em pacientes cirróticos em grande parte devido ao sangue ter um grande potencial amoniagênico. Olde Damink, Dejong e Jalan (2009) relatam que após hemorragia gastrointestinal (HGI) ocorre alteração nas concentrações de aminoácidos de cadeia ramificada (AACR) - isoleucina, valina e lisina - pois a molécula de hemoglobina revelou ser totalmente ausente em isoleucina e rica em leucina e valina (OLDE DAMINK *et al.*, 1999). Os AACR possuem uma via comum de degradação por meio da aminotransferase de AACR cuja ação é concentração dependente. Assim, o aumento nas concentrações de leucina e valina que ocorre após HGI estimula a oxidação dos AACR e inibe a síntese proteica cujo resultado final é o catabolismo proteico e aumento na geração de amônia.

Além disso, foi demonstrado por meio de estudos em animais (WELTERS *et al.*, 1999) e humanos (OLDE DAMINK *et al.*, 2003) que os rins aumentam a produção de amônia após dieta com alto teor proteico ou após HGI real ou simulada.

Entretanto, é digno de nota que esses estudos foram realizados em pacientes portadores de cirrose ou em modelos experimentais de disfunção hepática.

c. Malignidades hematológicas e outras

É descrita a ocorrência de HNE em pacientes portadores de mieloma múltiplo (KWAN, WANG & LEVITT, 2002) independentemente do uso de quimioterápicos. Uma revisão de 27 casos (LORA-TAMAYO *et al.*, 2008) mostra que HNE pode ocorrer com qualquer tipo de mieloma múltiplo. Outras malignidades hematológicas foram associadas com ocorrência de hiperamonemia, mas somente após uso de quimioterápicos (descrito no próximo tópico). Também há casos descritos de HNE em transplante de órgãos sólidos como pulmão, coração e rim (HOCKER, RABINSTEIN & WIJDICKS, 2011) e de medula óssea (TSE, CADERBAUN & GLASPY, 1991).

d. Quimioterapia, corticoterapia

Uso de asparaginase (LEONARD e KAY, 1986) pode causar hiperamonemia por liberação de amônia através da hidrólise dos grupos amida da asparagina e glutamina (WALKER, 2012). 5-fluorouracil, em tratamento de tumores sólidos, também já foi implicado como causador de elevação nos níveis séricos de amônia (KWON *et al.*, 2010), mas o mecanismo não é bem conhecido. Também rituximabe foi associado à HNE em paciente com linfoma, no entanto um EIM da amônia não pode ser excluído (NOTT *et al.*, 2008). Corticoides são considerados como causadores de hiperamonemia (HAWLEY, 2000) e embora o mecanismo não seja completamente esclarecido, pode ser devido aos seus efeitos catabólicos (CLAY e HAINLINE, 2007), bem como à estimulação da enzima glutaminase intestinal (SARANTOS, ABOUHAMZE & SOUBA, 1992).

e. Infecções urinárias por microrganismos produtores de urease

Infecções por organismos capazes de decompor ureia podem causar hiperamonemia principalmente em condições de estase urinária como bexiga neurogênica (DRAYNA *et al.*, 1981) ou anomalias congênitas do trato urinário em crianças (DIAMOND, BLIGHT e RANSLEY, 1989). Geralmente, a bactéria mais comum é o *Proteus mirabilis* (SAMTOY e DEBEUKELAER, 1980; SINHA e GONZALEZ, 1984), mas outros microrganismos já foram descritos, como *Klebsiella species* (CHEANG *et al.*, 1998), *Morganella morganii* (VOLPATO *et al.*, 2007), *Providencia rettgeri* (MURRAY e COMEAU, 2001) e até mesmo *Mycobacterium genavense* (NURMOHAMED *et al.*, 2007), este último em paciente transplantado renal. Ao degradar ureia, a amônia é liberada na urina, que por ser livremente difusível é rapidamente absorvida pelo urotélio e drenada pelo sistema venoso à veia cava inferior, desviando-se portanto do metabolismo hepático para ureia (LAISCH e BEN ARI, 2011).

2.3.3 Mecanismo desconhecido

a. Carbamazepina

É uma medicação utilizada como anticonvulsivante a qual foi suspeitada como associada à HNE em poucos casos (AMBROSETTO, RIVA & BARUZZI, 1984; RIVELLI, EL-MALLAKH & NELSON, 1988; ADAMS, MARKS e LIZER, 2009). No entanto o mecanismo causador da HNE não é conhecido.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo principal

Identificar a incidência e a temporalidade de aparecimento de HNE em pacientes gravemente enfermos, inclusive queimados, internados em ambiente de terapia intensiva.

3.2 Objetivos secundários

- a. Identificar possíveis etiologias ou fatores associados à HNE,
- b. Avaliar o impacto da HNE na mortalidade destes pacientes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento da pesquisa

Estudo prospectivo observacional, de incidência.

4.2 Período e local de realização

Realizado no período de 05/03/2012 a 05/09/2012 no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU - UEL). O HU - UEL é um órgão suplementar da UEL caracterizado por ser um hospital universitário público de grande porte, com cerca de 300 leitos. Possui duas unidades de terapia intensiva (UTI) clínico-cirúrgicas, uma delas com pacientes admitidos para condições agudas (p. ex. sepse e pós-operatório de cirurgias eletivas) e a outra para pacientes de longa permanência, frequentemente colonizados com bactérias multirresistentes. Possui também uma UTI especializada no atendimento de paciente grande queimado, com 6 leitos.

4.3 População estudada e amostra

Amostra seriada, de conveniência, constituída por pacientes gravemente enfermos internados nas unidades de terapia intensiva (UTIs) de adultos do HU – UEL.

4.4 Critérios de inclusão

Pacientes maiores de 18 anos, consecutivamente internados nas UTIs gerais por um período de três meses (de 05/03/2012 a 05/06/2012) e por seis meses na UTI de queimados (de 05/03/2012 a 05/09/2012). O período planejado de coleta de dados foi de 3 meses ou a inclusão de pelo menos 20 pacientes.

4.5 Critérios de exclusão

Diagnóstico de falência hepática aguda ou cirrose, evolução para o óbito nas primeiras 24 horas de internação na UTI, admissão na UTI para pós-operatório de cirurgia eletiva, com permanência de menos de 48 horas na unidade, ou ausência de assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, pelo paciente ou seu responsável.

Insuficiência hepática aguda foi definida como ocorrência de encefalopatia hepática, elevação de enzimas hepáticas e alteração da coagulabilidade (razão normalizada internacional (RNI > 1,5), em um paciente sem cirrose hepática prévia, cuja suposta etiologia tenha ocorrido agudamente (LEE, STRAVITZ e LARSON, 2011). Cirrose foi diagnosticada a partir de evidências clínicas (ascite, varizes esofágicas, circulação colateral), laboratoriais (anormalidades na coagulação, plaquetopenia, hiperbilirrubinemia) e de imagem, associadas a uma história clínica prévia, sempre que possível.

4.6 Parecer do comitê de ética

O projeto de pesquisa foi devidamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da UEL (parecer número: 196/2011; anexo A).

4.7 Coleta de dados

Na admissão nas UTIs foram obtidos dados demográficos dos pacientes bem como os diagnósticos de admissão e calculado o escore de gravidade APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*) (KNAUS *et al.*, 1985) e o escore de disfunção orgânica SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) (VINCENT *et al.*, 1996). Os diagnósticos foram classificados em seis categorias: sepse de qualquer gravidade, politrauma, queimadura, pós-operatório (independentemente do tipo de cirurgia), linfoma / leucemia / mieloma e outros diagnósticos não compreendidos nos anteriores. Um mesmo paciente poderia ter mais de um diagnóstico de admissão. Embora os relatos incluam hiperamonemia em pacientes com linfoma em vigência de quimioterapia, para fins deste estudo, esse diagnóstico foi definido independentemente da terapêutica.

Sepse foi definida como a presença de infecção (provável ou comprovada) associada a manifestações sistêmicas como febre ou hipotermia, taquicardia, taquipneia, leucocitose ou leucopenia, segundo os critérios do American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (BONE, SIBBALD e SPRUNG, 1992). Politrauma foi definido como a coexistência de lesões em tórax, abdome e fraturas de pelve ou de membros (superiores ou inferiores).

Diariamente foram registradas, para cada paciente, as presenças de outras 12 possíveis etiologias de HNE: volume de dieta enteral e parenteral; suplementação com

glutamina; jejum prolongado; uso de corticoides, ácido valproico ou carbamazepina. Também foram incluídos quimioterapia, hemorragia gastrointestinal, convulsões, infecção urinária por microrganismo produtor de urease, presença de derivação urinária e uso de sulfadiazina de prata.

Ainda que o uso tópico de sulfadiazina de prata não seja descrito como causa de HNE, na revisão de literatura foi encontrado um relato de hiperamonemia com uso oral da associação de sulfadiazina e pirimetamina (SEKAS e PAUL, 1993), assim, foi incluída a quantidade diária de uso dessa substância, uma vez que o seu uso faz parte da rotina de cuidados dos curativos dos pacientes na UTI de queimados local, podendo potencialmente ser absorvida devido à lesão da barreira cutânea.

Para a dieta, foi calculado o total de calorias e nitrogênio proteico recebido, tanto de nutrição enteral ou parenteral, a partir das composições indicadas pelo fabricante. Dieta oral não foi contabilizada. Jejum prolongado foi definido como a presença de mais de 24h de jejum. Suplementação com glutamina foi contabilizada como a quantidade administrada em gramas, independente se por via enteral ou endovenosa. Hemorragia gastrointestinal foi definida como qualquer episódio de hematêmese, melena, hematoquezia, drenagem por sonda gástrica de conteúdo estomacal sanguinolento ou em “borra-de-café” ou ainda visualização direta endoscópica. Quando da presença de infecção urinária, foi observado se o microrganismo cultivado era produtor de urease.

Diariamente foi calculado o escore SOFA e anotados o uso de sedação, antibioticoterapia (tipo, dose e número de antibióticos usados) e necessidade de terapia renal substitutiva.

As dosagens séricas de amônia foram obtidas somente durante a permanência do paciente na UTI. Foi utilizado preferencialmente sangue arterial dada a facilidade do acesso uma vez que esses pacientes são submetidos à coleta de sangue arterial diariamente. Amostras de sangue foram coletadas nas primeiras 24 horas da admissão, após três e 7 dias de internação e depois semanalmente por mais 3 semanas. Amostras adicionais ao protocolo foram coletadas de acordo com indicação clínica.

