

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 774**

51 Int. Cl.:

**A61K 49/00** (2006.01)

**A61K 31/19** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.11.2013 PCT/US2013/071333**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.05.2014 WO14081977**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2013 E 13857455 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2922576**

54 Título: **Métodos para administrar y evaluar fármacos de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de encefalopatía hepática**

30 Prioridad:

**21.11.2012 US 201261728967 P**  
**31.01.2013 US 201361759292 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**15.02.2018**

73 Titular/es:

**HORIZON THERAPEUTICS, LLC (100.0%)**  
**150 S. Saunders Rd.**  
**Lake Forest IL 60045, US**

72 Inventor/es:

**SCHARSCHMIDT, BRUCE y**  
**MOKHTARANI, MASOUD**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 654 774 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## Métodos para administrar y evaluar fármacos de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de encefalopatía hepática

### Descripción

5

#### ANTECEDENTES

La encefalopatía hepática (HE) se refiere a un espectro de señales y síntomas neurológicos que se cree son resultado de niveles de amoníaco en sangre aumentados, que tiene lugar frecuentemente en sujetos con cirrosis o ciertos otros tipos de enfermedad del hígado. Los sujetos con HE muestran típicamente estado mentado alterado que varía de cambios sutiles a coma, características similares a las de los sujetos con trastornos del ciclo de la urea (UCDs).

El fenilbutirato de gliceril (gliceril tri-[4-fenilbutirato]) (HPN-100, GPB, GT4P, PBA de glicerol), que se describe en la Patente U.S. N° 5.968.979, está actualmente bajo desarrollo para el tratamiento de HE. Como el PBA de sodios (NaPBA, aprobado en los Estados Unidos como BUPHENYL® y en Europa como AMMONAPS®) y benzoato de sodio. El HPN-100 es un agente de recuperación de nitrógeno. Estos fármacos son a menudo referidos como fármacos de vía alternativa ya que proporcionan al cuerpo con una vía alternativa a la urea para la excreción de nitrógeno residual (Brusilow 1980; Brusilow 1991).

20

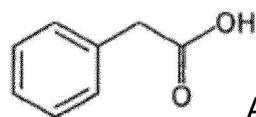
El NaPBA es un profármaco ácido fenilacético (PAA), mientras que el HPN-100 es un profármaco de PBA y un pre-profármaco de PAA. El HPN-100 y el NaPBA comparten el mismo mecanismo de acción general: el PBA se convierte a PAA mediante beta oxidación, y el PAA se conjuga enzimáticamente con glutamina para formar fenilacetilglutamina (PAGN), que se excreta en la orina. Las estructuras de PBA, PAA, y PAGN se exponen a continuación.

25



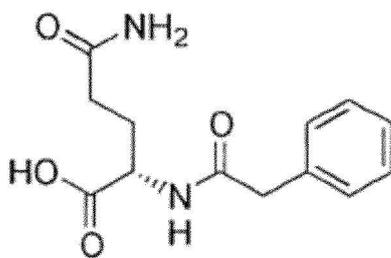
30

fenilbutirato



35

Acido fenilacético



40

45

Fenilacetilglutamina

El beneficio clínico del NaPBA y el HPN-100 respecto a trastornos de retención de nitrógeno como HE deriva de la capacidad del PAGN de reemplazar eficazmente la urea como un vehículo para la excreción de nitrógeno residual y/o reducir la necesidad de síntesis de urea (Brusilow 1991; Brusilow 1993). Como cada glutamina contiene dos moléculas de nitrógeno, el cuerpo se deshace el mismo de dos átomos de nitrógeno residuales por cada molécula de PAGN excretada en la orina (Figura 1). Por lo tanto, se eliminan dos equivalentes de nitrógeno por cada mol de PAA convertido a PAGN. El PAGN representa el metabolito terminal predominante, y uno que está estequiométricamente relacionado para la eliminación de nitrógeno residual, una medida de la eficacia en el caso de estados de retención de nitrógeno. La diferencia entre el HPN-100 y el NaPBA con respecto al metabolismo es que el HPN-100 es un triglicérido y requiere digestión, presumiblemente por lipasas pancreáticas, para liberar PBA (McGuire 2010).

60

Al contrario que el NaPBA o el HPN-100, el benzoato de sodio actúa cuando el ácido benzoico se combina enzimáticamente con glicina para formar ácido hipúrico. Por cada molécula de ácido hipúrico excretado en la orina, el cuerpo se deshace por sí mismo de un átomo de nitrógeno residual.

Los métodos para determinar una dosificación efectiva de profármacos de PAA como el NaPBA o el HPN-

65

100 para un sujeto con necesidad de tratamiento para un trastorno de retención de nitrógeno se describen en la WO09/1134460 y la WO10/025303. Aunque se ha sospechado largamente del amoniaco como importante en la patogénesis del HE, los datos son en gran medida correlativos y sólo recientemente se ha mostrado que una intervención selectiva del amoniaco reduce la probabilidad de eventos de HE (Rockey 2012). El amoniaco no se monitoriza rutinariamente en pacientes con HE; más bien, el tratamiento se basa en evaluación clínica. La WO 2010/025303 A1 divulga un método para determinar una dosis y esquema de dosificación, y hacer ajustes de dosis de pacientes que toman profármacos de PBA como recuperadores de nitrógeno para tratar estados de retención de nitrógeno, incluyendo trastornos de acumulación de amoniaco así como fallo renal crónico, midiendo la excreción urinaria de fenilacetilglutamina y/o nitrógeno urinario total.

## SUMARIO

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para tratar encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello administrando un fármaco de recuperación de nitrógeno a una dosificación suficiente para mantener un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por debajo de un nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal para amoniaco en sangre. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral es 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y en ciertas realizaciones el límite superior del normal para el amoniaco en sangre es 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es HPN-100, PBA, NaPBA, benzoato sódico, o cualquier combinación de los mismos (es decir, cualquier combinación de dos o más de HPN-100, PBA, NaPBA).

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para tratar encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello administrando una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno, midiendo el nivel de amoniaco en sangre en ayunas, y comparando el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre para determinar si hay que aumentar la dosificación del fármaco, en donde la dosificación necesita aumentarse si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral es 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y en ciertas realizaciones el límite superior del normal para el amoniaco en sangre es 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, estos métodos incluyen un paso adicional de administrar una segunda dosificación del fármaco en base a la comparación del nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es HPN-100, PBA, NaPBA, benzoato sódico, o cualquier combinación de los mismos (es decir, cualquier combinación de dos o más de HPN-100, PBA, NaPBA).

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para tratar encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello midiendo el nivel de amoniaco en sangre en ayunas, comparando el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y administrando un fármaco de recuperación de nitrógeno si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral es 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y en ciertas realizaciones el límite superior del normal para el amoniaco en sangre es 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es HPN-100, PBA, NaPBA, benzoato sódico, o cualquier combinación de los mismos (es decir, cualquier combinación de dos o más de HPN-100, PBA, NaPBA). En ciertas realizaciones, el sujeto ha recibido anteriormente una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno, y en ciertas de estas realizaciones el fármaco de recuperación de nitrógeno se administra a una dosificación mayor que la primera dosificación si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima del nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para tratar encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello al que se le ha administrado anteriormente una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno midiendo el nivel de amoniaco en sangre en ayunas, comparando el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y administrando una segunda dosificación del fármaco que es mayor que la primera dosificación si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral es 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y en ciertas realizaciones el límite superior del normal para el amoniaco en sangre es 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es HPN-100, PBA, NaPBA, benzoato sódico, o cualquier combinación de los mismos (es decir, cualquier combinación de dos o más de HPN-100, PBA, NaPBA).

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para administrar óptimamente un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello que incluye un paso de administrar el fármaco de recuperación de nitrógeno, en donde la dosificación del fármaco se ajusta para mantener un amoniaco en sangre en ayunas en o por debajo de un nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal para el amoniaco en sangre. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral es 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y en ciertas realizaciones el límite

superior del normal para el amoniaco en sangre es 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es HPN-100, PBA, NaPBA, benzoato sódico, o cualquier combinación de los mismos (es decir, cualquier combinación de dos o más de HPN-100, PBA, NaPBA).

5 En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para optimizar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de  
 10 ello administrando una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno, midiendo el nivel de amoniaco en sangre en ayunas, y comparando el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre para determinar si hay que aumentar la dosificación del fármaco, en donde la  
 15 dosificación necesita aumentarse si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral es 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y en ciertas realizaciones el límite superior del normal para el amoniaco en sangre es 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, estos métodos incluyen un paso adicional de administrar una segunda dosificación del fármaco en base a la comparación del nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es HPN-100, PBA, NaPBA, benzoato sódico, o cualquier combinación de los mismos (es decir, cualquier combinación de dos o más de HPN-100, PBA, NaPBA).

20 En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para ajustar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello administrando una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno, midiendo el nivel de amoniaco en sangre en ayunas, y determinando si la dosificación del fármaco necesita ser ajustada en base al nivel de amoniaco en sangre en ayunas, en donde el nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima de un nivel de umbral especificado con respecto al límite superior del normal para el amoniaco en sangre indica que la dosificación  
 25 necesita ser aumentada. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral es 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre, y en ciertas realizaciones el límite superior del normal para el amoniaco en sangre es 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, estos métodos incluyen un paso adicional de administrar una segunda dosificación del fármaco en base a la comparación del nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es HPN-100, PBA, NaPBA, benzoato sódico, o cualquier combinación de los mismos (es decir, cualquier combinación de dos o más de HPN-100, PBA, NaPBA).

35 En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para tratar encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello determinando una producción de fenilacetil glutamina urinaria objetivo, calculando una dosificación inicial efectiva de un profármaco de PAA para lograr la producción de fenilacetil glutamina urinaria objetivo en base a una conversión media del profármaco de PAA a fenilacetil glutamina urinaria del 52% al 63%, y administrando la dosificación inicial efectiva del profármaco de PAA al sujeto. En ciertas realizaciones, el profármaco de PAA es HPN-100, PBA, o NaPBA.

40 En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para administrar un profármaco de PAA para el tratamiento de encefalopatía hepática en un sujeto con necesidad de ello administrando una primera dosificación del profármaco de PAA, determinando la producción de fenilacetil glutamina urinaria tras la administración de la primera dosificación, determinando una dosificación efectiva del profármaco de PAA en base a la producción de fenilacetil glutamina urinaria, en donde la dosificación efectiva se basa a una conversión media del profármaco de PAA a PAA del 52% al 63%, y administrando la dosificación efectiva al sujeto.

#### BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

50 Figura 1: El ciclo de urea y como ciertos fármacos de recuperación de nitrógeno pueden ayudar en la eliminación del amoniaco excesivo.

Figura 2: Número estimado de eventos de HE por sujeto durante 16 semanas frente a nivel de amoniaco en plasma pre-dosis en el día 1 (valor de referencia). Mínimo y máximo observados trazados por referencia. Los niveles 4 y 5 difieren significativamente del nivel 1 ( $p=0.007$  y  $p=0.002$ , respectivamente).

55 Figura 3: Número estimado de eventos de HE por sujeto durante 16 semanas frente a nivel de amoniaco en plasma pre-dosis en el día 7. Mínimo y máximo observados trazados por referencia. Los niveles 4 y 5 difieren significativamente del nivel 1 ( $p=0.009$  y  $p=0.003$ , respectivamente).

Figura 4: Número estimado de eventos de HE por sujeto durante 16 semanas frente a nivel de amoniaco en plasma en el día 7, cuatro horas después de la dosificación. Mínimo y máximo observados trazados por referencia. Los niveles 4 y 5 difieren significativamente del nivel 1 ( $p=0.002$  y  $p=0.001$ , respectivamente).

60 Figura 5: Número estimado de eventos de HE por sujeto durante 16 semanas frente a nivel de amoniaco en plasma pre-dosis en el día 14. Mínimo y máximo observados trazados por referencia. Los niveles 4 y 5 difieren significativamente del nivel 1 ( $p=0.014$  y  $p=0.001$ , respectivamente).

65 Figura 6: Número estimado de eventos de HE por sujeto durante 16 semanas frente a nivel de amoniaco en plasma en el día 14, cuatro horas después de la dosificación. Mínimo y máximo observados trazados por referencia. Los niveles difieren significativamente del nivel 1 ( $p=0.002$ ).

Figura 7: Probabilidad de tener 0, 1, ó 2 o más eventos de HE durante 16 semanas como se predice por los niveles de amoniaco en plasma en el valor de referencia (día 1, pre-dosis).

Figura 8: Probabilidad de tener 0 ó 1 o más eventos de HE durante 16 semanas como se predice por los niveles de amoniaco en plasma en el valor de referencia (día 1, pre-dosis).

5 Figura 9: Probabilidad de tener 0, 1, ó 2 o más eventos de HE durante 16 semanas como se predice por los niveles de amoniaco en plasma en el valor de referencia (día 7, pre-dosis).

