

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 748 294**

51 Int. Cl.:

A61K 49/00 (2006.01)

G01N 33/84 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

A61K 31/25 (2006.01)

A61K 31/216 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.06.2015 PCT/US2015/033700**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.12.2015 WO15187641**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2015 E 15803069 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2019 EP 3013372**

54 Título: **Métodos para tratar trastornos del ciclo de la urea con el fin de prevenir crisis hiperamonémicas controlando los niveles de amoníaco en sangre**

30 Prioridad:

04.06.2014 US 201462007894 P

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

16.03.2020

73 Titular/es:

**IMMEDICA PHARMA AB (100.0%)
Norrullsgatan 15
113 29 Stockholm, SE**

72 Inventor/es:

**SCHARSCHMIDT, BRUCE y
MOKHTARANI, MASOUD**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 748 294 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).

DESCRIPCIÓN

Métodos para tratar trastornos del ciclo de la urea con el fin de prevenir crisis hiperamonémicas controlando los niveles de amoníaco en sangre

5 Los trastornos del ciclo de la urea (TCU) son errores congénitos del metabolismo que conllevan deficiencias de las enzimas requeridas para la ureogénesis. Se manifiestan por hiperamonemia aguda y crónica y el control médico está encaminado a reducir el nitrógeno de desecho mediante la restricción de la captación proteica y el uso de fármacos de rutas alternativas, tradicionalmente fenilbutirato de sodio (NaPBA, también denominado con el nombre comercial de EE. UU. BUPHENYL® y el nombre comercial de la UE AMMONAPS®) y más recientemente fenilbutirato de glicerol (GPB; también denominado RAVICTI® o HPN-100). Los TCU incluyen varias deficiencias heredadas de enzimas o transportadores necesarios para la síntesis de urea a partir de amoníaco, que incluyen enzimas implicadas en el ciclo de la urea.

15 La mayoría de pacientes de TCU se encuentran en riesgo permanente de padecer crisis hiperamonémicas (CHA), en ocasiones varias por año, en las que los niveles de amoníaco se elevan en su sangre y cerebro, y provocan síntomas que varían desde náuseas, vómitos y jaqueca hasta el coma y la muerte (Haberle 2011). Estas crisis se pueden desencadenar por infecciones, después de una cirugía o por un embarazo (Haberle 2012).

20 El NaPBA y el GPB son agentes que disminuyen la cantidad de amoníaco que han sido aprobados para el control de niveles de amoníaco en sangre elevados provocados por TCU no controlables únicamente con la dieta. El control del amoníaco en sangre es un objetivo de control central para los pacientes de TCU, pero las directrices actuales no especifican los niveles objetivo óptimos de amoníaco para prevenir las CHA (Berry 2001). Se necesita más información para entender cómo se relacionan los niveles de amoníaco con el resultado en pacientes de TCU para identificar los niveles objetivo óptimos de amoníaco con el fin de tratar los TCU y prevenir las CHA para un control del tratamiento óptimo. Por tanto, existe una necesidad en la técnica de métodos mejorados para lograr un control del amoníaco y menos CHA en pacientes con TCU. La solicitud de revisión médica de la FDA número 20-645 discute el fármaco "Ammonul" (fenilacetato de sodio y benzoato de sodio 10%/10% para inyección) que está indicado para el tratamiento de la hiperamonemia aguda en pacientes con TCU. "Hyperion Therapeutics Announces Presentation of Long Term Data on Ammonia Control in Pediatric Patients Treated with RAVICTI® at the 12th International Congress of Inborn Errors of metabolism and the Urea Cycle Disorder Satellite Symposium" (3 de septiembre de 2013) resalta los datos a largo plazo en lo que respecta al control del amoníaco en pacientes pediátricos con TCU que fueron tratados con RAVICTI® líquido oral. El documento US 2013/0085179 A1 divulga métodos para evaluar la exposición a amoníaco diaria basándose en una única medición del nivel sanguíneo de amoníaco en ayunas, así como métodos que utilizan esta técnica para ajustar la dosis de un fármaco de atrapamiento de nitrógeno, determinar si administrar un fármaco de atrapamiento de nitrógeno y tratar trastornos de retención de nitrógeno.