Os frascos de coleta, contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante, foram colocados em gelo, centrifugados e analisados dentro de 20 a 30 minutos após a obtenção do plasma (BARSOTTI, 2001). Utilizou-se método

enzimático automatizado em ultravioleta (GLDH - glutamato desidrogenase), em sistema de química clínica (Siemens Dimension®, modelo RxL Max – Brookfield, CT), para dosagem de amônia, tendo como limite superior da normalidade (LSN) o valor de 35 $\mu\text{mol/L}$.

Hiperamonemia foi definida como a presença de concentrações séricas de amônia maiores que 35 $\mu\text{mol/L}$ em pelo menos uma ocasião. Posteriormente, os quadros de hiperamonemia foram classificados em leve, moderado e grave, baseado em estudos prévios (BERNAL *et al.*, 2005) e nos achados da pesquisa.

Outros exames laboratoriais analisados foram aspartato e alanina aminotransferases, tempo de ativação da protrombina (TAP), bilirrubinas, ureia e creatinina, cujas dosagens não foram protocolares, sendo apenas realizadas por indicação clínica. O TAP foi avaliado pelo valor da razão normalizada internacional (RNI) e a creatinina foi utilizada para a estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) pela equação de MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) com 4 variáveis (LEVEY *et al.*, 2000).

A avaliação neurológica do paciente foi feita por exame clínico e métodos complementares, a critério do médico assistente.

Os pacientes foram acompanhados até o óbito ou alta da UTI.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram descritos como mediana e percentil 25 e 75 para variáveis contínuas e frequência bruta e porcentagem para variáveis categóricas.

A relação entre os graus de hiperamonemia e a mortalidade foi testada pelo teste de qui-quadrado.

Foi conduzida análise de regressão de Cox para estimar a razão de risco de aparecimento de hiperamonemia, primeiramente com os dados demográficos e características clínicas da admissão. Em seguida foram analisados os fatores de risco e outros dados clínico-laboratoriais, presentes no dia do aparecimento da hiperamonemia.

Curva ROC (*receiver operating characteristics*) foi gerada para analisar a relação entre valores de amônia e mortalidade.

Para ilustrar o tempo de aparecimento de HNE foi criada uma curva de Kaplan-Meier.

Foi considerado um valor de $P < 0,05$ para significância estatística.

O software SPSS versão 19 (SPSS, Chicago, IL, USA) foi utilizado para as análises.

6 ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA CRITICAL CARE MEDICINE

HYPERAMMONEMIA IN ICU PATIENTS: A FREQUENT FINDING ASSOCIATED WITH HIGH MORTALITY

ABSTRACT

Objective: Hyperammonemia results from acute liver failure or hepatic cirrhosis and rarely from the absence of hepatic disease, a condition known as non-hepatic hyperammonemia (NHH) in which increased ammonia production and/or reduced ammonia degradation is observed. The primary objective was to verify the incidence and temporal appearance of NHH in critically ill patients. Secondary objectives were to identify correlations between NHH and risk factors for the condition and the possible effect of NHH on mortality.

Design: Prospective observational study.

Settings: One medical–surgical intensive care unit (ICU) and 1 burn ICU from a university hospital in Brazil.

Patients: One hundred critically ill patients.

Interventions: None.

Measurements and Main Results: Arterial ammonia levels were collected at admission and on the 3rd, 7th, 14th, 21st, and 28th days after admission and were analyzed together with severity scores (APACHE II and SOFA scores), admission diagnostics, and predisposing factors for NHH. Seventy three patients presented with hyperammonemia (≥ 35 $\mu\text{mol/L}$), 40% and 60% of them in the first 24 h and 72 h after admission, respectively. NHH presence was associated with increased patient mortality. Arterial ammonia cut-off level of 49 $\mu\text{mol/L}$ for mortality prediction was set through receiver operating characteristic curve analysis. NHH severity was associated with progressively higher mortality rates. Statistically significant correlations among the SOFA score, prolonged fasting, and NHH were found. The common etiologies rarely occurred in these patients. No brain edema or death directly attributable to hyperammonemic encephalopathy was observed.

Conclusions: We demonstrated a very high incidence (73%) of NHH in critically ill patients. NHH was an early finding, and its presence and severity were associated with high mortality rates. Ammonia may be a potential marker of disease severity due to the lack of association with commonly reported risk factors and its positive association with SOFA scores and mortality rates.

Keywords: Ammonia. Hyperammonemia. Hyperammonemia/diagnosis. Mortality. Intensive care units. Systemic inflammatory response syndrome.

Introduction

High serum ammonia levels may induce hyperammonemic encephalopathy, a condition that has a wide range of neurological manifestations, from mild cognitive disturbances to coma, cerebral edema, brain stem herniation, and death (1-3). Hyperammonemia contributes to the physiopathology of hepatic encephalopathy, frequently found in patients with acute liver failure (ALF) or chronic liver disease/cirrhosis (CLD). Studies in patients with ALF demonstrate that ammonia blood levels in the order of ≥ 120 $\mu\text{mol/L}$ are associated with a higher incidence of cerebral edema and a worse prognosis (4-6).

Hyperammonemia may also arise from conditions not related to hepatic parenchymatous diseases, thus being called non-hepatic hyperammonemia (NHH). The main causes of NHH are genetic errors in urea cycle metabolism, which are commonly manifested in the neonatal period or early childhood but can also present in adults (7-9). In addition, other etiological factors in adults were also reported, *e.g.*, gastrointestinal hemorrhage (10,11), valproate use (12-14), urinary tract infection (UTI) by urea-splitting organisms (15,16), amongst others. The mechanisms by which these factors cause NHH, although not completely understood, consist basically of a higher level of ammonia production and/or decreased ammonia removal (17,18).

Critically ill patients in intensive care units (ICU) constitute a population where several risk factors for NHH are present (19,20). However, the occurrence of this disturbance is not well known, and to our knowledge, no study has analyzed the incidence, etiologies, or prognostic implications of NHH in this specific population.

Hyperammonemic encephalopathy is a severe but potentially treatable disturbance, which requires a high degree of clinical suspicion for its diagnosis (21-23); data about its incidence, the clinical implications, and predisposing or etiological factors associated with NHH would prompt physicians to further investigate this condition in patients admitted to ICUs.

The main objective of this study was to determine the incidence and the temporal appearance of NHH in critically ill patients (including those with burn injuries) admitted to ICUs. Secondary objectives were to identify possible predisposing/etiological factors for NHH and estimate its impact on mortality.

Materials and Methods

This was a prospective observational study conducted in a medical–surgical ICU and a burn ICU (BICU) of a university hospital (Londrina State University, Londrina, Brazil) with 17 and 6 ICU beds, respectively.

All adult patients aged ≥ 18 years admitted to the ICUs during March 5, 2012, to September 5, 2012, were included. The patients in the medical–surgical ICU were included for a period of 3 months and those in the BICU for 6 months. The difference in observation time between the two ICUs was due to the proposal of including at least 20 burn patients in the study. Exclusion criteria were ALF or CLD, death in the first 24 h of admission, patients discharged from ICU within 48 h of elective surgery or lack of signed informed consent.

Demographics, admission diagnostics, and APACHE II (24) score were obtained at ICU admission. The SOFA (25) score was calculated at admission and every subsequent day. Diagnostics were classified into 6 categories: sepsis, multiple trauma, burn injury, post-operative state, lymphoma/leukemia/multiple myeloma, and other diagnostics not included in the other categories. The same patient could be included in more than one diagnostic class at admission.

ALF was defined as the presence of hepatic encephalopathy, coagulation abnormalities, and elevated liver enzymes in a patient without CLD, and in whom the supposed etiology occurred acutely (26). Cirrhosis was diagnosed in patients with clinical evidence of CLD, abnormal liver function tests, and radiological alterations with a clinical history, whenever possible. Sepsis was defined according to the criteria proposed by the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (27). Multiple trauma was defined as coexisting chest injury, abdominal injury, pelvic fractures, or lower/upper limb fractures.

Based on literature review (10-23,28-42), the following factors possibly associated with NHH in critically ill patients were investigated and noted for each patient on a daily basis: parenteral and enteral nutrition, prolonged fasting, glutamine supplementation, corticosteroids, valproic acid and carbamazepine usage, chemotherapy, gastrointestinal bleeding, convulsions, UTI by urea splitting organisms, and urinary diversion. Topical usage of silver sulfadiazine in burns, although not reported as a possible causative factor of NHH, was included in the risk factors of the study. This was because there was a description of hyperammonemia after oral

administration of sulfadiazine plus pirimetamine (39), and its use for burn wound dressing is a common practice in the local BICU.

Parenteral or enteral nutrition was recorded as the volume administered per day. Calories and nitrogen administered were calculated from the composition indicated by the manufacturer. Oral diet was not included in the calculations. Prolonged fasting was considered when a patient was without oral, enteral, or parenteral diet for ≥ 24 h. Glutamine supplementation was included, independent of it being enteral or parenteral. Gastrointestinal bleeding was defined as an episode of hematemesis, melena, hematochezia, drainage from a nasogastric tube of bloody or coffee ground stomach contents, or detected through direct visualization by endoscopy.

Ammonia levels were measured during the first 24 h of admission and then on the 3rd, 7th, 14th, 21st, and 28th days after admission. Additional samples could be drawn if clinically indicated. Arterial blood samples were collected in vacuum tubes containing EDTA as an anticoagulant. They were stored in ice and centrifuged within 30 minutes and analyzed by a clinical chemistry system using an enzymatic method with glutamate dehydrogenase as a reagent (43) (Siemens Dimension®, model RxL Max, Brookfield, CT). The upper limit of normality (ULN) for ammonia levels was considered to be 35 $\mu\text{mol/L}$, and patients were classed as hyperammonemic if their ammonia levels were above this level at any time. NHH was further classified in mild (35-49 $\mu\text{mol/L}$), moderate (49-99 $\mu\text{mol/L}$), and severe (≥ 100 $\mu\text{mol/L}$).

Some routine laboratory tests conducted by ICU medical staff and also noted were as follows: aspartate and alanine aminotransferases (AST and ALT, respectively), serum total bilirubins and INR, urea and creatinine levels. Glomerular filtration rate (GFR) was calculated by the MDRD 4 variable equation (44). Neurological evaluation could be performed by a specialist or using a brain image at the physician assistant's discretion. When diagnosed with hyperammonemia, treatment was established by the ICU staff and comprised the removal of possible etiological factors, diet adequacy (suspension of parenteral nutrition and introduction of branched chain amino acids), and hemodialysis, if severe enough. Patients were followed until their discharge from ICU or their death, whichever was first.