Figura 10: Probabilidad de tener 0 ó 1 o más eventos de HE durante 16 semanas como se predice por los niveles de amoniaco en plasma en el valor de referencia (día 7, pre-dosis).

## 10 DESCRIPCION DETALLADA

La siguiente descripción de la invención se pretende meramente que ilustre varias realizaciones de la invención, que se define en las reivindicaciones añadidas.

15 En sujetos con HE, el efecto deseado de tratamiento con un fármaco de recuperación de nitrógeno es la prevención de eventos de HE o la reducción de la frecuencia de eventos de HE y sus costo y morbilidad asociados. La evaluación del efecto del tratamiento y la interpretación de los niveles de amoniaco se confunde por el hecho de que los valores de amoniaco individuales varían varias veces durante el curso de un día y se ven impactados por la cadencia de extracción de sangre en relación a la última comida y dosis del fármaco (ver, por ejemplo, Lee 2010; Lichter-Konecki 2011; Diaz 2011, Ghabril 2012).

20 Un valor de amoniaco aleatorio obtenido durante una visita ambulatoria puede fallar también al proporcionar una medida fiable de un estado del sujeto y el efecto del fármaco. Por ejemplo, basar el tratamiento en una muestra de sangre obtenida tras comer una comida podría sobreestimar el nivel de amoniaco diario medio y dar lugar a sobre-tratamiento. Por el contrario, basar el tratamiento en una muestra de sangre tomada después de la administración del fármaco podría subestimar el nivel de amoniaco diario medio y dar lugar a tratamiento insuficiente. Además, los sujetos pueden no mostrar niveles de amoniaco dramáticamente aumentados entre eventos de HE, y la evaluación del nivel de amoniaco en el momento de un evento de HE no es siempre posible. Una visión más precisa del nivel de amoniaco diario podría obtenerse por múltiples extracciones de sangre en un entorno controlado durante un periodo extendido de tiempo. Aunque esto se hace actualmente en ensayos clínicos, esto es clínicamente poco práctico.

25 Como se expone en la sección de ejemplo siguientes, la relación entre los niveles de amoniaco en ayunas y la probabilidad de pacientes que experimenten un evento de HE se evalúa en sujetos con cirrosis y HE. Se descubrió que los niveles de amoniaco en sangre aumentados se correlacionan fuertemente con la probabilidad de experimentar un evento de HE. Sorprendentemente, la relación entre los niveles de amoniaco y los eventos de HE no era lineal, y había un paso adelante en el riesgo de evento de HE en un nivel de amoniaco en ayunas de alrededor de 1,5 veces el límite superior del normal (ULN) en lugar que en el ULN. En base a estos resultados, una comparación de los niveles de amoniaco en ayunas con un umbral especificado o intervalo objetivo con respecto al ULN para el amoniaco en sangre representa un pronosticador nuevo, clínicamente útil y práctico de riesgo de eventos de HE. La presente solicitud proporciona aplicaciones prácticas de este descubrimiento en la forma de métodos y kits para tratar HE, administrando óptimamente un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE, ajustando y optimizando la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE, evaluando la eficacia de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE, determinando si administrar un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE, prediciendo la probabilidad o riesgo de un evento de HE, evaluando y monitorizando la exposición a amoniaco, y otras realizaciones relacionadas.

30 En la presente se proporcionan niveles umbral e intervalos objetivo para amoniaco en sangre en ayunas sobre los que se puede basar una dosificación efectiva de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE. Una dosificación efectiva de un fármaco de recuperación de nitrógeno como se usa en la presente se refiere a una dosificación que da lugar a un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que cae a o por debajo de un nivel de umbral especificado o dentro de un intervalo objetivo especificado después de una o más administraciones. En ciertas realizaciones, la dosificación efectiva da lugar a un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que cae a o por debajo de un nivel de umbral especificado o dentro de un intervalo objetivo especificado después de múltiples administraciones, y en ciertas de estas realizaciones la dosificación efectiva da lugar a un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que cae a o por debajo de un nivel de umbral especificado o dentro de un intervalo objetivo especificado después de que el fármaco haya alcanzado el estado estable. En ciertas realizaciones, el estado estable para una dosificación particular de un fármaco de recuperación de nitrógeno se alcanza en alrededor de tres días después de la administración inicial de esa dosificación. En otras realizaciones, el estado estable puede alcanzarse en dos, cuatro, o cinco días tras la administración inicial.

35 Los niveles de umbral e intervalos objetivo para amoniaco en sangre en ayunas se basan en el ULN para el amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, un intervalo objetivo especificado para amoniaco en sangre en ayunas es <1,2, ≤1,2, <1,3, ≤1,3, <1,4, ≤1,4, <1,5, ≤1,5, <1,6, ≤1,6, <1,7, ≤1,7, <1,8, ≤1,8, <1,9, ≤1,9, <2,0, o ≤2,0 veces el

ULN para el amoniaco en sangre. En ciertas de estas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es  $<1.5$  o  $\leq 1.5$  veces el ULN para el amoniaco en sangre. En otras realizaciones, un intervalo objetivo especificado para el amoniaco en sangre en ayunas es de 0,1 a 1,5, de 0,5 a 1,5, de 0,7 a 1,3, de 0,8 a 1,2, o de 1 a 1,5 veces el ULN para el amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, un nivel de umbral especificado para el amoniaco en sangre en ayunas es 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, o 2,0 veces el ULN para el amoniaco en sangre. En ciertas de estas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN para el amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que está en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo especificado indica que se necesita administrar a un sujeto un fármaco de recuperación de nitrógeno o, cuando el sujeto ha recibido un fármaco de recuperación de nitrógeno anteriormente, que se necesita administrar al sujeto un fármaco de recuperación de nitrógeno diferente o una dosificación más alta del fármaco de recuperación de nitrógeno original. De manera similar, en ciertas realizaciones un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que está en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro de un intervalo objetivo especificado indica que no se necesita administrar al sujeto un fármaco de recuperación de nitrógeno o, cuando el sujeto ha recibido un fármaco de recuperación de nitrógeno anteriormente, que al sujeto se le debe seguir administrando el mismo fármaco de recuperación de nitrógeno y/o la misma dosificación. En ciertas realizaciones, el intervalo óptimo para el amoniaco en sangre en ayunas incluye el nivel de umbral especificado. En estas realizaciones, un nivel de amoniaco en sangre en o por debajo del nivel de umbral especificado es considerado aceptable u óptimo. Por ejemplo, cuando el nivel de umbral especificado es 1,5, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno puede comenzarse o aumentarse si el nivel de amoniaco en sangre está por encima de 1,5. En otras realizaciones, el intervalo óptimo para el amoniaco en sangre en ayunas no incluye el nivel de umbral especificado. En estas realizaciones, sólo un nivel de amoniaco en sangre en ayunas por debajo del nivel de umbral especificado se considera aceptable u óptimo. Por ejemplo, cuando el nivel de umbral especificado es 1,5, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno puede comenzarse o aumentarse si un sujeto muestra un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima de 1,5. Una dosificación efectiva de un fármaco de recuperación de nitrógeno puede ser una dosificación inicial, dosificación posterior/de mantenimiento, dosificación mejorada, o una dosificación determinada en combinación con otros factores. En ciertas realizaciones, la dosificación efectiva puede ser la misma que o diferente que una dosificación inicial. En otras realizaciones, la dosificación efectiva puede ser más alta o más baja que una dosificación inicial.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para tratar HE en un sujeto con necesidad de ello. Los términos "tratar", "tratando" o "tratamiento" como se usan en la presente con respecto a HE pueden referirse a prevenir eventos de HE, reducir el número o frecuencia de eventos de HE, disminuir la probabilidad de experimentar un evento de HE, prevenir, retrasar, reducir, o finalizar síntomas asociados con HE o eventos de HE, o alguna combinación de los mismos.

Eventos de HE evidentes se definen a menudo en la técnica como West Haven grado  $\geq 2$ , manifestados típicamente por confusión con el tiempo, lugar, persona y/o somnolencia e incluso coma. Adicionalmente, un West Haven grado 1 y un aumento en escalas de asterixis para pacientes que son West Haven grado 0 cuando están en remisión se considera clínicamente significativo. Como se usa en la presente, el término "evento de HE" se refiere a un West Haven Grado 2 o por encima o (2) un West Haven Grado 1 Y un incremento del grado de asterixis de 1, si el valor de referencia West Haven era 0.

Un "sujeto con necesidad de ello" como se usa en la presente se refiere a un sujeto humano que tiene HE, se sospecha que tiene HE, se considera con riesgo de desarrollar HE en base a uno o más factores genéticos o ambientales, que experimenta actual o anteriormente un evento de HE, o que se considera con riesgo de experimentar un evento de HE futuro.

En ciertas realizaciones, los métodos para tratar HE proporcionados en la presente comprenden administrar un fármaco de recuperación de nitrógeno a una dosificación suficiente para disminuir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto a o por debajo de un nivel de umbral especificado o a dentro de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre, o para mantener el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto a o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado durante un periodo de tiempo específico (por ejemplo, 2 días, 4 días, 1 semana, 1 mes, o indefinidamente). Por ejemplo, el fármaco puede administrarse a una dosificación suficiente para mantener un nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto a o por debajo de un nivel de umbral especificado de 1,5 veces el ULN, o a una dosificación suficiente para mantener el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto dentro de un intervalo objetivo especificado de 1 a 1,5 veces, entre 1 a 1,5 veces  $<1,5$ , o  $\leq 1,5$  el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno a una dosificación suficiente para mantener un nivel de amoniaco en sangre en ayunas a o por debajo de un nivel de umbral especificado o dentro de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre disminuye la probabilidad de que el sujeto experimente un evento de HE.

En ciertas realizaciones, los métodos para tratar HE proporcionados en la presente comprenden (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas, (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas al ULN para el amoniaco en sangre para determinar si se administra un fármaco de recuperación de nitrógeno, y (c) administrar un fármaco de recuperación de nitrógeno si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel

de umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 entre 1 y 1,5, <1.5, o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que el sujeto experimente un evento de HE. En ciertas realizaciones, los pasos se repiten hasta que se alcanza o mantiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas a o por debajo del nivel de umbral o dentro del intervalo objetivo. En esas realizaciones donde se repiten los pasos, las dosificaciones posteriores pueden ser iguales o diferentes que la primera dosificación. Por ejemplo, puede administrarse una segunda dosificación que es mayor que la primera dosificación si la primera dosificación fue insuficiente para disminuir el nivel de amoniaco en sangre en ayunas a o por debajo del nivel de umbral o a dentro del intervalo objetivo.

En ciertas realizaciones, los métodos para tratar HE proporcionados en la presente comprende (a) administrar una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno, (b) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas, y (c) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el ULN para el amoniaco en sangre para determinar si se aumenta la dosificación del fármaco de recuperación de nitrógeno. En estas realizaciones, la dosificación necesita aumentarse si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel de umbral o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN. En ciertas de estas realizaciones, estos métodos incluyen un paso adicional de administrar una segunda dosificación del fármaco mayor que la primera dosificación en base a la comparación en el paso (c). Si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado, por otro lado, la segunda dosificación puede ser la misma que o menor que la primera dosificación. En ciertas realizaciones, estos pasos pueden repetirse, con el sujeto recibiendo dosificaciones crecientes del fármaco de recuperación de nitrógeno hasta que se alcanza o mantiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas a o por debajo del umbral especificado o dentro del intervalo objetivo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el nivel de amoniaco en sangre en ayunas puede medirse tras la administración de la segunda dosificación, y si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo con respecto al ULN, puede administrarse una tercera dosificación que es mayor que la segunda dosificación. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 veces, entre 1 y 1,5, <1.5, o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración de la segunda, tercera o posteriores dosificaciones del fármaco disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En ciertas realizaciones, los métodos de tratar HE proporcionados en la presente están dirigido al tratamiento de sujetos que han recibido previamente una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno. En ciertas de estas realizaciones, los métodos comprenden (a) medir un primer nivel de amoniaco en sangre en ayunas, (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el ULN para el amoniaco en sangre, y (c) administrar una segunda dosificación del fármaco que es mayor que la primera dosificación si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo con respecto al ULN. Si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado, por otro lado, la segunda dosificación puede ser la misma que o menor que la primera dosificación. En ciertas realizaciones, estos pasos pueden repetirse. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el nivel de amoniaco en sangre en ayunas puede medirse tras la administración de la segunda dosificación, y si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo con respecto al ULN, puede administrarse una tercera dosificación que es mayor que la segunda dosificación. Este proceso puede repetirse hasta que el sujeto muestra un nivel de amoniaco en ayunas en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 entre 1 y 1,5, <1.5, o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración de la segunda, tercera y posteriores dosificaciones del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para administrar óptimamente un fármaco de recuperación de nitrógeno a un sujeto con necesidad de ello para el tratamiento de HE. En ciertas realizaciones, estos métodos comprenden administrar el fármaco de recuperación de nitrógeno a una dosificación suficiente para disminuir el nivel de amoniaco en ayunas del sujeto a o por debajo del nivel de umbral especificado o a dentro de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre, o para mantener el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto a o por debajo del nivel de umbral o dentro del intervalo objetivo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el fármaco puede administrarse a una dosificación suficiente para mantener el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto por debajo de un nivel de umbral especificado de 1,5 veces el ULN, o dentro de un intervalo objetivo especificado de 1 a 1,5, entre 1 y 1,5, <1.5, o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En ciertas realizaciones, los métodos para administrar óptimamente un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE proporcionado en la presente comprenden (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas, (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el ULN para amoniaco en sangre

para determinar si se administra un fármaco de recuperación de nitrógeno, y (c) administrar una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel de umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5, entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, los pasos se repiten hasta que se alcanza o mantiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por debajo del nivel de umbral o dentro del intervalo objetivo. En esas realizaciones donde se repiten los pasos, la dosificación del fármaco de recuperación de nitrógeno puede ajustarse con cada administración posterior para obtener un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por debajo del nivel de umbral o dentro del intervalo objetivo.