35 La invención, que se define en las reivindicaciones adjuntas, proporciona GPB para su uso en métodos novedosos para prevenir una CHA en un sujeto con un TCU que ha sido tratado previamente con un fármaco de atrapamiento de nitrógeno y que tiene un nivel de glutamina superior a 649 $\mu\text{mol/L}$. Estos métodos comprenden (a) medir un nivel de amoníaco en sangre en ayunas; (b) comparar el nivel de amoníaco en sangre en ayunas con el límite superior normal (ULN, por sus siglas en inglés) para el amoníaco en sangre; y (c) administrar una dosis eficaz de GPB al sujeto si el nivel de amoníaco en sangre en ayunas es superior a 0,5 veces el ULN para el amoníaco en sangre en ayunas. En estos métodos, la dosis eficaz de GPB da lugar a que el nivel de amoníaco en sangre en ayunas sea $<0,5$ veces el ULN para el amoníaco en sangre. En estos métodos, el sujeto es de 6 años de edad o mayor. En estos métodos, el fármaco de atrapamiento de nitrógeno se selecciona del grupo compuesto por benzoato de sodio, GPB, ácido fenilbutírico (PBA), NaPBA y una combinación de dos o más de GPB, PBA y NaPBA. En ciertas realizaciones, al sujeto se le ha administrado previamente una primera dosis de GPB. En ciertas realizaciones, la dosis de GPB administrada en el paso (c) es superior a la primera dosis. En ciertas realizaciones, la CHA es una primera CHA. En ciertas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB. En ciertas realizaciones, el sujeto ha sido tratado previamente con GPB durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto.

45 El profármaco PAA utilizado en la invención es GPB.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

50 FIG. 1: Un diagrama de caja del nivel de amoníaco de partida para las categorías de ULN de partida, $<0,5$ ULN, de $0,5$ a $<1,0$ ULN y $\geq 1,0$ ULN.

FIG. 2: Un gráfico de barras que muestra el porcentaje de pacientes que experimentaron una CHA cuando el nivel de amoníaco de partida categórico aumentó.

FIG. 3: Un gráfico de barras de eventos de tipo CHA y no CHA entre cuartiles de amoníaco de partida.

FIG. 4: Un gráfico de barras que muestra el porcentaje de pacientes sin CHA y el porcentaje de pacientes que experimentaron una CHA en las diferentes categorías de niveles de amoniaco de partida. Las barras negras representan los pacientes que experimentaron una CHA y las barras grises representan pacientes sin CHA.

FIG. 5: Una gráfica de Kaplan-Meier (KM) del tiempo hasta la primera CHA.

- 5 FIG. 6: Una gráfica de KM de supervivencia sin CHA respecto al amoniaco de partida categorizado en relación con el ULN. Valor p de la prueba en rango Log = 0,0077. El círculo abierto representa los datos de < 0,5 ULN, el cuadrado abierto representa los datos de 0,5 a < 1,0 ULN, y el triángulo abierto representa los datos de $\geq 1,0$ ULN.

FIG. 7: Un gráfico de barras que muestra las proporciones de la tasa de incidencia de CHA basadas en la regresión binomial negativa para las categorías de ULN de amoniaco de partida.

- 10 FIG. 8: Un histograma de la duración de la CHA en días. Nótese la caída brusca en la distribución después de dos días.

FIG. 9: Una gráfica de KM del tiempo hasta la primera CHA por categorías de edad. El círculo abierto representa los datos de pacientes de edades de 11-18 años (N = 9); el cuadrado abierto representa los datos de pacientes de 18 años y mayores (N = 51); el triángulo abierto representa los datos de pacientes de edades de 6-11 años (N = 17); y el círculo negro representa los datos de pacientes de menos de 6 años (N = 23).

- 15

FIG. 10: Una gráfica de KM del tiempo hasta la primera CHA por categoría de edad binaria (adulto frente a pediátrica). El círculo abierto representa los datos de pacientes de 18 años y mayores (N = 51) y el triángulo abierto representa los datos de pacientes de menos de 18 años (N = 49).

- 20 FIG. 11: Gráficas de KM del tiempo hasta la primera CHA en sujetos de 6 años de edad y mayores categorizados por su categoría de ULN de amoniaco de partida. Valor p de la prueba en rango log = 0,0058. El círculo abierto representa los datos de 0 a <0,5 ULN, el triángulo abierto representa los datos de 0,5 a <1,0 ULN, y el cuadrado abierto representa los datos de $\geq 1,0$ ULN.

- 25 FIG. 12: Un gráfico de barras que muestra el riesgo relativo de CHA por un aumento progresivo en la exposición a amoniaco. 1,50 indica un riesgo aumentado en un 50% de tener una CHA con cada 10 unidades de aumento de amoniaco con respecto a los pacientes sin aumento en amoniaco.