Data are described as median and 25th and 75th percentiles for quantitative variables and frequency and percentage for qualitative variables. Cox regression analysis was conducted to determine the risk of developing NHH, first with baseline

characteristics at admission and then with risk factors and other clinical and laboratory data presenting on the day of hyperammonemia appearance. A Kaplan–Meier curve was generated to illustrate the time appearance of NHH. A receiver operating characteristic (ROC) curve was calculated to estimate the sensitivity and specificity for cut-off ammonia levels predicting death. Differences between the categories of hyperammonemia and mortality were analyzed using the Chi-square test. Statistical significance was considered at $P < 0.05$; SPSS software (19th version; SPSS, Chicago, IL, USA) was used for the analysis.

The study followed the Helsinki declaration and it was approved by the local ethics committee (approval number: 196/2011).

Results

Two hundred and fifty-eight patients fulfilled inclusion criteria; 158 were excluded (5 had CLD, 10 died in the first 24 h of admission, 89 were admitted for elective surgery and discharged with less than 48 h, and 43 did not sign the informed consent form). No patient presented with ALF. Eleven patients were lost due to inadequate data collection.

From 100 patients analyzed, 73 presented with hyperammonemia at least once according to proposed criteria. Table 1 presents the results for the Cox regression analysis; there was no statistically significant association among NHH, admission diagnostics, age, and severity scores.

Associations of NHH with possible risk/associated factors and other conditions present on the day of hyperammonemia appearance were explored. Table 2 presents a statistically significant association with the SOFA score, prolonged fasting, and the development of NHH.

Time of appearance of NHH is presented by a Kaplan–Meier curve in Fig 1. Almost 40% of patients presented with NHH during the first day of ICU stay, and the cumulative incidence of NHH reached almost 60% by the third day.

Thirty eight patients died (38%), the mortality rate for NHH patients was 48% versus 11.1% for patients with normal ammonia levels ($P < 0.01$). Analysis of the ROC curve, calculated for the highest ammonia level presented at any time by each patient, revealed a cut-off value for ammonia of 49 $\mu\text{mol/L}$ with a specificity of 64,5% and a sensitivity of 79% (AUC 0,771; 95% CI: 51,3–76,3) for prediction of death. A ROC

curve was also calculated for ammonia on the first day of admission, but did not produce a good AUC (data not shown).

Hyperammonemia was further classified into three levels of severity: mild (36–49 $\mu\text{mol/L}$), moderate (50–99 $\mu\text{mol/L}$), and severe (≥ 100 $\mu\text{mol/L}$) and the respective mortality rates were compared (Fig. 2). The threshold values of 49 and 100 $\mu\text{mol/L}$ were drawn, respectively, from the present study findings and from a study published by Bernal *et al.* in which ammonia levels ≥ 100 $\mu\text{mol/L}$ predicted the onset of severe hepatic encephalopathy in patients with ALF (45). There was a significant increase in mortality across the continuum of ammonia levels. Of note, fifty two patients (52%) presented moderate/severe NHH.

Thirteen patients presented severe hyperammonemia and 9 were submitted to hemodialysis, none due to hyperammonemia only (all patients also had acute kidney injury). In 2 patients hyperammonemia contributed to a higher frequency and intensity of dialysis.

Three patients died of intracranial hypertension (2 admitted for head trauma and 1 for subarachnoid hemorrhage). Two of these patients had ammonia levels of 35–57 $\mu\text{mol/L}$ and the other, 126 $\mu\text{mol/L}$. The cause of the intracranial hypertension was attributed to head trauma and subarachnoid hemorrhage (diagnosed at admission) and not hyperammonemia. Neurological evaluations in other patients with suspected hyperammonemic encephalopathy were not deemed necessary.

Discussion

Although NHH has already been described as a cause of coma and death in critically ill patients, there are no studies that directly address this issue. Therefore, the incidence, associated factors, and prognostic implications of NHH in this patient population are unknown. The present study was able to clearly demonstrate that NHH is a very frequent condition in intensive care patients, arising early during ICU admission, and it is associated with high mortality. Statistical analyses revealed, rather unexpectedly, that the etiological risk factors commonly reported as related to NHH appearance were not responsible for the condition in the study patients.

Although the investigation of UCDs and serum amino acid profiling were not performed, we believe that UCDs are not related to the high incidence of NHH observed. Supporting this view is the fact that UCDs presenting in adults are a very

rare manifestation of this group of disorders, and when present, they are usually accompanied by much higher blood ammonia levels. In this study, with the exception of one patient who presented ammonia levels as high as 1600 $\mu\text{mol/L}$, the highest observed ammonia level was 198 $\mu\text{mol/L}$. For this particular patient, serum amino acids were measured; however, because this patient was anuric, urinary orotic acid was not measured; therefore, it was not entirely possible to rule out an UCD.

It could be argued that hyperammonemia might be the result of liver dysfunction related to the severity of the illness. Liver dysfunction in critically ill patients usually manifests itself under two distinctive patterns: hypoxic liver injury (HLI) or jaundice (46). HLI (47) is a multifactorial condition, developing mainly in a clinical acute setting of cardiac, circulatory, or respiratory failure or septic shock, and it is characterized by transient elevations in aminotransferase levels in the order of 20 times the ULN. On the other hand, jaundice or cholestasis (46,48), defined as serum total bilirubin levels of >2 mg/dL, is a common event in critically ill patients. In the present study, the highest aminotransferases levels observed were in the order of 10 and 3 times the ULN for AST and ALT levels, respectively. Furthermore, statistical analysis did not find an association between bilirubin levels (>2 mg/dL) and hyperammonemia.

Despite the paucity of information about NHH in this specific population, some clinical and experimental studies support the study findings and may provide some explanation concerning the very high incidence of NHH in ICU patients, and its causative mechanisms. For instance, Görg *et al.*, in a murine model of sepsis, demonstrated that the enzyme glutamine synthetase, located in perivenous hepatocytes, has its function and expression lowered as result of tyrosine nitration induced by nitro-oxidative stress (49). This enzyme is responsible for scavenging around 20% of ammonia that escapes the urea cycle in periportal hepatocytes (50). The mitochondrial liver enzymes responsible for the urea cycle may also be involved; this is indicated by the findings of an article published by Crouser *et al.* in this journal (51). The authors have shown that the enzyme carbamoyl phosphate synthetase-1 (CPS-1), which catalyzes the first step in the urea cycle, is released in the circulation of septic animals as a result of mitochondrial damage and depletion in the liver during sepsis. They suggest that CPS-1 could be a marker for sepsis severity. Furthermore, it was demonstrated that CPS-1 is affected by tyrosine nitration in mouse liver samples incubated in peroxynitrite in a time and concentration-dependent manner; CPS-1's

activity was diminished in the presence of N-acetylglutamate, its allosteric activator (52).

Clinical evidence indicates that septic patients present altered muscle content with diminished mass and glutamine levels (53). Muscular tissue is either capable of removing ammonia by glutamine synthesis or releasing ammonia from protein (and glutamine) breakdown; thus, the presence of hyperammonemia could also be in line with the findings of Jackson *et al.* (54). These authors studied 7 severely ill patients and found them to be in negative protein balance and depleted in several amino acids including glutamine. Although the whole body glutamine flux was maintained, its metabolic clearance ratio was elevated. The authors concluded that this could be the mechanism resulting in low glutamine levels and suggest that this decrease may indicate an inability of glutamine synthetic mechanisms to meet the increased metabolic demand of critical illness. Taken together, these findings underline the plausibility of hyperammonemia in ICU patients being a truly frequent event, related to severe illness.

A significant finding of this study was the association between hyperammonemia and illness severity or mortality. As shown by ROC curve analysis, an ammonia cut-off level of 49 $\mu\text{mol/L}$ was a predictor of death and the association between hyperammonemia and SOFA score may suggest that organic dysfunction is the true culprit of the mortality difference observed between groups. Even though the SOFA score was not initially designed for mortality prediction, some studies, including one at our own institution (55), have demonstrated different mortality rates through the range of SOFA values. Nevertheless, it should be noted that punctual SOFA values, as used in the present study, do not accurately reflect the full range of disease severity. Data analyses also indicated a positive association between prolonged fasting and NHH that could be interpreted as a real effect of fasting (because it induces protein breakdown) or simply as an indication that more severe patients were not able to receive an oral or enteral diet prior to receiving parenteral nutrition.

Although studies with a greater number of patients are required for appropriate analysis of the impact of NHH on mortality, a statistically significant association of increasing mortality with the severity of hyperammonemia should raise awareness to the fact that ammonia may be directly related to or be a prognostic marker of death. If proved that ammonia could be a marker of disease severity or mortality, it would be a

simple test to perform because it is not expensive, although it may present some technical difficulties (it must be stored on ice and rapidly analyzed).

Our study has some limitations. For instance, relatively low patient number precludes more profound analysis. The Cox regression analysis included variables present only on the day of hyperammonemia appearance, this could lead to an incomplete interpretation of risk factors for NHH (for instance, continued use of corticosteroids increases protein breakdown and the activity of intestinal glutaminase enzyme (56), which hydrolyzes glutamine and releases ammonia). Carnitine deficiency has also been reported as a cause of NHH (57) and its blood levels are shown to be reduced in sepsis (58,59); however, it was not measured in the present study. Further, as previously mentioned, we did not perform amino acids profiles.

Neurological involvement was not routinely assessed by image or EEG, and because hyperammonemia may cause a wide range of neurological manifestations, it could have been useful to systematically evaluate the clinical manifestations of hyperammonemic encephalopathy. However, in the few cases where brain edema was found, it was due to traumatic brain injury or subarachnoid hemorrhage. Nevertheless, it must be emphasized that this finding should not discourage clinicians or intensivists from searching for clinical and radiological manifestations of non-hepatic hyperammonemic encephalopathy since it is a potentially life-threatening, treatable, disorder.

Despite the study limitations, the main objective to explore the occurrence of NHH in critically ill patients was accomplished satisfactorily.

Conclusion

In conclusion, the present study demonstrated, for the first time, the incidence and the time course of NHH in ICU patients. It occurred frequently and early, and the presence of hyperammonemia as well as its severity was associated with high mortality. Risk or etiological factors commonly ascribed to the condition were not frequently observed and statistical analysis did not find a correlation between them and NHH appearance. Whether hyperammonemia in critically ill patients is a true marker of disease severity and a prognostic index or it is merely an epiphenomenon of severe illness is a matter for further research.