En ciertas realizaciones, los métodos para administrar óptimamente un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE proporcionado en la presente comprenden (a) administrar una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno, (b) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas, y (c) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el ULN para amoniaco en sangre para determinar si se aumenta la dosificación del fármaco, en donde la dosificación necesita aumentarse si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel de umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN. En ciertas realizaciones, estos métodos incluyen un paso adicional de administrar una segunda dosificación del fármaco en base al paso de comparación (c). Si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas están en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro de un intervalo objetivo especificado, por otro lado, la segunda dosificación puede ser la misma o menor que la primera dosificación. En ciertas realizaciones, estos pasos pueden repetirse, con el sujeto recibiendo dosis crecientes de fármaco de recuperación de nitrógeno hasta que se alcanza o mantiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por debajo del umbral especificado o dentro del intervalo especificado. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el nivel de amoniaco en sangre en ayunas puede medirse tras la administración de la segunda dosificación, y si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo especificado con respecto al ULN, puede administrarse una tercera dosificación que es mayor que la segunda dosificación. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5, entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que el sujeto experimente un evento de HE.

En ciertas realizaciones, los métodos para administrar óptimamente un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE proporcionado en la presente están dirigidos a sujetos que han recibido previamente una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno. En ciertas de estas realizaciones, los métodos comprenden (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas, (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el ULN para el amoniaco en sangre, y (c) administrar una segunda dosificación del fármaco que es mayor que la primera dosificación si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima de un nivel umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo con respecto al ULN. Si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado, por otro lado, la segunda dosificación puede ser la misma que o menor que la primera dosificación. En ciertas realizaciones, estos pasos pueden repetirse. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el nivel de amoniaco en sangre en ayunas puede medirse tras la administración de la segunda dosificación, y si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo con respecto al ULN, puede administrarse una tercera dosificación que es mayor que la segunda dosificación. Este proceso puede repetirse hasta que el sujeto muestra un nivel de amoniaco en ayunas en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración de la segunda, tercera y posteriores dosificaciones del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para ajustar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE en un sujeto con necesidad de ello. En ciertas realizaciones, estos métodos comprenden ajustar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para disminuir el amoniaco en sangre en ayunas del sujeto a o por debajo de un nivel de umbral especificado o a dentro de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre, o para mantener el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto en o por debajo del nivel de umbral o dentro del intervalo objetivo especificado. Por ejemplo, la dosificación puede ajustarse a una dosificación suficiente para mantener un nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto en o por debajo de un nivel de umbral especificado de 1,5 veces el ULN o dentro de un intervalo objetivo especificado de 1 a 1,5 entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración de la dosis ajustada de fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En ciertas realizaciones, los métodos de ajustar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE proporcionados en la presente comprenden (a) administrar una primera dosificación de un

fármaco de recuperación de nitrógeno, (b) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas, y (c) determinar si la dosificación del fármaco necesita ser ajustada en base al nivel de amoniaco en sangre en ayunas, en donde un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima de un nivel de umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre indica que la dosificación necesita aumentarse. En ciertas realizaciones, estos métodos incluyen un paso adicional de administrar una segunda dosificación ajustada del fármaco en base a la comparación en el paso (c). En ciertas realizaciones, si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas en el paso (b) está en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado, la segunda dosificación ajustada puede ser la misma que o menor que la primera dosificación. En ciertas realizaciones, estos pasos pueden repetirse, con el sujeto recibiendo dosificaciones crecientes del fármaco de recuperación de nitrógeno hasta que se alcanza o mantiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas a o por debajo del umbral especificado o dentro del intervalo objetivo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el nivel de amoniaco en sangre en ayunas puede medirse tras la administración de la segunda dosificación, y si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo con respecto al ULN, puede administrarse una tercera dosificación que es mayor que la segunda dosificación. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 veces, entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En ciertas realizaciones, los métodos de ajustar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE proporcionados en la presente están dirigidos a sujetos que han recibido previamente una primera dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno. En ciertas de estas realizaciones, (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas y (b) determinar si la dosificación del fármaco necesita ser ajustada en base al nivel de amoniaco en sangre en ayunas, en donde un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima de un nivel de umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre indica que la dosificación necesita aumentarse. En ciertas realizaciones, estos métodos incluyen un paso adicional de administrar una segunda dosificación ajustada del fármaco en base a la comparación en el paso (c). En ciertas realizaciones, si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas en el paso (a) está en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado, la segunda dosificación ajustada puede ser la misma que o menor que la primera dosificación. En ciertas realizaciones, estos pasos pueden repetirse, con el sujeto recibiendo dosificaciones crecientes del fármaco de recuperación de nitrógeno hasta que se alcanza o mantiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas a o por debajo del umbral especificado o dentro del intervalo objetivo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el nivel de amoniaco en sangre en ayunas puede medirse tras la administración de la segunda dosificación, y si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas está en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo con respecto al ULN, puede administrarse una tercera dosificación que es mayor que la segunda dosificación. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 veces, entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para evaluar la eficacia de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE en un sujeto con necesidad de ello. En ciertas realizaciones, estos métodos comprenden (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en un sujeto al que se le ha administrado un fármaco de recuperación de nitrógeno y (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el ULN para amoniaco en sangre, en donde un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima de un nivel de umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre indica que el fármaco de recuperación de nitrógeno no ha sido completamente efectivo. En ciertas realizaciones, estos métodos comprenden el paso adicional de administrar una dosificación aumentada del fármaco de recuperación de nitrógeno o administrar un segundo fármaco de recuperación de nitrógeno en lugar de o adicionalmente al fármaco de recuperación de nitrógeno original. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 veces, entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para determinar si se administra un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE a un sujeto con necesidad de ello que comprende (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas y (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con un nivel de umbral especificado o un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre, en donde un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo especificado indica que debe administrarse un fármaco de recuperación de nitrógeno al sujeto. En ciertas realizaciones, estos métodos comprenden además administrar el fármaco de recuperación de nitrógeno. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 veces, entre 1 y 1,5,  $<1.5$ , o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para determinar si se administra un segundo fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE a un sujeto con necesidad de ello al que se la ha administrado previamente un primer fármaco de recuperación de nitrógeno que comprende (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas tras la administración del primer fármaco de recuperación de nitrógeno y (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con un nivel de umbral especificado o un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre, en donde un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima del nivel de umbral especificado o por encima del intervalo objetivo especificado indica la necesidad de administrar un segundo fármaco de recuperación de nitrógeno al sujeto. En ciertas realizaciones, estos métodos comprenden además administrar el segundo fármaco de recuperación de nitrógeno. En ciertas de estas realizaciones, el segundo fármaco de recuperación de nitrógeno se administra en lugar del primer fármaco de recuperación de nitrógeno. En otras realizaciones, el segundo fármaco de recuperación de nitrógeno se administra en combinación con el primer fármaco de recuperación de nitrógeno, ya sea secuencial o simultáneamente. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 veces, entre 1 y 1,5, <1.5, o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, la administración del segundo fármaco de recuperación de nitrógeno disminuye la probabilidad de que un sujeto experimente un evento de HE.

En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones métodos para usar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas para predecir la probabilidad y/o severidad de eventos de HE futuros. En ciertas de estas realizaciones, se clasifica a un sujeto como más probable que experimente un evento de HE o más probable que experimente un evento de HE severo si el sujeto muestra un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por encima de un nivel de umbral especificado o por encima de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre. De manera similar, en ciertas realizaciones, se clasifica a un sujeto como menos probable que experimente un evento de HE o menos probable que experimente un evento de HE severo si el sujeto muestra un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en o por debajo de un nivel de umbral especificado o dentro de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, el nivel de umbral especificado es 1,5 veces el ULN. En ciertas realizaciones, el intervalo objetivo especificado es de 1 a 1,5 veces, entre 1 y 1,5, <1.5, o  $\leq 1.5$  veces el ULN. En ciertas realizaciones, un riesgo del sujeto de experimentar un evento de HE aumenta cuanto más aumenta el nivel de amoniaco en sangre en ayunas por encima del nivel de umbral especificado o intervalo objetivo especificado. Por ejemplo, donde el nivel de umbral especificado es 1,5, un sujeto con un nivel de amoniaco en sangre en ayunas de 2,0 veces el ULN para el amoniaco en sangre puede clasificarse como más probable que experimente un evento de HE que un sujeto con un nivel de amoniaco en sangre en ayunas de 1,6 veces el ULN. De manera similar, en ciertas realizaciones, la severidad probable de un evento de HE futuro aumenta cuanto más aumenta el nivel de amoniaco en sangre en ayunas por encima del valor de umbral especificado o intervalo objetivo especificado. Por ejemplo, donde el nivel de umbral especificado es 1,5 un sujeto con un nivel de amoniaco en sangre en ayunas de 2,0 veces el ULN para amoniaco en sangre puede esperarse que experimente eventos de HE más severos que un sujeto con un nivel de amoniaco en sangre en ayunas de 1,6 veces el ULN. En ciertas realizaciones, estos métodos comprenden además tomar medidas para reducir la probabilidad de que el sujeto experimente un evento de HE, y en ciertas de estas realizaciones los métodos comprenden administrar un fármaco de recuperación de nitrógeno o una dosis aumentada de un fármaco de recuperación de nitrógeno. En ciertas de estas realizaciones, el fármaco de recuperación de nitrógeno es administra a una dosificación suficiente para disminuir el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto a o por debajo de un nivel de umbral especificado o a dentro de un intervalo objetivo especificado con respecto al ULN para el amoniaco en sangre, o para mantener el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto en o por debajo del nivel de umbral especificado o dentro del intervalo objetivo especificado durante un periodo de tiempo especificado.

El ULN para el amoniaco en sangre representa típicamente el nivel más alto en el intervalo de valores normales, que puede estar influenciado por una variedad de factores como el método de ensayo, tipos de reactivos, muestras de referencia estándar usadas, y especificaciones y calibración del equipo usado para realizar la medición. En ciertas realizaciones de los métodos divulgados en la presente, el ULN para el amoniaco en sangre se determina para un sujeto individualmente. En otras realizaciones, el ULN para el amoniaco en sangre puede basarse en mediciones obtenidas a través de un conjunto de sujetos (por ejemplo, sujetos sanos o sujetos con HE). En ciertas realizaciones, el ULN para el amoniaco en sangre puede representar un valor de referencia estándar divulgado en la técnica, como un ULN medio desarrollado a través de un subconjunto particular de sujetos. En otras realizaciones, el ULN para el amoniaco en sangre puede representar una medición estándar que se ha desarrollado por una entidad particular que realiza extracciones de sangre y/o evaluaciones de sangre, como un laboratorio clínico particular. En ciertas realizaciones, el ULN es un valor de referencia estándar utilizado por la misma entidad que mide el nivel de amoniaco en sangre en ayunas. En estas realizaciones, un experto en la técnica reconocerá que las unidades de medición de amoniaco también pueden variar de laboratorio a laboratorio (por ejemplo,  $\mu\text{g/ml}$  o  $\mu\text{mol/l}$ ), enfatizando la importancia de interpretar los niveles de amoniaco del sujeto en relación al ULN en el laboratorio en el que se realizó la medición. En ciertas realizaciones, el ULN para el amoniaco en sangre puede ser de aproximadamente 12 a 70  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas de estas realizaciones, el ULN para el amoniaco en sangre puede ser de aproximadamente 11 a 64  $\mu\text{mol/l}$ , 20 a 50  $\mu\text{mol/l}$ , 30 a 40  $\mu\text{mol/l}$ , 32 a 38  $\mu\text{mol/l}$ , o 34 a 36  $\mu\text{mol/l}$ , y en ciertas de estas realizaciones el ULN para el amoniaco en sangre es aproximadamente 35  $\mu\text{mol/l}$ . En ciertas realizaciones, el ULN para el amoniaco en sangre puede ser de aproximadamente 20 a 120  $\mu\text{g/dl}$ . En ciertas de estas realizaciones, el ULN para el

amoniaco en sangre puede ser de aproximadamente 50 a 65 µg/dl, 55 a 63 µg/dl, o 57 a 61 µg/dl, y en ciertas de estas realizaciones el ULN para el amoniaco en sangre es aproximadamente 59 µg/dl.