FIG. 13: Niveles de amoniaco y tasa de CHA por sitio de estudio. A: Un gráfico muestra el porcentaje de pacientes en cada sitio de estudio con amoniaco de partida <0,5 ULN (bandas negras y blancas), 0,5 - <1,0 ULN (gris claro) y $\geq 1,0$ ULN (gris oscuro). B: Un gráfico de barras muestra el porcentaje de pacientes en cada categoría de ULN de amoniaco por sitios agrupados en relación con los niveles de amoniaco entre pacientes inscritos en el sitio. El Grupo 1 (6 sitios de estudio; 33 pacientes, de los cuales >50% tenían niveles de amoniaco de partida <0,5 ULN); el Grupo 2 (3 sitios de estudio; 29 pacientes, de los cuales un 25%-50% tenían niveles de amoniaco de partida <0,5 ULN) y el Grupo 3 (11 sitios; 38 pacientes, de los cuales <25% tenían niveles de amoniaco de partida <0,5 ULN). La barra rayada en blanco y negro representa los datos de 0 a <0,5 ULN, la barra gris claro representa los datos de 0,5 a <1,0 ULN y la barra gris oscuro representa los datos de $\geq 1,0$ ULN.

- 30

FIG. 14: Relación entre los niveles de glutamina y amoniaco por categorías de amoniaco de partida. A: Un gráfico de líneas que muestra los niveles de glutamina durante 12 meses de tratamiento con GPB. Los niveles de glutamina mensuales promedio (\pm EE) (eje y) para las categorías de ULN de amoniaco de partida se muestran para los meses 0, 3, 6, 9 y 12 (eje x). La línea superior representa los datos de los pacientes con $\geq 1,0$ ULN, la línea intermedia representa los datos de los pacientes con 0,5 a <1,0 ULN, y la línea inferior representa los datos de pacientes con <0,5 ULN. B: Gráfica de dispersión de la glutamina de partida por categorías ULN de amoniaco. La correlación total entre glutamina y amoniaco fue significativa ($r = 0,27$; $p = 0,008$), mientras que ninguna de las correlaciones dentro de las categorías ULN de amoniaco fue significativa ($r = 0,12$; $0,18$ y $0,12$ respectivamente; $p = \text{NS}$ para todos). La línea superior representa los datos de pacientes con $\geq 1,0$ ULN, la línea intermedia representa los datos de pacientes con 0,5 a <1,0 ULN, y la línea inferior representa los datos de los pacientes con <0,5 ULN.

- 40

- 45 FIG. 15: Una gráfica de caja de glutamina en el punto de partida por categorías de amoniaco de partida ULN.

FIG. 16: Relación entre los niveles de glutamina y amoniaco por subtipo de TCU. Hubo una sólida correlación entre el amoniaco y la glutamina con los defectos proximales (OTC, CPS), pero no los defectos distales (ASL, ASS).

Se pretende solamente que la siguiente descripción de la invención illustre varias realizaciones de la invención, que se define en las reivindicaciones adjuntas.

- 50 El control médico de los TCU está encaminado a reducir el nitrógeno de desecho mediante la restricción de la captación proteica y el uso de profármacos tales como butirato de fenilo. El GPB (también denominado RAVICTI® o HPN-100) es un agente de reducción de la cantidad de amoniaco que fue aprobado el 1 de febrero de 2013 en los Estados Unidos para su uso como agente de unión a nitrógeno para el control crónico de pacientes adultos y pediátricos ≥ 2

años de edad con TCU que no se pueden controlar solamente con la restricción de proteínas en la dieta y/o el suplemento de aminoácidos. Las directrices de tratamiento de TCU actuales indican que el amoníaco se debería mantener dentro de límites normales, pero por lo demás proporcionan poca orientación sobre los niveles objetivo específicos ni cuantifica el riesgo de CHA basado en la exposición a amoníaco (Berry 2001). Tal como se expone en los ejemplos a continuación, los estudios de seguridad a largo plazo evaluaron la aparición de CHA durante el tratamiento con GPB durante hasta 1 año. La finalidad de los análisis proporcionados en la presente era evaluar el valor predictivo de amoníaco en sangre en la evaluación de resultados a largo plazo. Además, también se evaluó la utilidad de la glutamina como agente predictivo de las CHA.