References

1. Bosoi CR, Rose CF. Identifying the direct effects of ammonia on the brain. *Metab Brain Dis.* 2009;24(1):95–102.
2. Butterworth RF. Effects of hyperammonaemia on brain function. *J Inherit Metab Dis.* 1998;21 Suppl 1(Suppl 1):6–20.
3. Bjerring PN, Eefsen M, Hansen BA, Larsen FS. The brain in acute liver failure. A tortuous path from hyperammonemia to cerebral edema. *Metab Brain Dis.* 2009;24(1):5–14.
4. Kumar R, Shalimar, Sharma H, et al. Persistent hyperammonemia is associated with complications and poor outcomes in patients with acute liver failure. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(8):925–31.
5. Clemmesen JO, Larsen FS, Kondrup J, Hansen B a, Ott P. Cerebral herniation in patients with acute liver failure is correlated with arterial ammonia concentration. *Hepatology.* 1999;29(3):648–53.
6. Bhatia V, Singh R, Acharya SK. Predictive value of arterial ammonia for complications and outcome in acute liver failure. *Gut.* 2006;55(1):98–104.
7. Häberle J. Clinical practice: the management of hyperammonemia. *Eur J Pediatr.* 2011;170(1):21–34.
8. Walker V. Severe hyperammonaemia in adults not explained by liver disease. *Ann Clin Biochem.* 2012;49(February):1–15.
9. Smith W, Kishnani PS, Lee B, et al. Urea cycle disorders: clinical presentation outside the newborn period. *Crit Care Clin.* 2005;21(4 Suppl):S9–17.
10. Olde Damink SWM, Deutz NEP, Dejong CHC, Soeters PB, Jalan R. Interorgan ammonia metabolism in liver failure. *Neurochem Int.* 2002;41(2-3):177–88.
11. Olde Damink SWM, Dejong CHC, Jalan R. Review article: hyperammonaemic and catabolic consequences of upper gastrointestinal bleeding in cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29(8):801–10.
12. Lewis C, Deshpande A, Tesar GE, Dale R. Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy: a brief review. *Curr Med Res Opin.* 2012;28(6):1039–42.
13. Chopra A, Kolla BP, Mansukhani MP, Netzel P, Frye M a. Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy: an update on risk factors, clinical correlates and management. *Gen Hosp Psychiatry.* 2012;34(3):290–8.

14. Aires CCP, van Cruchten A, Ijlst L, et al. New insights on the mechanisms of valproate-induced hyperammonemia: inhibition of hepatic N-acetylglutamate synthase activity by valproyl-CoA. *J Hepatol.* 2011;55(2):426–34.
15. Drayna CJ, Titcomb CP, Varma RR, Soergel KH. Hyperammonemic encephalopathy caused by infection in a neurogenic bladder. *N Engl J Med.* 1981;304(13):766–8.
16. Volpato S, Cavalieri M, Mari E, Fellin R. An unusual case of hyperammonemia in a 83-year-old woman. *Aging Clin Exp Res.* 2007;19(6):506–8.
17. Laish I, Ben Ari Z. Noncirrhotic hyperammonaemic encephalopathy. *Liver Int.* 2011;31(9):1259–70.
18. Bachmann C. Mechanisms of hyperammonemia. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40(7):653–62.
19. Clay AS, Hainline BE. Hyperammonemia in the ICU. *Chest.* 2007;132(4):1368–78.
20. Summar ML, Barr F, Dawling S, et al. Unmasked adult-onset urea cycle disorders in the critical care setting. *Crit Care Clin.* 2005;21(4 Suppl):S1–8.
21. Hawkes ND, Thomas G a, Jurewicz A, et al. Non-hepatic hyperammonaemia: an important, potentially reversible cause of encephalopathy. *Postgrad Med J.* 2001;77(913):717–22.
22. Mathias RS, Kostiner D, Packman S. Hyperammonemia in urea cycle disorders: role of the nephrologist. *Am J Kidney Dis.* 2001;37(5):1069–80.
23. Elgouhari HM, O’Shea R. What is the utility of measuring the serum ammonia level in patients with altered mental status? *Cleve Clin J Med.* 2009;76(4):252–4.
24. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13(10):818–29.
25. Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996;22(7):707–10.
26. Lee WM, Stravitz RT, Larson AM. Introduction to the revised American Association for the Study of Liver Diseases Position Paper on acute liver failure 2011. *Hepatology.* 2012;55(3):965–7.
27. Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest.* 1992;101(6):1481–3.

28. Samtoy B, DeBeukelaer MM. Ammonia encephalopathy secondary to urinary tract infection with *Proteus mirabilis*. *Pediatrics*. 1980;65(2):294–7.
29. Cheang HK, Rangecroft L, Plant ND, Morris AA. Hyperammonaemia due to *Klebsiella* infection in a neuropathic bladder. *Pediatr Nephrol*. 1998;12(8):658–9.
30. Diamond DA, Blight A, Ransley PG. Hyperammonemic encephalopathy: a complication associated with the prune belly syndrome. *J Urol*. 1989;142(2 Pt 1):361–2.
31. Sinha B, Gonzalez R. Hyperammonemia in a boy with obstructive ureterocele and proteus infection. *J Urol*. 1984;131(2):330–1.
32. Ling P, Lee DJ, Yoshida EM, Sirrs S. Carnitine deficiency presenting with encephalopathy and hyperammonemia in a patient receiving chronic enteral tube feeding: a case report. *J Med Case Rep*. 2012;6(1):227.
33. Welsh E, Kucera J, Perloff MD. Iatrogenic hyperammonemia after anorexia. *Arch Intern Med*. 2010;170(5):486–8.
34. Hawley RJ. Hyperammonia possibly due to corticosteroids. *Arch Neurol*. 2000;57(7):1085–6.
35. Kwan L, Wang C, Levitt L. Hyperammonemic Encephalopathy in Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2002;346(21):1674–1675.
36. Lora-Tamayo J, Palom X, Sarrá J, et al. Multiple myeloma and hyperammonemic encephalopathy: review of 27 cases. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2008;8(6):363–9.
37. Kwon KA, Kwon H-C, Kim MC, et al. A case of 5-fluorouracil induced encephalopathy. *Cancer Res Treat*. 2010;42(2):118–20.
38. Leonard J V, Kay JD. Acute encephalopathy and hyperammonaemia complicating treatment of acute lymphoblastic leukaemia with asparaginase. *Lancet*. 1986;1(8473):162–3.
39. Sekas G, Paul HS. Hyperammonemia and carnitine deficiency in a patient receiving sulfadiazine and pyrimethamine. *Am J Med*. 1993;95(1):112–3.
40. Adams EN, Marks A, Lizer MH. Carbamazepine-induced hyperammonemia. *Am J Health Syst Pharm*. 2009;66(16):1468–70.
41. Ambrosetto G, Riva R, Baruzzi A. Hyperammonemia in asterix induced by carbamazepine: two case reports. *Acta Neurol Scand*. 1984; 69:186-9.
42. Rivelli M, El-Mallakh RS, Nelson WH. Carbamazepine-associated asterix and hyperammonemia. *Am J Psychiatry*. 1988; 145:269-70.

43. Barsotti RJ. Measurement of ammonia in blood. *J Pediatr*. 2001;138(1):S11–S20.
44. Levey AS, Greene T, Kusek J, Beck G. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine (abstract). *J Am Soc Nephrol* 2000;11:155A.
45. Bernal W, Hall C, Karvellas CJ, Auzinger G, Sizer E, Wendon J. Arterial ammonia and clinical risk factors for encephalopathy and intracranial hypertension in acute liver failure. *Hepatology*. 2007;46(6):1844–52.
46. Horvatits T, Trauner M, Fuhrmann V. Hypoxic liver injury and cholestasis in critically ill patients. *Curr Opin Crit Care*. 2013;19(2):128–32.
47. Henrion J. Hypoxic hepatitis. *Liver Int*. 2012;32(7):1039–52.
48. Kramer L, Jordan B, Druml W, Bauer P, Metnitz PGH. Incidence and prognosis of early hepatic dysfunction in critically ill patients--a prospective multicenter study. *Crit Care Med*. 2007;35(4):1099–104.
49. Görg B, Wettstein M, Metzger S, Schliess F, Häussinger D. Lipopolysaccharide-induced tyrosine nitration and inactivation of hepatic glutamine synthetase in the rat. *Hepatology*. 2005;41(5):1065–1073.
50. Häussinger D. Nitrogen metabolism in liver: structural and functional organization and physiological relevance. *Biochem J*. 1990;267(2):281–90.
51. Crouser ED, Julian MW, Huff JE, Struck J, Cook CH. Carbamoyl phosphate synthase-1: a marker of mitochondrial damage and depletion in the liver during sepsis. *Crit Care Med*. 2006;34(9):2439–46
52. Takakusa H, Mohar I, Kavanagh TJ, Kelly EJ, Kaspera R, Nelson SD. Protein tyrosine nitration of mitochondrial carbamoyl phosphate synthetase 1 and its functional consequences. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;420(1):54–60.
53. Gamrin L, Andersson K, Hultman E, Nilsson E, Essén P, Wernerman J. Longitudinal changes of biochemical parameters in muscle during critical illness. *Metabolism*. 1997;46(7):756–62.
54. Jackson NC, Carroll P V, Russell-Jones DL, Sönksen PH, Treacher DF, Umpleby AM. The metabolic consequences of critical illness: acute effects on glutamine and protein metabolism. *Am J Physiol*. 1999;276(1 Pt 1):E163–70.
55. Anami EHT, Grion CMC, Cardoso LTQ, Kauss IAM, Thomazini MC, Zampa HB, et al. Serial evaluation of SOFA score in a Brazilian teaching hospital. *Intensive Crit Care Nurs* 2010; 26:75–82.

56. Sarantos P, Abouhamze A, Souba WW. Glucocorticoids regulate intestinal glutaminase expression. *Surgery*. 1992;112(2):278–83.
57. Limketkai BN, Zucker SD. Hyperammonemic Encephalopathy Caused by Carnitine Deficiency. *J Gen Intern Med*. 2007;23(2):210–213.
58. Famularo G., De Simone C., Trinchieri V., Mosca L.: Carnitine and its congeners: a metabolic pathway to the regulation of immune response and inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2004, 1033:132-138.
59. Flanagan J. L., Simmons P. A., Vehige J., Willcox M. D. P. , Garrett Q. Role of carnitine in disease. *Nutr Metab (Lond)*. 2010;7(1):30.