5 Un fármaco de recuperación de nitrógeno como se usa en la presente se refiere a cualquier fármaco que disminuye los niveles de nitrógeno y/o amoniaco en sangre. En ciertas realizaciones, un fármaco de recuperación de nitrógeno puede eliminar nitrógeno en la forma de PAGN, y en ciertas de estas realizaciones el fármaco de recuperación de nitrógeno puede ser un fármaco administrable oralmente que contiene o se metaboliza a PAA. Por ejemplo, un fármaco de recuperación de nitrógeno puede ser un profármaco de PAA como PBA o HPN-100, una sal farmacéuticamente aceptable de PBA como NaPBA, o un éster, ácido o derivado farmacéuticamente aceptable de un profármaco de PAA. En otras realizaciones, un fármaco de recuperación de nitrógeno puede eliminar nitrógeno mediante ácido hipúrico. En ciertas de estas realizaciones, un fármaco de recuperación de nitrógeno puede ser ácido benzoico, una sal farmacéuticamente aceptable de ácido benzoico como benzoato sódico, o un éster, ácido, o derivado farmacéuticamente aceptable de ácido benzoico.

15 Aumentar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno puede referirse a aumentar la cantidad de fármaco por administración (por ejemplo, un aumento de una dosificación de 3 ml a una dosificación de 6 ml), aumentar el número de administraciones del fármaco (por ejemplo, un aumento de una dosificación de una vez al día a dos o tres veces al día), o cualquier combinación de las mismas.

20 En ciertas realizaciones, un sujeto al que se le ha administrado anteriormente un fármaco de recuperación de nitrógeno se le ha administrado el fármaco durante una duración de tiempo suficiente para alcanzar un estado estable. De manera similar, en esos métodos donde se mide el nivel de amoniaco en sangre en ayunas tras una primera, segunda, tercera o posterior dosificación de fármaco de recuperación de nitrógeno, la medición puede llevarse a cabo después de que el fármaco haya tenido suficiente tiempo para alcanzar el estado estable en esa dosificación. Por ejemplo, al sujeto se le puede haber administrado el fármaco durante un periodo de aproximadamente 2 a 7 días, 1 semana a 2 semanas, 2 semanas a 4 semanas, 4 semanas a 8 semanas, 8 semanas a 16 semanas, o más de 16 semanas.

30 En ciertas realizaciones de los métodos divulgados en la presente, el periodo de ayunas para obtener un nivel de amoniaco en sangre en ayunas es durante la noche. En ciertas realizaciones, el periodo de ayunas es 4 horas o más, 5 horas o más, 6 horas o más, 7 horas o más, 8 horas o más, 9 horas o más, 10 horas o más, 11 horas o más, 12 horas o más, y en ciertas realizaciones el periodo de ayunas es de 4 a 8 horas, 6 a 8 horas, o 8 a 12 horas. Durante el periodo de ayunas el sujeto preferiblemente no ingiere ninguna comida. En ciertas realizaciones, el sujeto puede también abstenerse de ingerir ciertas sustancias no alimenticias durante el periodo de ayunas. Por ejemplo, en ciertas realizaciones el sujeto no ingiere ningún suplemento y/o fármaco de recuperación de nitrógeno durante el periodo de ayunas. En ciertas de estas realizaciones, el sujeto puede sin embargo ingerir uno o más fármacos distintos a los fármacos de recuperación de nitrógeno durante el periodo de ayunas. En ciertas realizaciones, el sujeto no ingiere ningún líquido alto en calorías durante el periodo de ayunas. En ciertas de estas realizaciones, el sujeto no ingiere ningún líquido distinto del agua durante el periodo de ayunas. En otras realizaciones, el sujeto puede ingerir pequeñas cantidades de bebidas con pocas calorías, como té, café o zumos diluidos.

45 En ciertas realizaciones de los métodos divulgados en la presente, las muestras de sangre usadas para medir los niveles de amoniaco en sangre y/o amoniacos en sangre ULN son muestras de sangre venosa. En ciertas realizaciones, una muestra de sangre es una muestra de sangre de plasma. Puede usarse cualquier método conocido en la técnica para obtener una muestra de sangre de plasma. Por ejemplo, la sangre de un sujeto puede extraerse a un tubo que contiene heparina o ácido etilendiaminotetracético (EDTA). En ciertas realizaciones, la muestra puede colocarse en hielo y centrifugarse para obtener plasma al de 15 minutos de la recogida, almacenarse a de 2 a 8° C (36 a 46°F) y analizarse al de tres horas de la recogida. En otras realizaciones, la muestra de sangre de plasma se congela al instante, se almacena a  $\leq -18^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 0^{\circ}\text{F}$ ) y se analiza en un momento posterior. Por ejemplo, la muestra puede analizarse al de 0 a 12 horas, 12 a 24 horas, 24 a 48 horas, 48 a 96 horas tras la congelación, o dentro de cualquier otro marco temporal sobre el que la muestra ha demostrado estabilidad. En ciertas realizaciones, las muestras de sangre se toman en un laboratorio o entorno hospitalario. En ciertas realizaciones, se usa una única muestra de sangre en ayunas para medir el nivel de amoniaco en sangre en ayunas. Sin embargo, en otras realizaciones, pueden obtenerse múltiples muestras de sangre en ayunas. En ciertas realizaciones, un nivel de amoniaco en sangre del sujeto puede monitorizarse a lo largo del día. Además, en ciertas realizaciones, los métodos divulgados en la presente comprenden un paso adicional de obtener una o más muestras de sangre de un sujeto antes de o después de medir el nivel de amoniaco en sangre en ayunas.

60 En ciertas realizaciones, una muestra de sangre se analiza inmediatamente después de la recogida. En otras realizaciones, la muestra de sangre se almacena durante algún periodo entre la recogida y el análisis. En estas realizaciones, la muestra puede almacenarse durante menos de 1 hora, 1 hora a 6 horas, 1 hora a 12 horas, 1 hora a 24 horas, o 1 hora a 48 horas. En ciertas de estas realizaciones, la muestra de sangre se almacena a una temperatura entre 0 y 15° C, como de 2 a 8°C. En otras realizaciones, la muestra de sangre se almacena por debajo de 0° C o por debajo de -18° C.

65

La medición de los niveles de amoníaco en una muestra de sangre en ayunas puede llevarse a cabo usando cualquier técnica conocida en la técnica. Por ejemplo, los niveles de amoníaco pueden medirse usando una reacción colorimétrica o una reacción enzimática. En ciertas realizaciones, una reacción colorimétrica puede implicar el uso de azul de bromofenol como un indicador de amoníaco. En estas realizaciones, el amoníaco puede reaccionar con azul de bromofenol para producir un tinte azul. En ciertas realizaciones, una reacción enzimática puede implicar glutamato deshidrogenasa que cataliza la aminación reductora de 2-oxoglutarato con  $\text{NH}_4^+$  y NADPH para formar glutamato y  $\text{NADP}^+$ . La formación de  $\text{NADP}^+$  es directamente proporcional a la cantidad de amoníaco presente en la muestra de sangre. Por lo tanto, la concentración de amoníaco se mide en base a una disminución en la absorbancia.

Como se expone adicionalmente en la sección de ejemplos siguiente, la conversión de profármacos de PAA a PAGN urinario se evaluó en sujetos con HE. Se descubrió que la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinario era del 57%, con un intervalo del 52-63% con intervalo de confianza del 95%. Esto es significativamente inferior que el porcentaje de conversión informado anteriormente para pacientes con HE en la Publicación de Patente US N° 2010/0008859. La Publicación de Patente US N° 2010/0008859 informa de un porcentaje de conversión media total del 60-75% en sujetos con trastornos de retención de nitrógeno generalmente, y un porcentaje de conversión media de aproximadamente el 75% en pacientes con HE específicamente. En ciertas realizaciones, este porcentaje de conversión media del profármaco de PAA a PAGN urinaria puede usarse solo o en combinación con mediciones del nivel de amoníaco en sangre en ayunas y/o mediciones de ingesta de proteínas dietéticas para tratar HE usando un profármaco de PAA, administrar un profármaco de PAA, determinar una dosificación efectiva de un profármaco de PAA, o evaluar o ajustar la dosificación de un profármaco de PAA. En estas realizaciones, la conversión porcentual media puede ser del 50-65% o un porcentaje dentro de este intervalo (por ejemplo aproximadamente del 52 al 63%, del 55 al 60%, del 56 al 58%, 57%, etc.). En ciertas realizaciones de los métodos divulgados en la presente que tienen en cuenta la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinaria, la dosificación efectiva se calcula en base a una producción de nitrógeno objetivo. En ciertas realizaciones, el PAGN urinaria puede determinarse como una relación de la concentración de PAGN urinaria con creatinina urinaria.

En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para calcular una dosificación inicial efectiva de un profármaco de PAA para un sujeto con HE determinando la producción de PAGN urinaria objetivo y calculando la dosificación inicial efectiva en base a la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinaria como se divulga en la presente. En ciertas realizaciones relacionadas, se proporcionan métodos para administrar un profármaco de PAA a un sujeto con HE o tratar a un sujeto que tiene HE que comprende (a) determinar una producción de PAGN urinaria objetivo, (b) calcular una dosificación inicial efectiva de profármaco de PAA en base a la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinaria, y (c) administrar la dosificación inicial efectiva. En otras realizaciones, se proporcionan métodos para determinar una dosificación efectiva de un profármaco de PAA para un sujeto con HE que comprende (a) administrar una primera dosificación, (b) medir la producción de PAGN urinaria, y (c) determinar una dosificación efectiva en base a la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinaria como se divulga en la presente. En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para administrar un profármaco de PAA a un sujeto con HE que comprenden (a) administrar una primera dosificación de un profármaco de PAA, (b) determinar la producción de PAGN urinaria, (c) determinar una dosificación efectiva del profármaco de PAA en base a la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinaria, y (d) administrar la dosificación efectiva. En otras realizaciones más, se proporcionan métodos para determinar si ajustar una dosificación de profármaco de PAA en base a la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinaria como se divulga en la presente.

En ciertas realizaciones, la conversión porcentual de profármaco de PAA a PAGN urinaria como se divulga en la presente puede incorporarse en los métodos expuestos en la presente para tratar HE, administrar óptimamente un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE, ajustar la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para el tratamiento de HE, o predecir la probabilidad o riesgo de un evento de HE en base al nivel de amoníaco en sangre en ayunas. En ciertas de estas realizaciones, la conversión porcentual del profármaco de PAA a PAGN urinaria como se divulga en la presente puede usarse para determinar una dosificación inicial efectiva de profármaco de PAA para tratar HE, mientras que el nivel de amoníaco en ayunas puede usarse para determinar la eficacia de la dosificación inicial o para determinar si se ajusta la dosificación o se administra un segundo fármaco de PAA. En otras realizaciones, la conversión porcentual de profármaco de PAA a PAGN urinaria como se divulga en la presente y el nivel de amoníaco en ayunas pueden ambas tenerse en cuenta cuando se determina la primera o posteriores dosis óptimas de un profármaco de PAA, se ajusta la dosificación de profármaco de PAA, se evalúa la eficacia de un profármaco de PAA, o se determina si se administra un profármaco de PAA para el tratamiento de HE. En ciertas de estas realizaciones, los métodos incluyen los pasos de medir el nivel de amoníaco en ayunas y medir la PAGN urinaria.

Un experto en la técnica reconocerá que pueden tenerse en consideración una variedad de otros factores cuando se determina la dosificación efectiva de un fármaco de recuperación de nitrógeno. Por ejemplo, pueden considerarse factores como la dieta (por ejemplo, ingesta de proteínas) y capacidad de eliminación de nitrógeno

residual endógena (por ejemplo, capacidad de síntesis de urea).

5 En la presente se proporcionan en ciertas realizaciones kits para llevar a cabo los métodos divulgados en la presente. En ciertas realizaciones, se proporcionan kits para evaluar la probabilidad de un sujeto de experimentar un evento de HE y para determinar si se administra un fármaco de recuperación de nitrógeno o se ajusta la dosificación de un fármaco de recuperación de nitrógeno para un sujeto. Los kits divulgados en la presente pueden incluir uno o más fármacos de recuperación de nitrógeno y/o uno o más reactivos (por ejemplo, azul de bromofenol) o enzimas (por ejemplo glutamato deshidrogenasa) para medir los niveles de amoniaco en sangre en una muestra. El kit puede incluir adicionalmente otros pigmentos, aglutinantes, surfactantes, tampones, estabilizantes, y/o productos químicos necesarios para obtener una muestra de sangre y para medir el nivel de amoniaco en la muestra. En ciertas realizaciones, los kits proporcionados en la presente comprenden instrucciones en un medio tangible.

10 Un experto en la técnica reconocerá que pueden combinarse varias realizaciones descritas en la presente. Por ejemplo, los pasos de los varios métodos de tratamiento divulgados en la presente pueden combinarse para alcanzar un nivel satisfactorio o mejorado de tratamiento.