Con el fin de identificar el nivel objetivo óptimo de amoníaco en pacientes de TCU y con el fin de evaluar los efectos a largo plazo de un control del amoníaco estricto, se llevaron a cabo análisis estadísticos post-hoc tal como se proporcionan en la presente para cuestionar los datos de los ensayos clínicos obtenidos a partir de pacientes tratados durante 12 meses con GPB. El objetivo de estos análisis era examinar la relación entre los niveles de amoníaco en ayunas y las CHA en pacientes tratados con GPB durante 12 meses. Los ejemplos proporcionados en la presente demuestran que un control del amoníaco estricto da lugar a una menor exposición a amoníaco sistémico y un mejor resultado en términos de menor tasa de CHA. Por ejemplo, los hallazgos en la presente demuestran que el amoníaco es un sustituto confiable para evaluar la idoneidad del control de la enfermedad, ya que se correlaciona en gran medida con las CHA. Además, incluso una cantidad de amoníaco ligeramente elevada durante periodos de tiempo prolongados puede situar a los pacientes en riesgo de padecer CHA, y los pacientes de TCU, especialmente aquellos de edades de 6 años y más, se benefician del mantenimiento del amoníaco en ayunas a menos de 0,5 ULN. Además, los niveles de amoníaco en ayunas de menos de 0,5 ULN se asocian con una menor probabilidad de experimentar CHA a largo plazo.

Se incluyeron en los análisis los datos de cuatro estudios de inversión (SO, por sus siglas en inglés) a corto plazo y de 3 estudios de extensión de seguridad (SE, por sus siglas en inglés) de 12 meses en pacientes adultos y pediátricos de TCU; todos se han descrito previamente. Los protocolos UP1204-003, HPN-100-005SO y HPN-100-012SO eran estudios SO de secuencia fija a corto plazo, sin enmascaramiento, que evaluaban el control de amoníaco durante una dosificación equivalente de GPB frente a NaPBA (Lee 2010), (Lichter-Konecki 2011), (Smith 2013). El estudio HPN-100-006 fue un estudio cruzado controlado con tratamiento activo doble ciego aleatorizado primario que estableció que el GPB no era inferior respecto a NaPBA tal como se evaluó con el amoníaco venoso (Diaz 2013). La mayoría de los pacientes que completaban estos protocolos más pacientes adicionales (un total de 100 de los cuales 49 eran pediátricos) se inscribieron en estudios de extensión de seguridad y recibieron GPB durante 12 meses (Diaz 2013), (Mokhtarani 2013), (Berry 2014).

Todos los protocolos y los consentimientos informados fueron revisados y aprobados por el panel de revisión de la investigación de cada institución participante antes del inicio. Los sujetos elegibles tenían un TCU confirmado o sospecha clínica de padecerlo y habían estado recibiendo NaPBA antes de su inscripción. En todos los estudios, los pacientes recibieron GPB tres veces al día (o con mayor frecuencia en niños pequeños para igualar su programa de NaPBA anterior) con una dosis diaria equivalente a su dosis de NaPBA prescrita previamente. Se tomaron datos acerca de las CHA durante hasta 12 meses antes de la inscripción mientras los pacientes estaban recibiendo NaPBA, y también durante los 12 meses de tratamiento con GPB. Los niveles de amoníaco y glutamina en ayunas se analizaron como agente predictivo de las CHA durante el tratamiento a largo plazo.

Para los estudios a largo plazo proporcionados en la presente, se analizó la relación entre los niveles de amoníaco y las CHA acumuladas, el tiempo hasta la primera CHA, la duración de la CHA y el riesgo relativo de CHA. También se analizó la edad como agente predictivo de CHA. Debido a que los niños más pequeños se alimentan con mayor frecuencia y, a menudo, la obtención del nivel de amoníaco en ayunas no es tan práctica como sería para niños mayores, se llevaron a cabo análisis suplementarios para examinar la tasa de CHA y el tiempo hasta la primera CHA en pacientes de al menos 6 años en el punto de partida. Se llevaron a cabo análisis adicionales para evaluar los niveles de glutamina durante los 12 meses de tratamiento con GPB.

Durante los estudios de 12 meses, se tomaron muestras sanguíneas para los análisis de amoníaco y glutamina mensualmente y se registró la información sobre las CHA. El amoníaco de partida se definió como el valor de la exploración o del mes 0 cuando el paciente estaba recibiendo NaPBA antes de recibir GPB. Una CHA se definió como síntomas clínicos compatibles asociados con uno o más niveles de amoníaco $\geq 100 \mu\text{mol/L}$. Los datos de amoníaco y CHA también se tomaron retrospectivamente durante hasta 12 meses antes de la inscripción en cada estudio, mientras los pacientes estaban recibiendo NaPBA. Las concentraciones de amoníaco y glutamina fueron medidas por un laboratorio hospitalario acreditado en cada sitio de estudio y los valores de amoníaco se normalizaron a un intervalo estándar de 9 a 35 $\mu\text{mol/L}$.