Table 1: Risk of hyperammonemia development based on patients characteristics at admission

	NHH		P	HR	95% CI	
	Yes	No				
Number	73	27				
Age	51 (24.7-66.7)	63 (42-74)	0.273	0.994	0.984	1.005
Sex (Male)	48 (65.8%)	13 (48.1%)	0.168	1.413	0.864	2.312
Sepsis	28 (13.7%)	8 (29.6%)	0.306	1.281	0.797	2.060
Multiple Trauma	10 (13.7%)	0 (0.0%)	0.173	1.595	0.815	3.124
Burn injury	20 (27.4%)	2 (7.4%)	0.406	1.244	0.743	2.083
Post-operative	17 (23.3%)	9 (33.3%)	0.652	0.883	0.513	1.520
Lymphoma/leukemia/myeloma	2 (2.7%)	0 (0.0%)	0.240	2.340	0.567	9.648
Other	44 (60.3%)	21 (77.8%)	0.446	0.833	0.520	1.333
GFR < 60 ml/min/1,73m²	23 (31.5%)	14 (51.9%)	0.366	0.796	0.485	1.306
APACHE II	18 (13.2-22)	18 (13-24)	0.830	0.997	0.968	1.027
SOFA	6 (3-9.7)	5 (2-7)	0.064	1.060	0.997	1.128

Univariate Cox regression analysis. Frequencies and percentages for categorical variables. Medians and interquartile range for continuous variables. GFR: glomerular filtration rate calculated by the 4 variable MDRD equation; APACHE II: *Acute Physiology and Chronic Health disease Classification System II*; SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*.

Table 2: Risk of hyperammonemia development based on patient characteristics on the day of its appearance

	NHH		P	HR	95% CI	
	Yes	No				
Number	73	27				
SOFA (72/27)	6 (3-10.7)	3 (1-5)	0.004	1.082	1.026	1.141
Total Bilirubin > 2,0 mg/dL	7/67 (10.4%)	0/26 (0%)	0.079	2.038	0.922	4.507
INR (40/12)	1.28 (1.19-1.69)	1.16 (0.98-1.46)	0.326	1.445	0.693	3.015
GFR < 60 ml/min/1,73m²	29/73 (39.7%)	12/26 (46.2%)	0.468	0.837	0.519	1.352
Urea mg/dL (48/13)	43 (26.2-93.7)	57 (28-88.5)	0.347	0.997	0.991	1.003
Corticosteroid	28/73 (38.4%)	7/27 (25.9%)	0.283	1.297	0.807	2.083
Valproic acid	1/73 (1.4%)	0/27 (0%)	0.407	2.310	0.319	16.722
Carbamazepine	0/73 (0%)	3/27 (11.1%)	0.298	0.047	0.000	15.064
Silver sulfadiazine	15/73 (20.5%)	0/27 (0%)	0.065	1.716	0.967	3.043
Total calories^a Cal/d (62/12)	774 (0-1512)	1023 (496-1480)	0.028	1.000	0.999	1.000
Total nitrogen^a g/d (62/12)	4,95 (0-9,7)	6.5 (3.15-9.42)	0.055	0.957	0.915	1.001
Glutamine	11/73 (15.1%)	0/27 (0%)	0.593	1.192	0.626	2.272
Prolonged fasting^b	19/73 (26.0%)	1/27 (3.7%)	0.003	2.308	1.332	3.999
Convulsions	1/73 (1.4%)	0/27 (0%)	0.407	2.310	0.319	16.722
Urinary diversion^c	1/73 (1.4%)	0/27 (0%)	0.407	2.310	0.319	16.722
Urinary tract infection^d	0/73 (0%)	0/27 (0%)				
GI hemorrhage	0/73 (0%)	0/27 (0%)				
Chemotherapy	0/73 (0%)	0/27 (0%)				

Univariate Cox regression analysis. Frequencies and percentages for categorical variables. Medians and interquartile range for continuous variables; in parenthesis the size of the sample for patients with/without NHH. SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*; INR: international normalized ratio; GFR: glomerular filtration rate calculated by the 4 variable MDRD equation; GI: gastrointestinal

^aPatients only receiving oral diet were not included.

^bFasting for ≥ 24 h.

^cIleal conduit in the only patient.

^dUTI by urea splitting organisms.

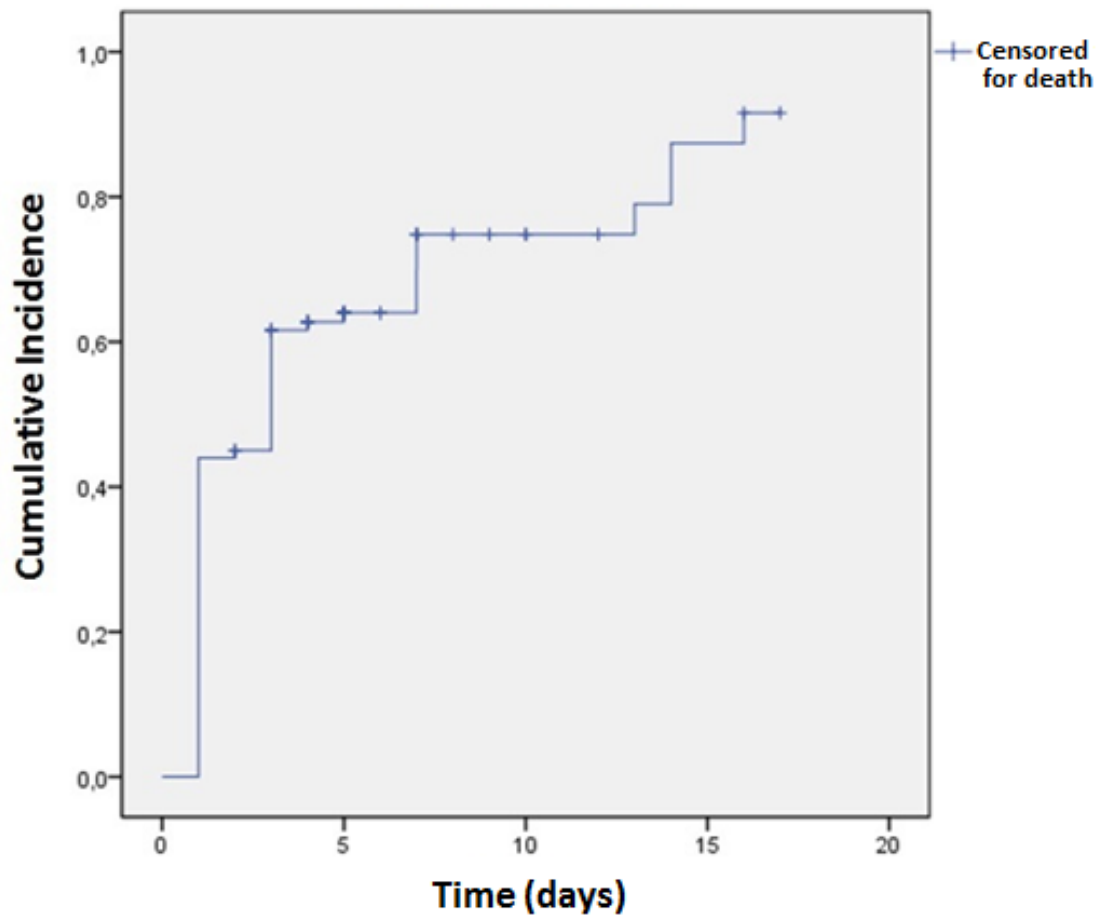


Figure 1: Kaplan–Meier curve for the incidence of hyperammonemia

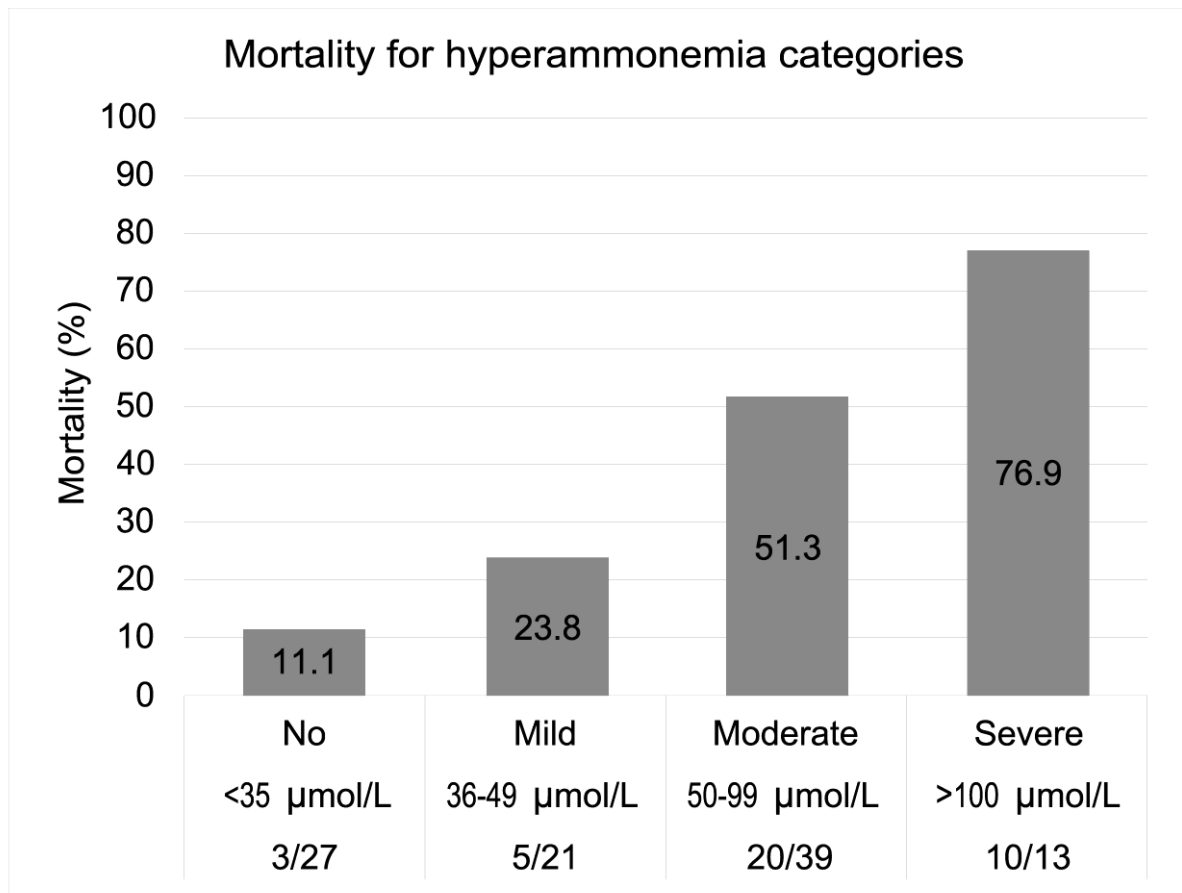


Figure 2: Mortality rates for hyperammonemia categories. Chi-square test; $P < 0.01$ for comparison between all groups.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou, pela primeira vez, a ocorrência elevada de hiperamonemia em pacientes gravemente enfermos, bem como uma linha temporal de aparecimento deste fenômeno. A HNE ocorreu com muita frequência e precocemente no curso da interação na UTI. A presença de hiperamonemia bem como concentrações mais altas de amônia foram associados à maior mortalidade. Os fatores etiológicos comumente descritos para a condição foram pouco frequentes e análise estatística não encontrou nenhuma correlação entre essas fatores e o desenvolvimento de HNE. As causas da hiperamonemia do paciente crítico, assim como sua utilidade como marcador prognóstico ou de gravidade são temas para futuras pesquisas.