15 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor la invención reivindicada y no se debe interpretar que limitan el alcance de la invención. En la medida en que se mencionan materiales específicos, es meramente con propósitos de ilustración y no se pretende que limiten la invención, que se define en las reivindicaciones añadidas,

### Ejemplos

#### Ejemplo 1: Predecir eventos de HE futuros en niveles de amoniaco en ayunas:

25 Se evaluó la relación entre eventos de HE y niveles de amoniaco en ayunas en sujetos de la prueba clínica de HALT-HE (HPN-100-008, identificador ClinicalTrials.gov NCT00999167). Para ser elegible para el análisis de HE, el sujeto tenía que (1) ser incluido en la población segura de HALT-HE (Parte B), (2) tener por lo menos un tratamiento con un fármaco de estudio (ya sea HPN-100 o placebo), y (3) tener una medición cuantificable de amoniaco en plasma de un espécimen de sangre extraído en la visita y en el punto temporal de interés. De los 178 sujetos totales inscritos en el estudio de HALT-HE e incluidos en la población de seguridad, 171 cumplieron los criterios adicionales.

30 Los niveles de amoniaco en ayunas se midieron en el día 1 (valor de referencia) y en los días 7 y 14. Los valores del día 1 se derivaron de la medición más cercana a, pero antes de, el inicio de la dosificación. Los valores en el día 7 y 14 se obtuvieron del día de la visita nominal y punto temporal (pre-dosis o 4 horas). Para tener en cuenta las diferencias en los laboratorios locales usados durante la prueba clínica, las mediciones locales de amoniaco se estandarizaron a un límite superior del normal (ULN) de 35  $\mu\text{mol/l}$  de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$40 \quad \text{Amoniaco}_{\text{std}} = \text{Amoniaco}_{\text{local}} * (35/\text{ULN de Amoniaco}_{\text{local}}).$$

45 Los eventos de HE se evaluaron durante 16 semanas. Un evento de HE se definió como la aparición de o (1) un West Haven Grado 2 o por encima o (2) un West Haven Grado 1 Y un aumento de grado de asterixis de 1, si el valor de referencia West Haven era 0.

Para describir la relación entre los niveles de amoniaco en plasma y eventos de HE, los niveles de amoniaco en los momentos nominales se agruparon inicialmente en cinco categorías como múltiplos del ULN estandarizado (35  $\mu\text{mol/l}$ ): (1) [0 -  $\leq 0.5$ ], (2) [0.5 -  $\leq 1.0$ ], (3) [1.0 -  $\leq 1.5$ ], (4) [1.5 -  $\leq 2.0$ ], y (5) [ $> 2.0$ ].

50 Cada sujeto tiene entre cero y ocho episodios de HE durante el curso de su exposición al fármaco del estudio. La relación entre el amoniaco en un momento nominal dado y el número de eventos de HE se modeló usando un modelo binomial negativo mediante el cual el efecto del fármaco del estudio se consideró sólo tras controlar el nivel de amoniaco. Como no todos los sujetos tenían la misma cantidad de tiempo en el estudio ( y por lo tanto no tenían la misma oportunidad de experimentar eventos de HE), el modelo se ajustó para (compensó para) la duración del tratamiento, medida en días y convertida a semanas. En base al modelo, el número de eventos de HE se estimó para cada nivel de amoniaco. Comparando cada nivel de amoniaco con el nivel más bajo, el patrón de la relación podía ser no sólo descrito sino también probado estadísticamente mediante contrastes a priori.

60 Con propósitos de predicción, se categorizó el número de eventos de HE para cada sujeto usando dos esquemas de resultados diferentes: (1) un agrupamiento de tres categorías (0 episodios, 1 episodio, o 2 o más episodios) y (2) un agrupamiento de dos categorías (0 episodios o 1 o más episodios). Para el esquema de resultados de tres categorías se modeló la probabilidad de tener un resultado en una de las tres categorías en base al nivel de amoniaco usando regresión logística ordenada siguiendo un modelo de probabilidades proporcionales (McCullagh y Nelder, Generalized Linear Models, 2ª ed. Boca Raton: Chapman and Hall, Ch. 5 (1989)). Para el segundo esquema, se modelaron las probabilidades de tener un resultado en una de las dos categorías en base al

nivel de amoniaco usando regresión logística binaria. En cada caso, se derivaron intervalos de confianza del 95% de predicción alrededor de las probabilidades usando remuestreo con reemplazamiento del conjunto de datos original con 1000 iteraciones siguiendo la técnica de Davison y Hinkley (Bootstrap Methods and Their Application, Cambridge Univ. Press, pp. 358-362 (1997)).

5

La relación entre eventos de HE y niveles de amoniaco en el día 7 (pre-dosis), día 7 (cuatro horas después de la dosificación), día 14 (pre-dosis), y día 14 (cuatro horas después de la dosificación) para cada uno de estos grupos se resume en las Figuras 2-6. Este análisis no reveló diferencia significativa entre las dos categorías más bajas y entre las dos categorías más altas, por lo que las categorías se colapsaron en dos esquemas de agrupamiento diferentes con propósitos de modelado: (1) un agrupamiento de tres categorías ( $[0 - 1.0]$ ,  $[>1.0 - 1.5]$ , y  $[> 1.5]$ ) y 2) un agrupamiento de dos categorías ( $[0 - 1.5]$  y  $[>1.5]$ ). La relación entre los eventos de HE y niveles de amoniaco en el día 1, día 7 (pre-dosis), día 7 (cuatro horas después de la dosificación), día 14 (pre-dosis), y día 14 (cuatro horas después de la dosificación) para cada uno de estos grupos se resume en las Tablas 1-5, respectivamente. En cada tabla, las primeras tres filas para cada grupo de tratamiento muestran los resultados para el modelo de tres categorías ( $[0 - 1.0]$ ,  $[>1.0 - 1.5]$ , y  $[>1.5]$ ), mientras que las dos filas siguientes muestran los resultados para el modelo de dos categorías ( $[0 - 1.5]$  y  $[>1.5]$ ). Observar que, en base a la metodología estadística, la estimación de eventos de HE para la categoría de entrada  $>1,5$  en un modelo de dos categorías no es necesariamente igual al resultado para el modelo de tres categorías.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 1: Recuento de eventos de HE durante 16 semanas por nivel de pre-dosis de amoniaco en el día 1:

Grupo de Tratamiento	Nivel de amoniaco en sangre (como múltiplo de ULN)	N	N° de eventos de HE por sujeto					Estimado* durante 52 semanas	Valor p frente a valor más bajo	Efecto principal valor p del fármaco	Fármaco valor p x interacción de amoniaco
			Min	Max	Estimado* durante 16 semanas	Max	Min				
HPN-100	[0-1.0]	37	0	2	0.25		0.80	.	.	.	
	>1.0 - 1.5]	23	0	5	0.61		1.98	0.287	.	.	
	>1.5]	26	0	4	1.35		4.37	0.031	.	.	
	[0 - 1.5]	60	0	5	0.39		1.26	.	.	.	
	>1.5]	26	0	4	1.36		4.41	0.071	.	.	
Placebo	[0 - 1.0]	34	0	2	0.37		1.21	.	.	.	
	>1.0 - 1.5]	22	0	5	0.95		3.08	0.119	.	.	
	>1.5]	29	0	8	2.20		7.14	<.001	.	.	
	[0 - 1.5]	56	0	5	0.59		1.90	.	.	.	
	>1.5]	29	0	8	2.21		7.19	0.003	.	.	
TOTAL	[0 - 1.0]	71	0	2	0.30		0.99	.	0.132	0.995	
	>1.0 - 1.5]	45	0	5	0.78		2.55	0.054	.	.	
	>1.5]	55	0	8	1.81		5.89	<.001	.	.	
	[0 - 1.5]	116	0	5	0.48		1.57	.	.	.	
	>1.5]	55	0	8	1.83		5.94	<.001	.	.	

Tabla 2: Recuento de eventos de HE durante 16 semanas por nivel de pre-dosis de amoniaco en el día 7:

Tratamiento	Amoniaco en plasma (como múltiplo de ULN)	N	N° de eventos de HE por sujeto					Estimado* durante 52 semanas	Valor p frente a valor más bajo	Efecto principal valor p del fármaco	Fármaco valor p x interacción de amoniaco
			Min	Max	Estimado* durante 16 semanas	Max	Min				
HPN-100	[0 - 1.0]	43	0	2	0.29	0.95	.	.	.	.	
	[>1.0 - 1.5]	17	0	5	0.90	2.92	0.174	.	.	.	
	[>1.5]	18	0	4	1.38	4.50	0.046	.	.	.	
	[0 - 1.5]	60	0	5	0.45	1.47	.	.	.	.	
	[>1.5]	18	0	4	1.40	4.56	0.134	.	.	.	
Placebo	[0 - 1.0]	33	0	1	0.30	0.97	.	.	.	.	
	[>1.0 - 1.5]	19	0	2	0.23	0.73	0.699	.	.	.	
	[>1.5]	26	0	8	2.53	8.23	<.001	.	.	.	
	[0 - 1.5]	52	0	2	0.27	0.88	.	.	.	.	
	[>1.5]	26	0	8	2.53	8.22	<.001	.	.	.	
TOTAL	[0 - 1.0]	76	0	2	0.29	0.94	.	0.920	.	0.124	
	[>1.0 - 1.5]	36	0	5	0.47	1.53	0.348	.	.	.	
	[>1.5]	44	0	8	2.10	6.84	<.001	.	.	.	
	[0 - 1.5]	112	0	5	0.35	1.13	.	.	.	.	
	[>1.5]	44	0	8	2.11	6.85	<.001	.	.	.	

Tabla 3: Recuento de eventos de HE durante 16 semanas por nivel de amoníaco en el día 7, cuatro horas post-dosis:

Grupo de Tratamiento	Amoníaco en plasma (como múltiplo de ULN)	N	N° de eventos de HE por sujeto			Estimado* durante 16 semanas	Estimado* durante 52 semanas	Valor p frente a valor más bajo	Efecto principal valor p del fármaco	Fármaco valor p x interacción de amoníaco
			Min	Max						
HPN-100	[0-1.0]	33	0	2	0.16	0.51	.	.	.	
	>1.0-1.5]	20	0	5	0.88	2.85	0.048	.	.	
	>1.5]	23	0	4	1.16	3.77	0.016	.	.	
	[0-1.5]	53	0	5	0.41	1.34	.	.	.	
	>1.5]	23	0	4	1.18	3.85	0.145	.	.	
Placebo	[0-1.0]	36	0	4	0.36	1.17	.	.	.	
	>1.0-1.5]	12	0	2	0.36	1.16	0.999	.	.	
	>1.5]	30	0	8	2.19	7.13	<.001	.	.	
	[0 - 1.5]	48	0	4	0.36	1.16	.	.	.	
	>1.5]	30	0	8	2.19	7.13	<.001	.	.	
TOTAL	[0 - 1.0]	69	0	4	0.27	0.87	.	0.275	0.249	
	>1.0 - 1.5]	32	0	5	0.63	2.05	0.111	.	.	
	>1.5]	53	0	8	1.76	5.72	<.001	.	.	
	[0 - 1.5]	101	0	5	0.38	1.23	.	.	.	
	>1.5]	53	0	8	1.77	5.74	<.001	.	.	

Tabla 4: Recuento de eventos de HE durante 16 semanas por nivel de amoniaco en el día 14:

Grupo de Tratamiento	Amoniaco en plasma (como múltiplo de ULN)	N	N° de eventos de HE por sujeto				Estimado* durante 52 semanas	Valor p frente a valor más bajo	Efecto principal valor p del fármaco	Fármaco valor p x interacción de amoniaco
			Min	Max	Estimado* durante 16 semanas	Max				
HPN-100	[0 - 1.0]	45	0	5	0.36	1.18	.	.	.	
	[>1.0 - 1.5]	14	0	2	0.40	1.29	0.923	.	.	
	[>1.5]	19	0	4	1.29	4.21	0.106	.	.	
	[0 - 1.5]	59	0	5	0.37	1.21	.	.	.	
	[>1.5]	19	0	4	1.29	4.21	0.096	.	.	
Placebo	[0 - 1.0]	31	0	4	0.53	1.73	.	.	.	
	[>1.0 - 1.5]	16	0	2	0.20	0.65	0.230	.	.	
	[>1.5]	27	0	8	2.08	6.76	0.013	.	.	
	[0 - 1.5]	47	0	4	0.41	1.32	.	.	.	
	[>1.5]	27	0	8	2.08	6.77	0.001	.	.	
TOTAL	[0 - 1.0]	76	0	5	0.43	1.41	.	0.428	0.579	
	[>1.0 - 1.5]	30	0	2	0.28	0.92	0.474	.	.	
	[>1.5]	46	0	8	1.77	5.74	0.002	.	.	
	[0 - 1.5]	106	0	5	0.39	1.26	.	.	.	
	[>1.5]	46	0	8	1.77	5.74	<.001	.	.	