Los valores de amoníaco en ayunas se dividieron en tres categorías: de 0 a $< 0,5$, de $0,5$ a $< 1,0$ y $\geq 1,0$ respecto al ULN. Salvo el amoníaco en ayunas, todas las demás características de partida tales como edad, género, subtipos de TCU y glutamina eran similares en estos tres grupos, aunque había una proporción ligeramente superior de pacientes de 6 a 11 años de edad en el grupo de $0,5$ a $< 1,0$ ULN que en los otros dos grupos.

Tal como se expone en los ejemplos a continuación, se evaluó la relación entre los niveles de amoniaco en ayunas y la probabilidad de que los pacientes experimentasen una CHA en los pacientes de TCU. Se descubrió que los niveles de amoniaco en ayunas mayores se correlacionaban en gran medida con la probabilidad de que experimenten una CHA. Se analizó la relación entre los niveles de amoniaco y la tasa acumulativa de CHA, el tiempo hasta la primera CHA, la duración de la CHA y el riesgo relativo de CHA. Basándose en estos resultados, una comparación de los niveles de amoniaco en ayunas respecto a un umbral especificado o intervalo objetivo respecto al ULN para el amoniaco en sangre representa un agente predictivo del riesgo de CHA novedoso, con utilidad clínica y práctico.

La presente solicitud proporciona aplicaciones prácticas de este descubrimiento en forma de GPB para su uso en métodos para la prevención de una CHA en un sujeto con TCU. En la presente también se divulga: el tratamiento de un TCU para prevenir una CHA, la administración de forma óptima de un fármaco de atrapamiento de nitrógeno para el tratamiento de un TCU con el fin de prevenir una CHA, el ajuste y la optimización de la dosis de un fármaco de atrapamiento de nitrógeno para el tratamiento de un TCU con el fin de prevenir una CHA, la evaluación de la eficacia de un fármaco de atrapamiento de nitrógeno para el tratamiento de un TCU con el fin de prevenir una CHA, la determinación de si administrar un fármaco de atrapamiento de nitrógeno para el tratamiento de un TCU con el fin de prevenir una CHA, la minimización del riesgo de CHA, la predicción de la probabilidad o riesgo de una CHA, la evaluación y monitorización de la exposición a amoniaco y otras realizaciones relacionadas.

En la presente se proporcionan niveles umbral e intervalos objetivo para el amoniaco en sangre en ayunas en los que se puede basar una dosis eficaz de GPB para el tratamiento de un TCU con el fin de prevenir las CHA. Una dosis eficaz de GPB, tal como se utiliza en la presente, se refiere a una dosis que da como resultado un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que se encuentra en un nivel umbral especificado o por debajo de este o dentro de un intervalo objetivo especificado después de una o más administraciones. En determinadas realizaciones, la dosis eficaz da como resultado un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que se encuentra en un umbral especificado o por debajo de este o dentro de un intervalo objetivo especificado después de múltiples administraciones y en ciertas de estas realizaciones, la dosis eficaz da como resultado un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que se encuentra en un nivel umbral especificado o por debajo de este o dentro de un intervalo objetivo especificado después de que el fármaco haya alcanzado el estado estacionario. En ciertas realizaciones, el estado estacionario para una dosis particular de GPB se alcanza en aproximadamente tres días después de la administración inicial de esa dosis. En otras realizaciones, el estado estacionario se puede alcanzar en dos, tres, cuatro o cinco días después de la administración inicial.

Los niveles umbral y los intervalos objetivo para el amoniaco en sangre en ayunas se basan en el ULN para el amoniaco en sangre. En la invención, el intervalo objetivo especificado para el amoniaco en sangre en ayunas es $<0,5$ veces el ULN para el amoniaco en sangre. El nivel umbral especificado es $<0,5$ veces el ULN para el amoniaco en sangre. En determinadas divulgaciones, un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que se encuentre en el nivel umbral especificado o por encima de este o por encima del intervalo objetivo especificado indica que es necesario administrar GPB a un sujeto o, cuando el sujeto ha recibido un fármaco de atrapamiento de nitrógeno previamente, que es necesario administrar al sujeto un fármaco de atrapamiento de nitrógeno diferente o una dosis superior del fármaco de atrapamiento de nitrógeno original. De forma similar, en determinadas realizaciones, un nivel de amoniaco en sangre en ayunas que se encuentra en el nivel umbral especificado o por debajo de este o dentro del intervalo objetivo especificado indica que no es necesario administrar al sujeto GPB o, cuando el sujeto ha recibido GPB previamente, que se debería continuar administrando GPB y/o la misma dosis al sujeto. En determinadas realizaciones, el intervalo óptimo para el amoniaco en sangre en ayunas incluye el nivel umbral especificado. En estas realizaciones, un nivel de amoniaco en sangre en ayunas en el nivel umbral especificado o por debajo de este se considera aceptable u óptimo. Una dosis eficaz de GPB puede ser una dosis inicial, dosis posterior/de mantenimiento, dosis mejorada o una dosis determinada en combinación con otros factores. En determinadas realizaciones, la dosis eficaz puede ser la misma o diferente de una dosis inicial. En otras realizaciones, la dosis eficaz puede ser superior o inferior a una dosis inicial.