8 REFERÊNCIAS DA DISSERTAÇÃO

ADAMS, E. N.; MARKS, A.; LIZER, M. H. Carbamazepine-induced hyperammonemia. **American journal of health-system pharmacy**, v. 66, n. 16, p. 1468–70, 15 ago. 2009.

ADEVA, M. M. et al. Ammonium metabolism in humans. **Metabolism clinical and experimental**, v. 61, n. 11, p. 1495–511, nov. 2012.

AIRES, C. C. P. et al. Inhibition of hepatic carnitine palmitoyl-transferase I (CPT IA) by valproyl-CoA as a possible mechanism of valproate-induced steatosis. **Biochemical pharmacology**, v. 79, n. 5, p. 792–9, mar. 2010.

AIRES, C. C. P. et al. New insights on the mechanisms of valproate-induced hyperammonemia: inhibition of hepatic N-acetylglutamate synthase activity by valproyl-CoA. **Journal of hepatology**, v. 55, n. 2, p. 426–34, ago. 2011.

AMBROSETTO, G.; RIVA, R.; BARUZZI, A. Hyperammonemia in asterixis induced by carbamazepine: two case reports. **Acta neurologica scandinavica**, v. 69, n. 3, p. 186–189, mar. 1984.

BACHMANN, C. Mechanisms of hyperammonemia. **Clinical chemistry and laboratory medicine**, v. 40, n. 7, p. 653–62, jul. 2002.

BARSOZZI, R. J. Measurement of ammonia in blood. **The journal of pediatrics**, v. 138, n. 1, p. S11–S20, jan. 2001.

BHATIA, V.; SINGH, R.; ACHARYA, S. K. Predictive value of arterial ammonia for complications and outcome in acute liver failure. **Gut**, v. 55, n. 1, p. 98–104, jan. 2006.

BJERRING, P. N. et al. The brain in acute liver failure. A tortuous path from hyperammonemia to cerebral edema. **Metabolic brain disease**, v. 24, n. 1, p. 5–14, mar. 2009.

BONE, R. C.; SIBBALD, W. J.; SPRUNG, C. L. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. **Chest**, v. 101, n. 6, p. 1481–3, jun. 1992.

BOSOI, C. R.; ROSE, C. F. Identifying the direct effects of ammonia on the brain. **Metabolic brain disease**, v. 24, n. 1, p. 95–102, mar. 2009.

BRUSILOW, S. W. et al. Astrocyte glutamine synthetase: importance in hyperammonemic syndromes and potential target for therapy. **Neurotherapeutics**, v. 7, n. 4, p. 452–70, out. 2010.

CHEANG, H. K. et al. Hyperammonaemia due to Klebsiella infection in a neuropathic bladder. **Pediatric nephrology**, v. 12, n. 8, p. 658–9, out. 1998.

CHOPRA, A. et al. Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy: an update on risk factors, clinical correlates and management. **General hospital psychiatry**, v. 34, n. 3, p. 290–8, 2012.

CLAY, A. S.; HAINLINE, B. E. Hyperammonemia in the ICU. **Chest**, v. 132, n. 4, p. 1368–78, out. 2007.

CLEMMESSEN, J. O. et al. Cerebral herniation in patients with acute liver failure is correlated with arterial ammonia concentration. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 29, n. 3, p. 648–53, mar. 1999.

DIAMOND, D. A.; BLIGHT, A.; RANSLEY, P. G. Hyperammonemic encephalopathy: a complication associated with the prune belly syndrome. **The journal of urology**, v. 142, n. 2 Pt 1, p. 361–2, 18 ago. 1989.

DRAYNA, C. J. et al. Hyperammonemic encephalopathy caused by infection in a neurogenic bladder. **The new england journal of medicine**, v. 304, n. 13, p. 766–8, 26 mar. 1981.

ELGOUHARI, H. M.; O'SHEA, R. What is the utility of measuring the serum ammonia level in patients with altered mental status? **Cleveland clinic journal of medicine**, v. 76, n. 4, p. 252–4, abr. 2009.

FELIPO, V.; BUTTERWORTH, R. F. Neurobiology of ammonia. **Progress in neurobiology**, v. 67, n. 4, p. 259–79, jul. 2002.

GARIBOTTO, G. et al. Mechanisms of renal ammonia production and protein turnover. **Metabolic brain disease**, v. 24, n. 1, p. 159–167, mar. 2008.

HÄBERLE, J. Clinical practice: the management of hyperammonemia. **European journal of pediatrics**, v. 170, n. 1, p. 21–34, jan. 2011.

HAÜSSINGER, D. Nitrogen metabolism in liver: structural and functional organization and physiological relevance. **The biochemical journal**, v. 267, n. 2, p. 281–90, 15 abr. 1990.

HAWKES, N. D. et al. Non-hepatic hyperammonaemia: an important, potentially reversible cause of encephalopathy. **Postgraduate medical journal**, v. 77, n. 913, p. 717–22, nov. 2001.

HAWLEY, R. J. Hyperammonemia possibly due to corticosteroids. **Archives of neurology**, v. 57, n. 7, p. 1085–6, jul. 2000.

HOCKER, S.; RABINSTEIN, A. A.; WIJDICKS, E. F. M. Pearls & oysters: status epilepticus from hyperammonemia after lung transplant. **Neurology**, v. 77, n. 10, p. e54–6, 6 set. 2011.

IMRAN, M. et al. Is blood ammonia influenced by kidney function? A prospective study. **Clinical biochemistry**, v. 45, n. 4-5, p. 363–5, mar. 2012.

JALAN, R.; BERNUAU, J. Induction of cerebral hyperemia by ammonia plus endotoxin: does hyperammonemia unlock the blood-brain barrier? **Journal of hepatology**, v. 47, n. 2, p. 168–71, ago. 2007.

KNAUS, W. A. et al. APACHE II: a severity of disease classification system. **Critical care medicine**, v. 13, n. 10, p. 818–29, out. 1985.

KUMAR, R. et al. Persistent hyperammonemia is associated with complications and poor outcomes in patients with acute liver failure. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v. 10, n. 8, p. 925–31, ago. 2012.

KWAN, L.; WANG, C.; LEVITT, L. Hyperammonemic Encephalopathy in Multiple Myeloma. **The new england journal of medicine**, v. 346, n. 21, p. 1674–1675, 23 maio 2002.

KWON, K. A. et al. A case of 5-fluorouracil induced encephalopathy. **Cancer research and treatment**, v. 42, n. 2, p. 118–20, jun. 2010.

LAISH, I.; BEN ARI, Z. Noncirrhotic hyperammonaemic encephalopathy. **Liver international**, v. 31, n. 9, p. 1259–70, out. 2011.

LEE, W. M.; STRAVITZ, R. T.; LARSON, A. M. Introduction to the revised American Association for the Study of Liver Diseases Position Paper on acute liver failure 2011. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 55, n. 3, p. 965–7, mar. 2012.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. (2007) **Lehninger: Princípios de Bioquímica**, 4ª Edição, São Paulo, Sarvier, 2006.

LEONARD, J. V.; KAY, J. D. Acute encephalopathy and hyperammonaemia complicating treatment of acute lymphoblastic leukaemia with asparaginase. **Lancet**, v. 1, n. 8473, p. 162–3, 18 jan. 1986.

LEVEY A. S. et al. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine (abstract). **Journal of the american society of nephrology**, v. 11, p. 155A, 2000.

LEWIS, C. et al. Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy: a brief review. **Current medical research and opinion**, v. 28, n. 6, p. 1039–42, jun. 2012.

LIMKETKAI, B. N.; ZUCKER, S. D. Hyperammonemic Encephalopathy Caused by Carnitine Deficiency. **Journal of general internal medicine**, v. 23, n. 2, p. 210–213, fev. 2007.

LING, P. et al. Carnitine deficiency presenting with encephalopathy and hyperammonemia in a patient receiving chronic enteral tube feeding: a case report. **Journal of medical case reports**, v. 6, n. 1, p. 227, jan. 2012.

LORA-TAMAYO, J. et al. Multiple myeloma and hyperammonemic encephalopathy: review of 27 cases. **Clinical lymphoma & myeloma**, v. 8, n. 6, p. 363–9, dez. 2008.

MATHIAS, R. S.; KOSTINER, D.; PACKMAN, S. Hyperammonemia in urea cycle disorders: role of the nephrologist. **American journal of kidney diseases**, v. 37, n. 5, p. 1069–80, maio 2001.

MURRAY, T.; COMEAU, L. L. Hyperammonemic coma caused by *Providencia rettgeri* infection in a child with prune belly syndrome. **Pediatric critical care medicine**, v. 2, n. 2, p. 178–80, 18 abr. 2001.

NOTT, L. et al. Hyperammonaemic encephalopathy associated with rituximab-containing chemotherapy. **Internal medicine journal**, v. 38, n. 10, p. 800–3, out. 2008.

NURMOHAMED, S. et al. Hyperammonemia in generalized *Mycobacterium genavense* infection after renal transplantation. **American journal of transplantation**, v. 7, n. 3, p. 722–3, mar. 2007.