Tabla 5: Recuento de eventos de HE durante 16 semanas por nivel de amoniaco en el día 14 cuatro horas post-dosis:

Grupo de Tratamiento	Amoniaco en plasma (como múltiplo de ULN)	N	N° de eventos de HE por sujeto				Estimado* durante 52 semanas	Valor p frente a valor más bajo	Efecto principal valor p del fármaco	Fármaco valor p x interacción de amoniaco
			Min	Max	Estimado* durante 16 semanas	Max				
HPN-100	[0-1.0]	35	0	4	0.28	0.92	.	.	.	
	[1.0-1.5]	22	0	2	0.41	1.33	0.688	.	.	
	[>1.5]	17	0	4	0.96	3.13	0.210	.	.	
	[0-1.5]	57	0	4	0.33	1.09	.	.	.	
	[>1.5]	17	0	4	0.97	3.14	0.236	.	.	
Placebo	[0-1.0]	35	0	1	0.20	0.65	.	.	.	
	[>1.0-1.5]	7	0	1	0.47	1.52	0.360	.	.	
	[>1.5]	34	0	8	1.97	6.40	<.001	.	.	
	[0-1.5]	42	0	1	0.25	0.81	.	.	.	
	[>1.5]	34	0	8	1.97	6.42	<.001	.	.	
TOTAL	[0 - 1.0]	70	0	4	0.24	0.77	.	0.474	0.493	
	[>1.0 - 1.5]	29	0	2	0.41	1.35	0.346	.	.	
	[>1.5]	51	0	8	1.66	5.39	<.001	.	.	
	[0 - 1.5]	99	0	4	0.29	0.95	.	.	.	
	[>1.5]	51	0	8	1.66	5.41	<.001	.	.	

Como se muestra en estos resultados, los niveles de amoniaco en ayunas se correlacionaban con los eventos posteriores de HE durante el periodo de exposición de 16 semanas. Por ejemplo, los sujetos con un nivel de amoniaco pre-dosis en el día 1 que era menor que o igual al ULN (es decir, 0-1,0) experimentaron 0,30 eventos estimados durante 16 semanas. El número de eventos aumentó a 0,78 para sujetos con nivel de amoniaco pre-dosis de >1,0 a 1,5 ULN, y a 1,81 para sujetos con niveles de amoniaco mayores de 1,5 ULN. El mismo patrón se observó en cada brazo de tratamiento del fármaco de estudio.

El número de eventos en el grupo de nivel de amoniaco más alto (>1,5 ULN) era significativamente mayor que el número de eventos en el grupo de nivel más bajo (0 a 1,0 ULN) ( $p < 0,001$ ), y el número de eventos en el grupo de nivel de amoniaco medio (>1,0 a 1,5 ULN) fue marginalmente mayor que el número de eventos en el grupo de nivel más bajo ( $p = 0,054$ ). Estos resultados muestran que el riesgo de un evento de HE no aumenta linealmente con nivel de amoniaco creciente. En cambio, parece haber un aumento en el riesgo para niveles de amoniaco en el valor de referencia mayor de 1,5 veces el ULN. Esta tendencia parece ser evidente independientemente de en que visita y momento se extrajo el amoniaco.

Las probabilidades proporcionales de experimentar un HE para varias niveles de amoniaco en el día 1, día 7 (pre-dosis), día 7 (cuatro horas tras la dosificación), día 14 (pre-dosis), y día 14 (cuatro horas tras la dosificación) se resumen en las Tablas 6-10, respectivamente. Los niveles 1, 2 y 4 en cada tabla muestran los resultados para el modelo de tres categorías ([0 - 1.0], [>1.0 - 1.5], y [>1.5]), mientras que los niveles 3 y 4 muestran los resultados par el modelo de dos categorías ([0 - 1.5] y [>1.5]).

Tabla 6: Probabilidad de eventos de HE durante 16 semanas como se prevé por nivel de amoniaco pre-dosis en el día 1:

Amoniaco en Plasma como pronosticador		Prob. de tener este número de eventos de HE (95% CI)				
Nivel	Amoniaco en Plasma (como múltiplo de ULN)	0 eventos	1 evento	2 o más eventos	1 o más eventos	Valor p frente a siguiente nivel más bajo
1	[0 - 1.0]	0.812(0.722, 0.896)	0.114(0.059, 0.180)	0.074 (0.037,0.113)	0.197(0.107, 0.297)	
2	[>1.0 - 1.5]	0.758(0.627, 0.883)	0.143(0.070, 0.220)	0.099 (0.040, 0.174)	0.244(0.116, 0.376)	0.547
3	[0 - 1.5]	0.792(0.721, 0.865)	0.125(0.071, 0.181)	0.083 (0.049, 0.120)	0.216(0.138, 0.289)	
4	[>1.5]	0.529(0.386, 0.672)	0.236(0.161, 0.319)	0.235 (0.124, 0.359)	0.436(0.306, 0.574)	0.003

Tabla 7: Probabilidad de eventos de HE durante 16 semanas como se prevé por nivel de amoniaco pre-dosis en el día 7:

Amoniaco en Plasma como pronosticador		Prob. de tener este número de eventos de HE (95% CI)				
Nivel	Amoniaco en Plasma (como múltiplo de ULN)	0 eventos	1 evento	2 o más eventos	1 o más eventos	Valor p frente a siguiente nivel más bajo
1	[0 - 1.0]	0.812 (0.732, 0.889)	0.118 (0.064, 0.182)	0.070 (0.038, 0.106)	0.197 (0.114, 0.285)	
2	[>1.0 - 1.5]	0.830 (0.692, 0.944)	0.108 (0.040, 0.184)	0.063 (0.017, 0.132)	0.167 (0.055, 0.293)	0.698
3	[0 - 1.5]	0.817 (0.750, 0.882)	0.115 (0.069, 0.168)	0.068 (0.039, 0.104)	0.188 (0.120, 0.257)	
Amoniaco en Plasma como pronosticador		Prob. de tener este número de eventos de HE (95% CI)				
Nivel	Amoniaco en Plasma (como múltiplo de ULN)	0 eventos	1 evento	2 o más eventos	1 o más eventos	Valor p frente a siguiente nivel más bajo
4	[>1.5]	0.466 (0.318, 0.617)	0.262 (0.176, 0.351)	0.272 (0.148, 0.406)	0.500 (0.356, 0.646)	<0.001

Tabla 8: Probabilidad de eventos de HE durante 16 semanas como se prevé por nivel de amoniaco en el día 7, cuatro horas post-dosis:

Amoniaco en Plasma como pronosticador		Prob. de tener este número de eventos de HE (95% CI)				
Nivel	Amoniaco en Plasma (como múltiplo de ULN)	0 eventos	1 evento	2 o más eventos	1 o más eventos	Valor p frente a siguiente nivel más bajo
1	[0-1.0]	0.846(0.769, 0.921)	0.091(0.044, 0.151)	0.063(0.031, 0.098)	0.159(0.081, 0.246)	
2	[>1.0-1.5]	0.754(0.611, 0.900)	0.138(0.059, 0.218)	0.108(0.038, 0.198)	0.250(0.100, 0.403)	0.282
3	[0-1.5]	0.817(0.746, 0.886)	0.106(0.060, 0.162)	0.077(0.043, 0.115)	0.188(0.117, 0.263)	
4	[>1.5]	0.540(0.402, 0.675)	0.220(0.147, 0.301)	0.240(0.131, 0.357)	0.434(0.305, 0.566)	0.001

Tabla 9: Probabilidad de eventos de HE durante 16 semanas como se prevé por nivel de amoniaco pre-dosis en el día 14:

Amoniaco en Plasma como pronosticador		Prob. de tener este número de eventos de HE (95% CI)				
Nivel	Amoniaco en Plasma (como múltiplo de ULN)	0 eventos	1 evento	2 o más eventos	1 o más eventos	Valor p frente a siguiente nivel más bajo
1	[0 - 1.0]	0.812 (0.731, 0.888)	0.104 (0.055, 0.163)	0.084 (0.047, 0.126)	0.197 (0.116, 0.287)	
2	[>1.0 - 1.5]	0.834 (0.699, 0.945)	0.093 (0.026, 0.169)	0.073 (0.018, 0.144)	0.167 (0.054, 0.309)	0.716
3	[0 - 1.5]	0.818 (0.747, 0.884)	0.101 (0.055, 0.154)	0.081 (0.049, 0.117)	0.189 (0.118, 0.263)	
4	[>1.5]	0.525 (0.377, 0.678)	0.211 (0.136, 0.287)	0.264 (0.134, 0.398)	0.435 (0.298, 0.571)	0.002

Tabla 10: Probabilidad de eventos de HE durante 16 semanas como se prevé por nivel de amoniaco en el día 14, cuatro horas post-dosis:

Amoniaco en Plasma como pronosticador		Prob. de tener este número de eventos de HE (95% CI)				
Nivel	Amoniaco en Plasma (como múltiplo de ULN)	0 eventos	1 evento	2 o más eventos	1 o más eventos	Valor p frente a siguiente nivel más bajo
1	[0 - 1.0]	0.874 (0.801, 0.941)	0.075 (0.032, 0.129)	0.051 (0.022, 0.086)	0.129 (0.061, 0.203)	
2	[>1.0 - 1.5]	0.738 (0.596, 0.880)	0.145 (0.068, 0.234)	0.117 (0.043, 0.203)	0.276 (0.121, 0.444)	0.083
3	[0 - 1.5]	0.834 (0.764, 0.896)	0.097 (0.053, 0.154)	0.070 (0.039, 0.108)	0.172 (0.106, 0.245)	
4	[>1.5]	0.561 (0.425, 0.699)	0.213 (0.138, 0.293)	0.226 (0.120, 0.346)	0.412 (0.285, 0.535)	0.002

Entre los sujetos cuyos niveles de amoniaco eran normales pre-dosis en el día 1 (es decir, 0 a 1,0 ULN), se espera que el 81% no tenga eventos de HE en 16 semanas t se espera que el 7% tenga dos o más eventos de HE (Tabla 6). Entre los sujetos con niveles de amoniacos en el día 1 pre-dosis mayores de 1,5 ULN, por otro lado, sólo se espera que el 52% tenga cero eventos de HE en 16 semanas y se espera que tengan dos o más eventos de HE el 23%. Como se ilustra en los resultados del valor de referencia y del día 7 en las Figuras 7-10, este patrón es consistente independientemente de si las muestras de sangre se extrajeron antes del estudio o durante el estudio.

Ejemplo 2: Conversión de profármaco de PAA a PAGN urinaria:

La Publicación de Patente US N° 2010/0008859 divulga que los niveles de PAGN urinaria se correlacionan más estrechamente con la dosificación de profármaco de PBA que los niveles de PAA, PBA, o PAGN en plasma, y divulga además que los profármaco de PBA se convierten a PAGN urinaria con una eficiencia medio del 60 al 75%. Este porcentaje de conversión se basa en datos obtenidos de sujetos con UCD y HE. Para sujetos con HE, el metabolismo de PAA se evaluó administrando HPN-100 a 32 sujetos con discapacidad hepática con cirrosis. Los sujetos se dividieron en cuatro grupos de 8 sujetos cada uno: discapacidad hepática con cirrosis y puntuaciones de Child-Pugh de A, B, o C, y un grupo de control de adultos sanos con función hepática normal. La conversión porcentual media de HPN-100 a PAGN urinaria en estos cuatro grupos de pacientes fue del 79,6% (SD=30,5),

58,2% (SD=29,2), 85,0% (SD=65,1), y 68,6% (SD=21,9), respectivamente. La conversión porcentual media total para los cuatro grupos era de aproximadamente el 75%.

La conversión de profármaco de PAA se ha evaluado ahora en sujetos con HE adicionales. Estos resultados muestran inesperadamente que la conversión porcentual de profármaco de PAA a PAGN urinaria es menor que la divulgada en la Publicación de Patente N° 2010/0008859.

Como se divulga en la presente, se han realizado pruebas adicionales para evaluar la conversión de PAA a PAGN urinaria en sujetos con HE. La producción de PAGN urinaria se midió en 130 pacientes con HE durante dosificación en estado estable con o NaPBA o una dosis equivalente de HPN-100. Como se resume en la Tabla 11, la conversión porcentual media de profármaco de PAA a PAGN urinaria en pacientes con HE era de aproximadamente el 57%, con un intervalo del 52-63% 95% con intervalo de confianza del 95%. Los resultados eran consistentes para tanto PBA sódico como HPN-100, indicando que se esperarían resultados similares para todos los profármacos de PAA. Estos resultados sugieren que la conversión porcentual de profármaco de PAA a PAGN urinaria en sujetos con HE es significativamente menor que lo anteriormente informado en la Publicación de Patente US N° 2010/0008859.

Tabla 11: Conversión porcentual media de profármacos de PAA a PAGN urinaria en sujetos con HE:

<b>N</b>	130
<b>Conversión &amp; media</b>	57%
<b>Intervalo de CI del 95%</b>	52-62%

Como se ha indicado anteriormente, lo precedente se pretende meramente que ilustre varias realizaciones de la presente invención. Las modificaciones específicas tratadas anteriormente no deben interpretarse como limitaciones del alcance de la invención, que se define en las reivindicaciones añadidas.