En la presente se divulgan métodos para tratar un TCU con el fin de prevenir una CHA en un sujeto que lo necesite. Los términos y expresiones “prevenir”, “que previene” y “prevención” tal como se utilizan en la presente en relación con las CHA se pueden referir a evitar una CHA completamente, reducir el número o la frecuencia de una CHA, reducir la probabilidad de experimentar una CHA, evitar, retrasar, reducir o acabar con los síntomas asociados con una CHA, o alguna combinación de estos. Los términos y expresiones “tratar”, “que trata” y “tratamiento”, tal como se utilizan en la presente en relación con los TCU se pueden referir a evitar un TCU, ralentizar el inicio o velocidad de desarrollo de un TCU, reducir el riesgo de desarrollar un TCU, prevenir o retrasar el desarrollo de síntomas asociados con un TCU, reducir o acabar con los síntomas asociados con un TCU, suscitar una regresión completa o parcial de un TCU o alguna combinación de estos.

Tal como se utiliza en la presente, el término “TCU” se refiere a trastornos del ciclo de la urea que son errores congénitos del metabolismo que implican deficiencias de enzimas y/o transportadores mitocondriales requeridos para la ureogénesis. Los TCU se manifiestan mediante hiperamonemia aguda y crónica.

Tal como se utiliza en la presente, el término “HAC” se refiere a un episodio de amoniaco elevado asociado con síntomas clínicos tales como vómitos, náuseas, somnolencia y confusión que requiere una intervención inmediata encaminada a reducir el amoniaco en sangre.

5 Un “sujeto que lo necesite”, tal como se utiliza en la presente, se refiere a un sujeto humano que es propenso a experimentar una CHA o se considera que está en riesgo de experimentarla basándose en uno más factores genéticos y/o ambientales, o un sujeto que ha experimentado previamente o se sospecha que ha experimentado una CHA. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido diagnosticado previamente con un TCU, está experimentando actualmente o se sospecha que padece un TCU, es propenso a experimentar una CHA o se considera que se encuentra en riesgo de experimentarla.

10 Los términos “paciente” y “sujeto” se utilizan indistintamente en la presente.

El término “aproximadamente”, tal como se utiliza en la presente, se refiere a dentro de un 10% de un valor o intervalo de valores indicados.

Las categorías de amonio en ayunas utilizadas en la presente son: de 0 a <0,5 veces el ULN (o de 0 a <0,5 ULN o < 0,5 ULN), de 0,5 a <1,0 veces el ULN (o de 0,5 a <1,0 ULN), y $\geq 1,0$ veces el ULN (o $\geq 1,0$ ULN).

15 El sujeto ha sido tratado previamente con uno o más fármacos de atrapamiento de nitrógeno. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado previamente con NaPBA. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado previamente con NaPBA, pero no ha sido tratado con GPB. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con uno o más fármacos de atrapamiento de nitrógeno. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con uno o más fármacos de atrapamiento de nitrógeno durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con uno o más fármacos de atrapamiento de nitrógeno durante al menos 3, 4 o 5 días. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con uno o más fármacos de atrapamiento de nitrógeno durante aproximadamente un año. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB.

25 Tal como se muestra en el Ejemplo 1 a continuación, los niveles de amoniaco en función del ULN pueden ser un agente predictivo útil del riesgo de experimentar una CHA. Por ejemplo, la asociación entre categorías de ULN y CHA fue significativa, de modo que el porcentaje de pacientes que experimentaron una CHA fue el más bajo en aquellos con un nivel de amoniaco de partida de menos de 0,5 ULN y aumentó de forma escalonada a aquellos con menos de 1,0 ULN y fue el más alto en los pacientes con el valor de amoniaco mayor o igual a 1,0 ULN en el punto de partida ($p = 0,024$). En determinadas realizaciones, para un sujeto que ha sido tratado previamente con un fármaco de atrapamiento de nitrógeno, el riesgo del sujeto de experimentar una CHA puede ser de aproximadamente un 10% si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es inferior a 0,5 ULN; aproximadamente un 15% si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es de entre 0,5 y menos de 1,0 ULN; o aproximadamente un 37% si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es superior o igual a 1,0 ULN. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado previamente con GPB, durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario de GPB en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto puede haber sido tratado con un GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año. En determinadas realizaciones, para un sujeto que ha sido tratado con GPB, pero ha sido tratado con otros atrapadores de nitrógeno tales como NaPBA, el riesgo del sujeto de experimentar una CHA es de aproximadamente un 23% si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es inferior a 0,5 ULN; aproximadamente un 26% si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es de entre 0,5 y menos de 1,0 ULN; o aproximadamente un 44% si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es superior o igual a 1,0 ULN. En determinadas realizaciones, el sujeto puede haber sido tratado previamente con NaPBA.