OLDE DAMINK, S. W. et al. Upper gastrointestinal bleeding: an ammoniagenic and catabolic event due to the total absence of isoleucine in the haemoglobin molecule. **Medical hypotheses**, v. 52, n. 6, p. 515–9, 18 jun. 1999.

OLDE DAMINK, S. W. M. et al. Interorgan ammonia metabolism in liver failure. **Neurochemistry international**, v. 41, n. 2-3, p. 177–88, 2002.

OLDE DAMINK, S. W. M. et al. The kidney plays a major role in the hyperammonemia seen after simulated or actual GI bleeding in patients with cirrhosis. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 37, n. 6, p. 1277–85, 18 jun. 2003.

OLDE DAMINK, S. W. M.; DEJONG, C. H. C.; JALAN, R. Review article: hyperammonaemic and catabolic consequences of upper gastrointestinal bleeding in cirrhosis. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 29, n. 8, p. 801–10, 15 abr. 2009.

RIVELLI, M.; EL-MALLAKH, R. S.; NELSON, W. H. Carbamazepine-associated asterixis and hyperammonemia. **The american journal of psychiatry**, v. 145, n. 2, p. 269–70, 18 fev. 1988.

ROMERO-GÓMEZ, M.; JOVER, M. Gut ammonia production and its modulation. p. 147–157, 2009.

SAMTOY, B.; DEBEUKELAER, M. M. Ammonia encephalopathy secondary to urinary tract infection with *Proteus mirabilis*. **Pediatrics**, v. 65, n. 2, p. 294–7, 18 fev. 1980.

SARANTOS, P.; ABOUHAMZE, A.; SOUBA, W. W. Glucocorticoids regulate intestinal glutaminase expression. **Surgery**, v. 112, n. 2, p. 278–83, ago. 1992.

SEKAS, G.; PAUL, H. S. Hyperammonemia and carnitine deficiency in a patient receiving sulfadiazine and pyrimethamine. **The american journal of medicine**, v. 95, n. 1, p. 112–3, 18 jul. 1993.

SINHA, B.; GONZALEZ, R. Hyperammonemia in a boy with obstructive ureterocele and proteus infection. **The journal of urology**, v. 131, n. 2, p. 330–1, 18 fev. 1984.

SKOWROŃSKA, M.; ALBRECHT, J. Alterations of blood brain barrier function in hyperammonemia: an overview. **Neurotoxicity research**, v. 21, n. 2, p. 236–44, fev. 2012.

SMITH, W. et al. Urea cycle disorders: clinical presentation outside the newborn period. **Critical care clinics**, v. 21, n. 4 Suppl, p. S9–17, out. 2005.

SUMMAR, M. L. et al. Unmasked adult-onset urea cycle disorders in the critical care setting. **Critical care clinics**, v. 21, n. 4 Suppl, p. S1–8, out. 2005.

TIZIANELLO, A et al. Renal ammoniogenesis in an early stage of metabolic acidosis in man. **The journal of clinical investigation**, v. 69, n. 1, p. 240–50, jan. 1982.

TSE, N.; CEDERBAUM, S.; GLASPY, J. A. Hyperammonemia following allogeneic bone marrow transplantation. **American journal of hematology**, v. 38, n. 2, p. 140–1, out. 1991.

VAN HALL, G. et al. Deamination of amino acids as a source for ammonia production in human skeletal muscle during prolonged exercise. **The journal of physiology**, v. 489 (Pt 1), p. 251–61, 15 nov. 1995.

VAQUERO, J.; CHUNG, C.; BLEI, A. T. Cerebral blood flow in acute liver failure: a finding in search of a mechanism. **Metabolic brain disease**, v. 19, n. 3-4, p. 177–94, dez. 2004.

VINCENT, J. L. et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. **Intensive care medicine**, v. 22, n. 7, p. 707–10, jul. 1996.

VOLPATO, S. et al. An unusual case of hyperammonemia in a 83-year-old woman. **Agging clinical and experimental research**, v. 19, n. 6, p. 506–8, 18 dez. 2007.

WALKER, V. Severe hyperammonaemia in adults not explained by liver disease. **Annals of clinical biochemistry**, v. 49, n. February, p. 1–15, maio 2012.

WEINER, I. D.; VERLANDER, J. W. Role of NH₃ and NH₄⁺ transporters in renal acid-base transport. **American journal of physiology. Renal physiology**, v. 300, n. 1, p. F11–23, jan. 2011.

WELSH, E.; KUCERA, J.; PERLOFF, M. D. Iatrogenic hyperammonemia after anorexia. **Archives of internal medicine**, v. 170, n. 5, p. 486–8, 8 mar. 2010.

WELTERS, C. F. et al. Enhanced renal vein ammonia efflux after a protein meal in the pig. **Journal of hepatology**, v. 31, n. 3, p. 489–96, 18 set. 1999.

WRIGHT, G. et al. Interorgan ammonia metabolism in liver failure: the basis of current and future therapies. **Liver international**, v. 31, n. 2, p. 163–75, fev. 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa: HIPERAMONEMIA NÃO HEPÁTICA EM PACIENTES EM TERAPIA INTENSIVA, que tem por objetivo dosar a concentração no sangue de uma substância chamada amônia e tentar encontrar uma correlação entre os valores dessa substância no sangue com a melhora ou a piora do estado de consciência dos pacientes. Os resultados deste estudo poderão ajudar os pesquisadores a entender a importância da relação entre presença de amônia elevada no sangue e alterações no estado de consciência em pacientes internados em UTIs semelhantes às deste estudo. Este estudo poderá ajudá-lo se você vier a apresentar alteração na sua consciência juntamente com documentação de níveis elevados de amônia no seu sangue, pois você poderá ser tratado pela remoção da possível causa do aumento da amônia ou por sua retirada por meio de filtração do seu sangue (diálise).

Serão estudados todos os pacientes adultos que internarem nas UTIs do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná no período do estudo. Para a determinação dos níveis de amônia plasmática serão realizadas coletas de sangue nas primeiras 24 horas da admissão na UTI e após 3 e 7 dias de internação na UTI. Posteriormente, se eventualmente houver uma permanência longa sua na UTI, amostras de sangue serão coletadas semanalmente até, no máximo, mais 3 semanas consecutivas. Coletas adicionais podem ser necessárias a critério médico.

A sua participação no estudo será limitada a fornecer 5 mL do seu sangue arterial para cada determinação de amônia a ser realizada. Se você estiver consciente, você poderá sentir algum desconforto durante a punção arterial para a coleta da amônia. Ocasionalmente, poderá ocorrer algum extravasamento de sangue ao redor da punção arterial. Devido ao fato de sua artéria ser puncionada com uma agulha bastante fina, lesão mais séria decorrente da punção arterial não é esperada, mas pode ocorrer. Importante salientar que não será realizado qualquer outro procedimento em você em virtude deste estudo e que todos os pacientes, incluídos ou não neste estudo, seguirão com seus respectivos tratamentos. Você poderá deixar de participar da presente pesquisa em qualquer momento, caso seja de sua vontade ou da vontade do seu responsável no caso de você não ter condições de opinar. Você não será identificado e as informações serão tratadas em sua totalidade, havendo sigilo sobre dados de cada participante. Também faz parte do estudo o levantamento das características clínicas (história, exame físico, tratamentos realizados) e dos exames já realizados durante o acompanhamento clínico (arquivados no prontuário médico).

Remunerações não estão previstas pela sua participação neste estudo.

Para que você participe da presente pesquisa, necessitamos de sua autorização para que possamos dar início à pesquisa.

Assinaturas:

Eu, _____ portador do RG número _____, li e entendi as informações fornecidas sobre a minha participação neste estudo e tive a oportunidade de discutir e fazer perguntas. Confirmando pelo presente que concordo em participar voluntariamente da pesquisa: HIPERAMONEMIA NÃO HEPÁTICA EM PACIENTES EM TERAPIA INTENSIVA.

- Paciente ou representante legal (Caso o paciente esteja impossibilitado de assinar ou de compreender o conteúdo deste TCLE):

Nome: _____

RG : _____

Assinatura: _____

Local e data: _____

- Profissional que obteve o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:

Nome: _____

RG : _____

Assinatura: _____

Local e data: _____

Agradecemos sua atenção e nos colocamos à disposição para maiores esclarecimentos através dos contatos abaixo:

Comitê de Ética (UEL) – (43) 3371-2490. Avenida Robert Kock, nº 60

Pesquisador Responsável: Vinicius Daher A. Delfino – (43) 3371- 2216

vddelfino@sercomtel.com.br

Duas (2) vias deste TCLE, de igual teor e conteúdo, devem ser assinadas, sendo uma via do paciente/representante e a outra do investigador, para arquivo.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer do comitê de ética em pesquisa



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
Universidade Estadual de Londrina
Registro CONEP 268

Parecer CEP/UEL:	196/2011
CAAE:	0156.0.268.000-11
Processo:	19086/2011
Folha de Rosto:	444108
Pesquisador(a):	Vinicius Daher Alvares Delfino
Unidade/Órgão:	CCS – Programa de Mestrado em Ciências da Saúde
<p>Prezado(a) Senhor(a):</p> <p>O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina" (<u>Registro CONEP 268</u>) – de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, avaliou o projeto:</p> <p>"HIPERAMONEMIA NÃO HEPÁTICA EM PACIENTES EM TERAPIA INTENSIVA"</p>	
<p>Situação do Projeto: APROVADO</p> <p>Informamos que deverá ser comunicada, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UEL relatório final da pesquisa.</p>	
<p>Londrina, 15 de setembro de 2011.</p> <p></p> <p>Profa. Dra. Paula Mariza Zedu Alliprandini Vice-coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos Universidade Estadual de Londrina</p>	

ANEXO B – Normas para redação do artigo para a revista Critical Care Medicine

Arquivo disponível no endereço eletrônico:

http://edmgr.ovid.com/ccmed/accounts/CCM_Info_for_Auths.pdf

MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscripts must conform to *Critical Care Medicine* Instructions for Authors and/or the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals,” which can be found on the International Committee of Medical Journal Editors Web site, www.icmje.org. Manuscripts must be double-spaced with pages numbered consecutively, beginning with the title page. Each paragraph should be indented with a tab. The text portion of each manuscript should be in Microsoft Word format, including references and figure legends. Figures can be saved in .tif or .eps format in 300 dpi or higher. Tables should be submitted as Microsoft Word files; spreadsheets are not acceptable. Figures should be saved as separate files and uploaded after the text upload is complete. Specific guidelines for figure formatting are found on the Editorial Manager® home page. Documents submitted in .pdf format are not acceptable.