REFERENCIAS

1. Brusilow Science 207:659 (1980)
2. Brusilow Pediatr Res 29:147 (1991)
3. Diaz Mol Genet Metab 102:276 (2011)
4. Ghabril Gastroenterology 142:S918 (2012)
5. Lee Mol Genet Metab 100:221 (2010)
6. Lichter-Konecki Mol Genet Metab 103:323 (2011)
7. McGuire Hepatology 51:2077 (2010)
8. Rockey Hepatology 56:248 (2012)

**Reivindicaciones**

- 5 1. Gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso en un método para tratar encefalopatía hepática (HE) en un sujeto, en donde el método comprende:
- (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas;
  - (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre; y
  - (c) administrar gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) al sujeto si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas es mayor de 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre.
- 10 2. Gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 1, en donde al sujeto se le ha administrado previamente una primera dosificación de gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100).
- 15 3. Gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 2, en donde la dosificación de gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) administrada en el paso (c) es mayor que la primera dosificación.
- 20 4. Gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso en un método para optimizar la dosificación de gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para el tratamiento de encefalopatía hepática (HE), en donde el método comprende:
- (a) administrar una primera dosificación de gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100);
  - (b) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas;
  - (c) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior del normal para el amoniaco en sangre para determinar si se aumenta la dosificación de gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100), en donde la dosificación necesita aumentarse si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas es mayor de 1,5 veces el límite superior del normal para el amoniaco en sangre; y
  - (d) administrar una segunda dosificación de gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) en base a la determinación en (c).
- 25 5. Gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 1 ó 4, que comprende además un paso de determinar el límite superior del normal para el amoniaco en sangre para el sujeto.
- 30 6. Gliceril tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 1 ó 4, en donde el límite superior del amoniaco en sangre normal es 35 µm/l.
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