45 Tal como se muestra en el Ejemplo 2 más adelante, los niveles de amoniaco en función del ULN también pueden ser un agente predictivo del riesgo de experimentar una primera CHA para un sujeto. Se descubrió que los sujetos con niveles de amoniaco de partida superiores en relación con el ULN se encontraban en un riesgo mayor de CHA en comparación con los pacientes en las categorías de ULN menores. En determinadas divulgaciones, para un sujeto que ha sido tratado previamente con un fármaco de atrapamiento de nitrógeno y que tiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas superior o igual a 1,0 ULN, el sujeto tiene aproximadamente un riesgo 4,5 veces superior de experimentar una primera CHA en comparación con los sujetos con un nivel de amoniaco en sangre en ayunas de menos de 0,5 ULN. En determinadas divulgaciones, después de ajustar para la edad, género y raza, para un sujeto que ha sido tratado con un GPB de atrapamiento de nitrógeno y que tiene un nivel de amoniaco en sangre en ayunas mayor o igual a 1,0 ULN, el sujeto tiene aproximadamente un riesgo 5,7 veces superior de experimentar una primera CHA en comparación con los sujetos con un nivel de amoniaco en sangre en ayunas de <0,5 ULN. En determinadas divulgaciones, el sujeto ha sido tratado previamente con GPB, durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto ha sido tratado con GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En algunas divulgaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año.

Tal como se muestra en el Ejemplo 3 más adelante, se pueden utilizar los niveles de amoniaco en función del ULN para predecir la incidencia relativa para las CHA durante doce meses o por año. Además, los sujetos que fueron

tratados con GPB tenían una tasa de incidencia de CHA aproximadamente un 50% inferior en comparación con los sujetos no tratados con GPB. En determinadas divulgaciones, si el sujeto no ha sido tratado previamente con GPB, entonces la incidencia de CHA relativa total por año del sujeto puede ser de aproximadamente 0,581. Por ejemplo, esto implica que si 100 sujetos que no fueron tratados con GPB fuesen seguidos durante un año, el número esperado de CHA sería de aproximadamente 58. En determinadas divulgaciones, si el sujeto no ha sido tratado previamente con GPB y el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es inferior a 0,5 ULN, entonces la incidencia relativa de CHA por año del sujeto puede ser de aproximadamente 0,433. En determinadas divulgaciones, si el sujeto no ha sido tratado previamente con GPB y el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es de entre 0,5 y menos de 1,0 ULN, entonces la incidencia relativa de CHA por año del sujeto puede ser de aproximadamente 0,389. En determinadas divulgaciones, si el sujeto no ha sido tratado previamente con GPB y el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es superior o igual a 1,0 ULN, entonces la incidencia relativa de CHA por año del sujeto puede ser de aproximadamente 1,071. En determinadas realizaciones, el sujeto puede haber sido tratado previamente con NapBA.

De acuerdo con otras divulgaciones, si el sujeto ha sido tratado previamente con GPB, entonces la incidencia relativa de CHA por año global del sujeto puede ser de aproximadamente 0,288. Por ejemplo, esto implica que, si se siguiese durante un año a 100 sujetos que fueron tratados con GPB, el número de CHA esperado sería de aproximadamente 29. En determinadas divulgaciones, si el sujeto ha sido tratado previamente con GPB y el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es inferior a 0,5 ULN, entonces la incidencia relativa de CHA por año del sujeto puede ser de aproximadamente 0,135. En determinadas divulgaciones, si el sujeto ha sido tratado previamente con una dosis de GPB y el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es de entre 0,5 y menos de 1,0 ULN, entonces la incidencia relativa de CHA por año del sujeto puede ser de aproximadamente 0,150. En determinadas divulgaciones, si el sujeto ha sido tratado previamente con una dosis de GPB y el nivel de amoniaco en sangre en ayunas del sujeto es superior o igual a 1,0 ULN, entonces la incidencia relativa de CHA por año del sujeto puede ser de aproximadamente 0,711. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado previamente con GPB durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto ha sido tratado con un GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año.