When uploading the text, tables, and figures into Editorial Manager®, there is the option of entering files for review and files for production. Files for review are viewable by the editorial staff, the editor, and the reviewers. These documents should include all text, tables, and figures, as well as any special referenced material. Files for production are only seen by the editorial staff and will not be seen by reviewers.

MANUSCRIPT CONTENT

Title Page. The title page should contain 1) the title; 2) first name, middle initial, and last name of each author; 3) highest academic degrees, fellowship designations, and institutional affiliation for each author; 4) name of the institution(s) where the work was performed; 5) the address for reprints and a statement regarding whether reprints will be ordered; and 6) financial support used for the study, including any institutional departmental funds. The authors should also provide six key words for indexing, using terms from the Medical Subject Headings list of *Index Medicus*. Structured abstracts are required for all manuscripts (except editorials, letters, and book reviews) submitted to *Critical Care Medicine*.

Editorial Manager® will prompt authors to input the above information into specific fields as they are submitting their manuscript. Authors should also upload their title page and structured abstract with the body of the manuscript. It is also important to note that if there is formatted text or Greek letters or symbols in the title or abstract, special coding is necessary and the Character Palette in Editorial Manager® will need to be used. It is not necessary to code special characters and formats in the actual manuscript.

Abstracts. Abstracts should be no more than 300 words in length and must have the following headings: Objective, Design, Setting, Patients (for Clinical Investigations) or Subjects (for Laboratory Investigations), Interventions, Measurements and Main Results, and Conclusions. Review Articles, Special Articles, and Case Reports should use these headings in the abstract: Objective, Data Sources, Study Selection, Data Extraction, Data Synthesis, and Conclusions. For details regarding the preparation of structured abstracts, refer to the *American Medical Association Manual of Style*, Tenth Edition (pp. 20–23).

Text Material. The text should be organized into the following sections: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, and Conclusions followed by Acknowledgments, References, Figure Legends, and Tables. Secretarial and editorial assistance are not acknowledged. Results may be presented in the text, in the figures, or in the tables. The Discussion section should interpret the results without unnecessary repetition. References to related studies should be included in the text section.

In addition, the following should be observed:

The full term for which an abbreviation stands should be used at its first occurrence in the text unless it is a standard unit of measure. The abbreviation should appear in parentheses after the full term.

Abbreviations should not be in the title, figure legends or table titles.

- For standard American units, do not use values that are more significant than your analysis is capable of accurately measuring (e.g., Pao₂ 84 torr [11.2 kPa], not 83.7 torr).

- Hemodynamic measurements for pressure (e.g., MAP) should appear in mm Hg and gas tension measurements (e.g., Po₂) should appear in torr with SI units in parentheses. The units of vascular resistance are dyne.sec/cm⁵.

- Please provide r² values for parametric data.

References. All references should be cited in sequential order in the text and typed on a separate sheet of paper. References should be identified in text, tables, and legends by full-size Arabic numerals on the line and in parentheses. Do not use word processing footnote, endnote, or paragraph numbering functions to make a list of references. Titles of journals should be set in italics and abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. If journal titles are not listed in *Index Medicus* they should be spelled out. Unpublished data or personal communications should be noted parenthetically within the text but not in the References section. Inclusive page numbers (e.g., p. 1-10) should be used for all references. Listed below are samples of standard references; however, a complete listing of references can be found on the International Committee of Medical Journal Editors Web site, www.icmje.org.

Standard Journal Article: Bone RC, Fisher CJ, Cemmer TP, et al: Sepsis syndrome: A valid clinical entity. *Crit Care Med* 1989; 17:389-393

Standard Book with Authors: Civetta JM, Taylor RW, Kirby RR. *Critical Care*. Third Edition. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, 1996

Standard Book with Editors: Norman IJ, Refern SJ (Eds): *Mental health care for elderly people*. New York, Churchill Livingstone, 1996

Standard Chapter in a Book: Phillips SJ, Whisnant JP: Hypertension and stroke. *In:* Laragh JH, Brenner BM (Eds). Hypertension: Pathophysiology, diagnosis and management. New York, Raven Press, 1995, pp 465-478

Standard Web Site/Electronic Format: Marion DW, Domeier R, Dunham CM, et al: Practice management guidelines for identifying cervical spine injuries following trauma. Available at: <http://www.east.org>. Accessed July 1, 2000

Equations. Equations should be created as normal text or as images. The use of equation editors or utilities may not convert correctly during the manuscript submission process and their use is discouraged.

Tables and Figures. The number of figures and tables should be appropriate for the length of the manuscript; do not use superfluous illustrations. Materials reproduced from another published source must be labeled "Reproduced with permission from... ." In addition, a letter granting permission to reproduce the materials from the copyright holder must be received by SCCM when the manuscript is submitted for review. If the manuscript is accepted for publication, it will not be able to be printed unless this permission letter has been submitted. Adapted figure or table materials must be labeled "Adapted with permission from... ." Letters of permission are also required for adapted materials. A sample of a permission request can be found on Editorial Manager® in the instruction section.

Tables. Do not use tabs to create tables and do not use table editors. Table building utilities will convert, providing that no special images were inserted. Do not reiterate tabular data in the text. Do not use abbreviations in table titles. Do not use all capital letters in table headings and text. Do not use center, decimal tab, and justification commands. Do not use spaces to separate columns. Use a single tab, not a space, on either side of the \pm symbol. Do not underline or draw lines within tables. Footnoted information should be referenced using italicized, superscript, lower case letters (i.e., a, b) in alphabetical order (reading from left to right). Avoid lengthy footnotes and insert descriptive narratives in the text.

Figures.

A) Creating Digital Artwork

1. Learn about the publication requirements for Digital Artwork: <http://links.lww.com/ES/A42>
2. Create, scan, and save your artwork and compare your final figure to the Digital Artwork Guideline Checklist (below).
3. Upload each figure to Editorial Manager® in conjunction with your manuscript text and tables.

B) Digital Artwork Guideline Checklist

Here are the basics to have in place before submitting your digital art:

- Artwork should be saved as .tif or .eps files.
- Artwork is created as the actual size (or slightly larger) it will appear in the journal. (To get an idea of the size images should be when they print, study a copy of the journal to which you wish to submit. Measure the artwork typically shown and scale your image to match.)

- Crop out any white or black space surrounding the image.
 - Diagrams, drawings, graphs, and other line art must be vector or saved at a resolution of at least 1200 dpi. Photographs, radiographs, and other halftone images must be saved at a resolution of at least 300 dpi.
 - Photographs and radiographs with text must be saved as postscript or at a resolution of at least 600 dpi.
 - Each figure must be saved and submitted as a separate file. Figures should not be embedded in the manuscript text file.

Remember:

- Cite figures consecutively in your manuscript.
- Number figures in the figure legend in the order in which they are discussed.
- Upload figures consecutively to the Editorial Manager® Web site and number figures consecutively in the Description box during upload.

For captions and variables within a figure, use Helvetica (or Arial) font, if possible, in upper and lower case letters. Radiographic prints must have arrows (if applicable) for clarity. Color photographs will occasionally be published in the journal if use of color is vital to making the point; authors will be charged the cost of color reproduction. Figures that do not conform to these specifications will be sent back to the corresponding author for correction.

Figure legends should contain enough information for the reader to understand the illustration without referring to the text, but should be concise and should not repeat information already stated in the text. Figure legends should be typed on a separate page. Figures must be referenced sequentially in the text. Authors must assume charges for changes made to figures after manuscripts are accepted.

Units of Measure. Authors should provide units of measurement in SI units. Authors should refer to the *American Medical Association Manual of Style*, Tenth Edition (p. 787) for details regarding SI units for laboratory data.

Manufacturer. Provide in parentheses the model number, name of manufacturer, their city, and state or country, for all equipment described in the paper.

Drug Names. Only generic drug names should be used. Trademark or brand names should not be used except in specific cases where the brand name is essential to reproduce or interpret the study. These exceptions should be noted in accompanying correspondence. The manufacturer with the city, state, and country must be provided for any brand name drugs.

Permissions. Any submitted materials that are to be reproduced (or adapted) from copyrighted publications must be accompanied by a written letter of permission from the copyright holder. Accepted manuscripts will be delayed if necessary permissions are not on file. A sample of a permission request can be found on Editorial Manager® in the instruction section.

Supplemental Digital Content: Authors may submit supplemental digital content to enhance their article's text and to be considered for online-only posting. Supplemental digital content may include the following types of content: text documents, graphs, tables, figures, graphics, illustrations, audio, and video. Cite all supplemental digital content consecutively in the text. Citations should include the type of material submitted, should be clearly labeled as "Supplemental Digital Content," should include a sequential number, and should provide a brief description of the supplemental content. Provide a legend of supplemental digital content at the end of the text. List each legend in the order in which the material is cited in the text. The legends must be numbered to match the citations from the text. Include a title and a brief summary of the content. For audio and video files, also include the author name, videographer, participants, length (minutes), and size (MB). Authors should mask patients' eyes and remove patients' names from supplemental digital content unless they obtain written consent from the patients and submit written consent with the manuscript. Copyright and Permission forms for article content including supplemental digital content must be completed at the time of submission.

Supplemental Digital Content Size and File Type Requirements: To ensure a quality experience for those viewing supplemental digital content, it is suggested that authors submit supplemental digital files no larger than 10 MB each. Documents, graphs, and tables may be presented in any format. Figures, graphics, and illustrations should be submitted with the following file extensions: .tif, .eps, .ppt, .jpg, .pdf, .gif. Audio files should be submitted with the following file extensions: .mp3, .wma. Video files should be submitted with the following file extensions: .wmv, .mov, .qt, .mpg, .mpeg, .mp4. Video files should also be formatted with a 320 x 240 pixel minimum screen size. For more information, please review publisher requirements for submitting supplemental digital content: <http://links.lww.com/A142>

MANUSCRIPT CATEGORIES

Guidelines for the most frequent types of articles submitted to the journal are summarized below.

Original Articles. These include randomized controlled trials, intervention studies, laboratory and animal research, outcome studies, cost-effectiveness analyses, and case-control series. The objective and hypothesis of these articles should be clearly stated. Information should be included about study design and methodology, including study setting and time setting; participants, including inclusion and exclusion criteria; any interventions; main outcome measures; main study results; discussion that puts the results in the context of other published literature; and conclusions. The recommended length for original manuscript is 2000 to 4000 words (8 to 16 typed, double-spaced pages), not including references, tables, or figures.