Figura 1

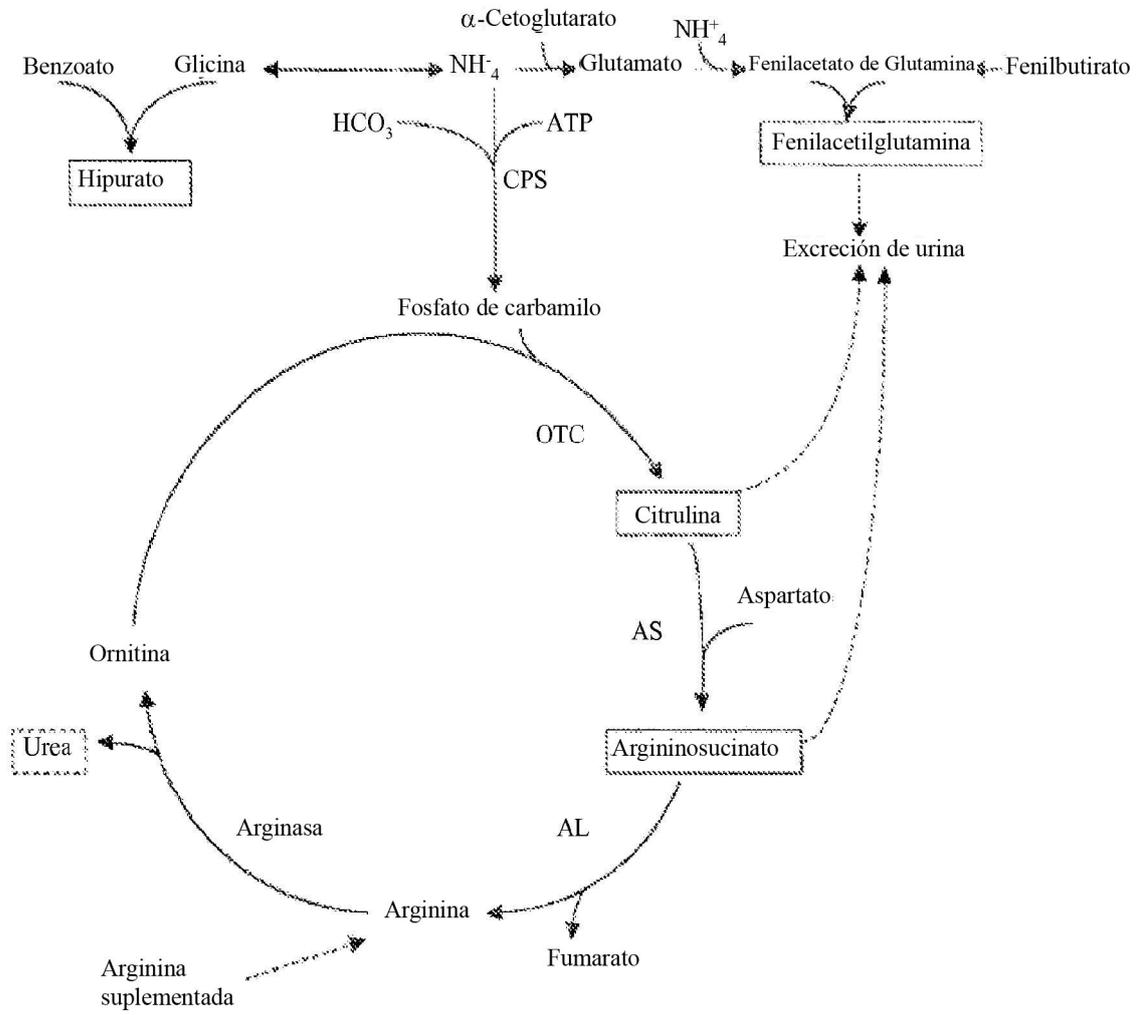


Figura 2

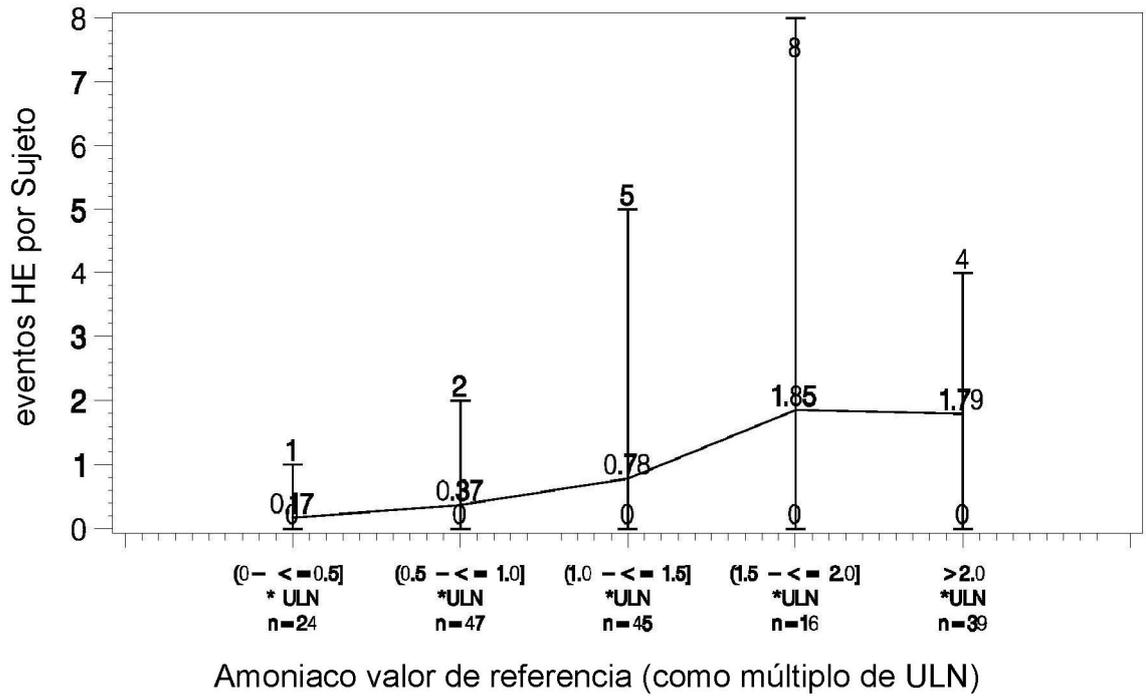


Figura 3

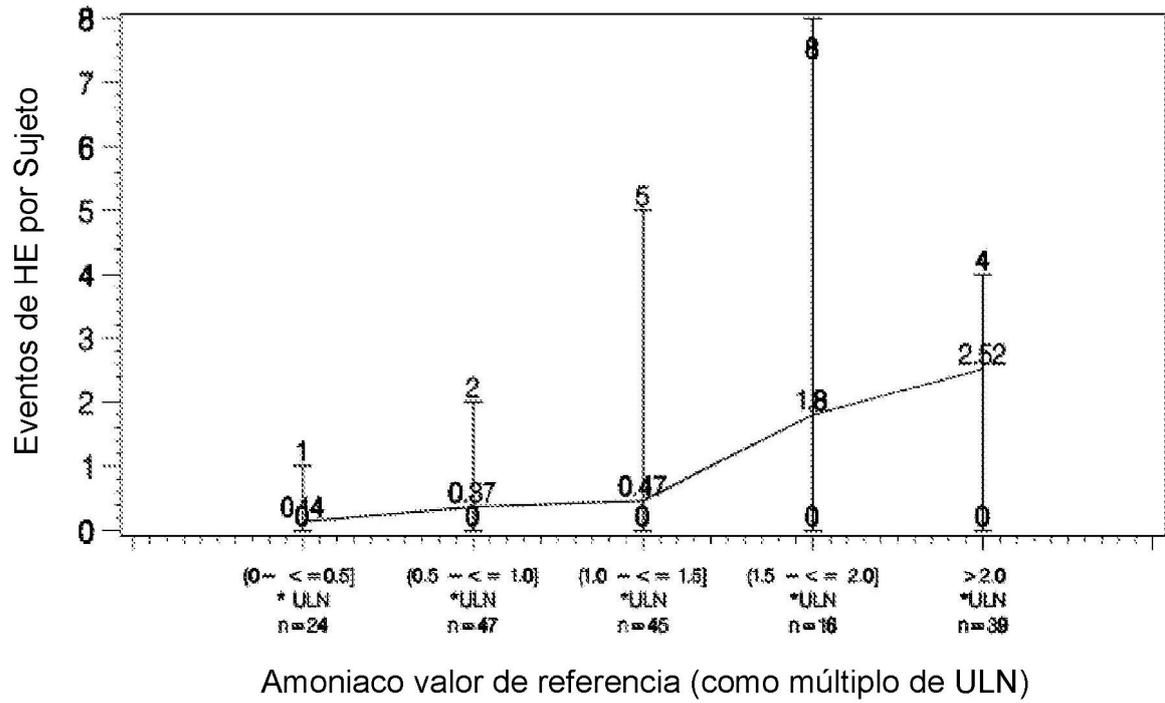


Figura 4

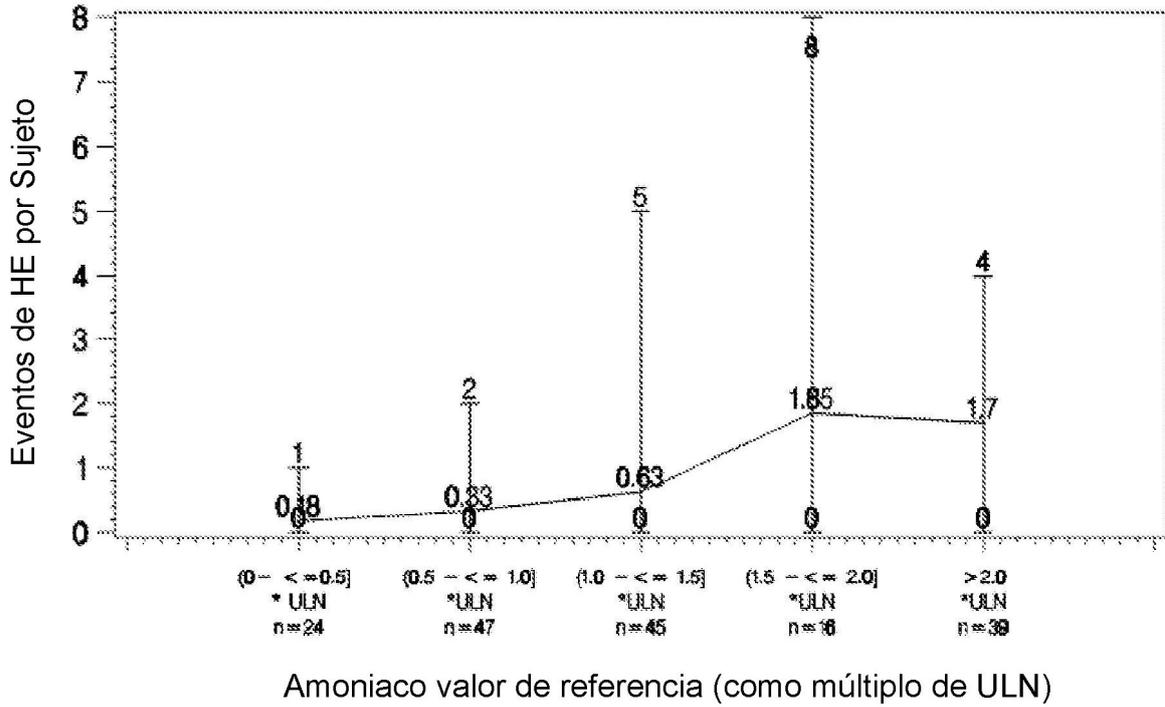


Figura 5

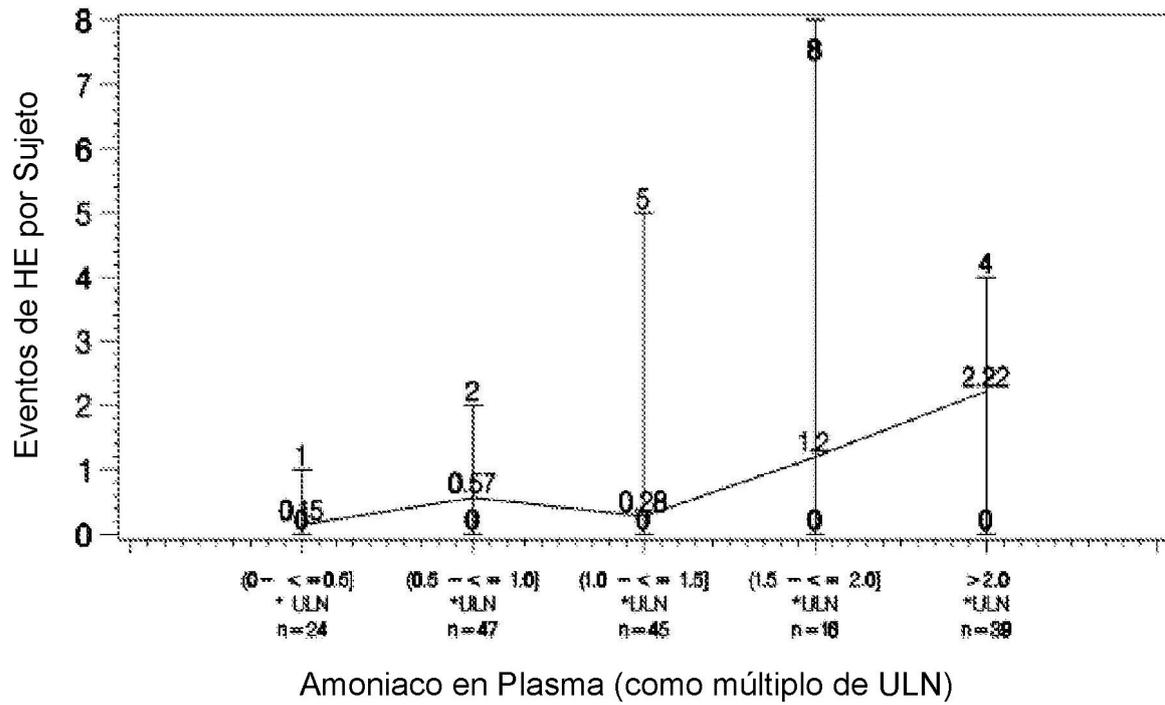


Figura 6

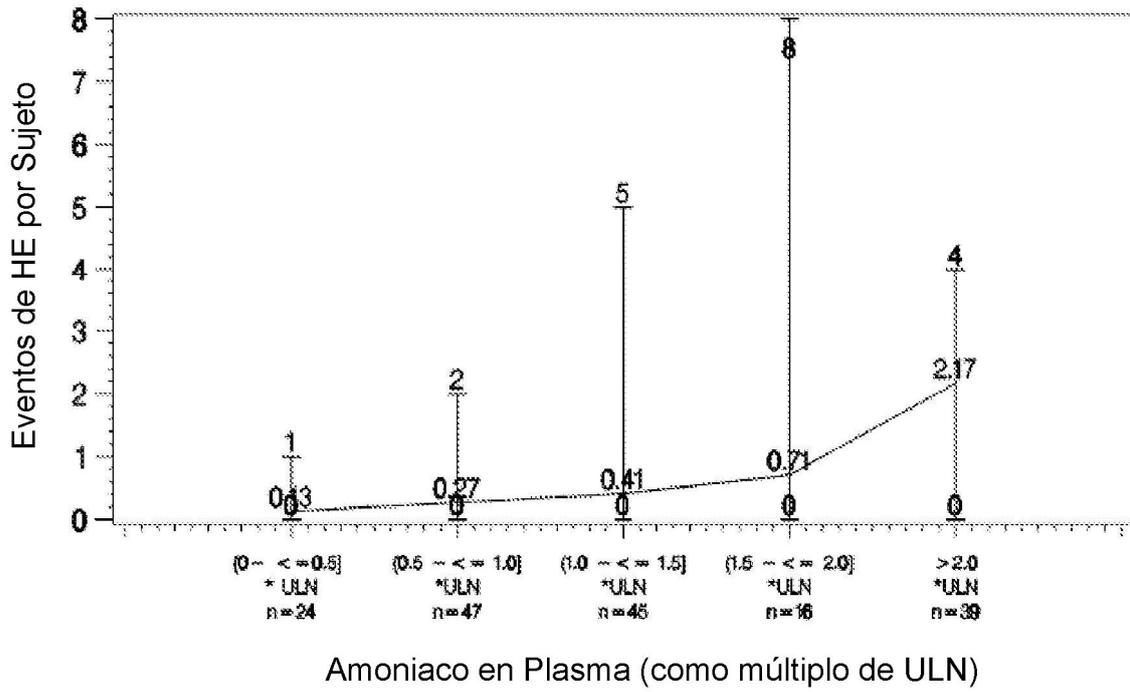


Figura 7

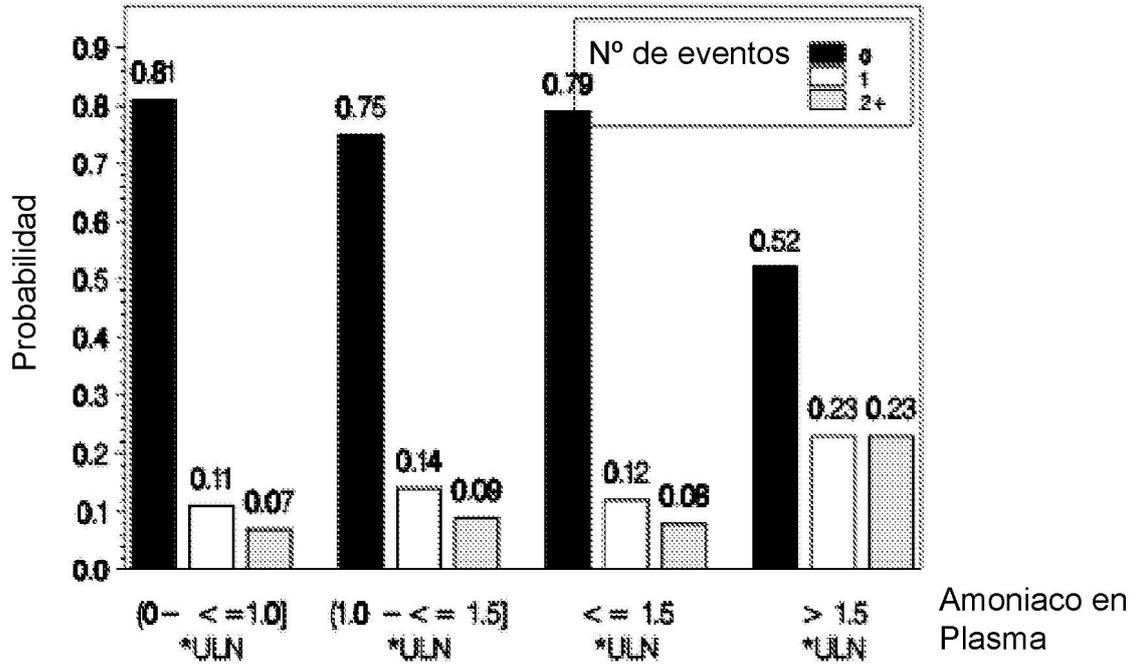


Figura 8

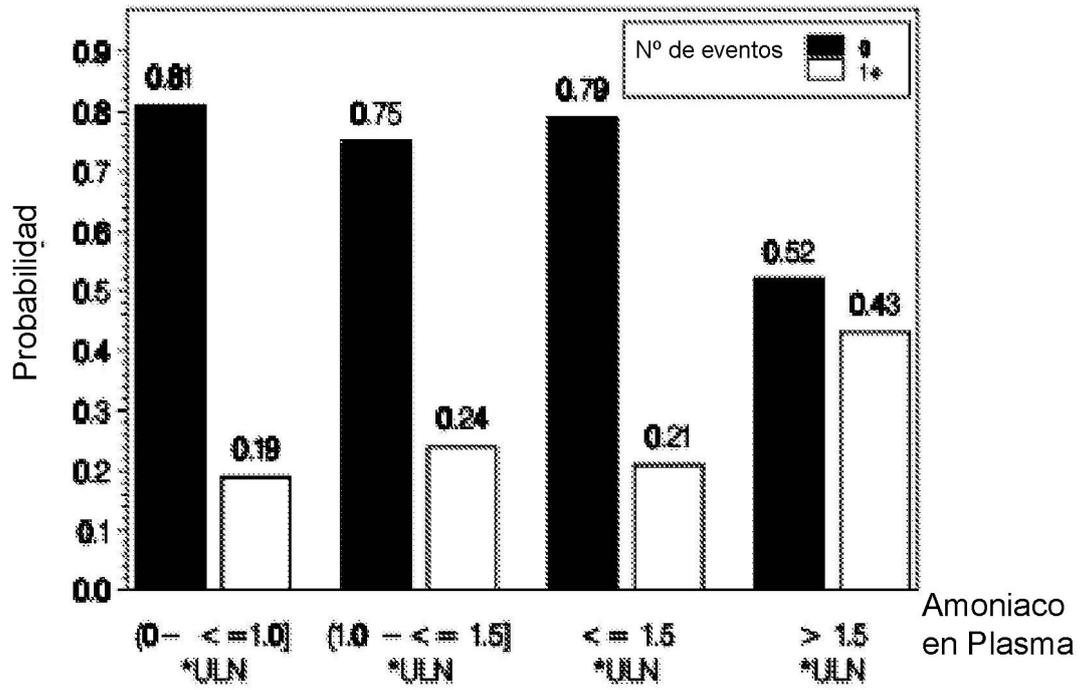


Figura 9

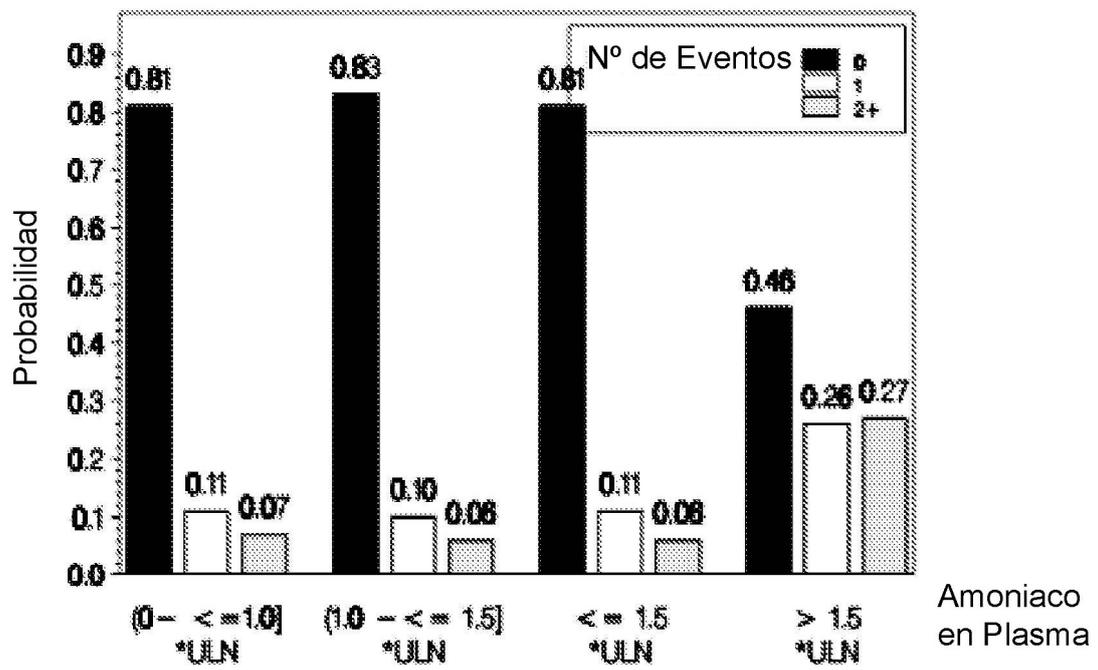


Figura 10