Además, la edad también puede ser útil para predecir la tasa de incidencia relativa de CHA de un sujeto. En algunas divulgaciones, si el sujeto ha sido tratado con un fármaco de atrapamiento de nitrógeno y el sujeto tiene menos de dieciocho años de edad, entonces la tasa de incidencia de CHA puede ser 2,6 veces superior para el sujeto que para un sujeto que tenga dieciocho años de edad o más. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto ha sido tratado con un GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año.

Tal como se muestra en el Ejemplo 4 más adelante, la exposición a amoniaco puede ser útil para predecir la duración de una CHA. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, si el sujeto tiene un nivel de amoniaco en ayunas inferior a 1,0 ULN, el sujeto puede tener una probabilidad mayor de experimentar una duración de CHA corta en comparación con los sujetos con un nivel de amoniaco en ayunas superior o igual a 1,0 ULN. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto ha sido tratado con un GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año. En determinadas divulgaciones, una duración de CHA corta es inferior a dos días.

Tal como se muestra en el Ejemplo 5 más adelante, la edad puede ser útil para predecir el riesgo de un sujeto de tener una CHA. Por ejemplo, hubo una asociación significativa entre las categorías de ULN de amoniaco en ayunas y el tiempo desde el punto de partida hasta la primera CHA para los pacientes que tenían al menos 6 años de edad. El tiempo hasta la primera CHA fue significativamente más corto en los pacientes con un nivel de amoniaco en ayunas superior o igual a 1,0 ULN en comparación con aquellos pacientes con un nivel de amoniaco en ayunas inferior a 0,5 ULN. En algunas divulgaciones, si el nivel de amoniaco en ayunas de un sujeto es de entre 0,5 y menos de 1,0 ULN y el sujeto tiene 6 años o más, el sujeto puede tener una tasa aproximadamente tres veces superior de CHA en comparación con un sujeto con un nivel de amoniaco en ayunas inferior a 0,5 ULN. En determinadas divulgaciones, si el nivel de amoniaco en ayunas de un sujeto es igual o superior a 1,0 ULN y el sujeto tiene 6 años o más, el sujeto puede tener una tasa aproximadamente veinte veces superior de CHA en comparación con un sujeto con un nivel de amoniaco en ayunas inferior a 0,5 ULN. En determinadas divulgaciones, la CHA es una primera CHA. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto ha sido tratado con un GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año.

El Ejemplo 6 más adelante demuestra el riesgo relativo de experimentar una CHA basado en aumentos graduales en el amoniaco en sangre. La exposición a amoniaco total expresada como el tiempo de 12 meses normalizado bajo la curva (TNAUC_{12 meses}) fue significativamente inferior en pacientes que experimentaron una CHA en comparación con aquellos que no lo hicieron. En determinadas divulgaciones, se toma un nivel de amoniaco en ayunas de un sujeto y se compara con un nivel de amoniaco en sangre en ayunas tomado cuando el sujeto no experimentaba una CHA. En

determinadas divulgaciones, el nivel de amoníaco en ayunas del sujeto se puede comparar con un nivel de control del nivel de amoníaco en sangre de otros sujetos que no experimentaron un CHA. En determinadas divulgaciones, si un nivel de amoníaco en sangre en ayunas de un sujeto es 5 $\mu\text{mol/L}$ superior al nivel de amoníaco de partida, se administra al sujeto un fármaco de atrapamiento de nitrógeno.

- 5 En determinadas divulgaciones, si el nivel de amoníaco en sangre en ayunas de un sujeto es 5 $\mu\text{mol/L}$ superior al nivel de amoníaco de partida, el riesgo de una CHA es de aproximadamente un 23%. En determinadas divulgaciones, si el nivel de amoníaco en sangre en ayunas de un sujeto es 10 $\mu\text{mol/L}$ superior al nivel de amoníaco de partida, el riesgo de una CHA es de aproximadamente un 50%. En determinadas divulgaciones, si el nivel de amoníaco en sangre en ayunas de un sujeto es 25 $\mu\text{mol/L}$ superior al nivel de amoníaco de partida, el riesgo de una CHA es de aproximadamente un 270%. En determinadas divulgaciones, se administra al sujeto un fármaco de atrapamiento de nitrógeno si el riesgo de CHA es superior a aproximadamente un 23%. En determinadas divulgaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto ha sido tratado con un GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En algunas divulgaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año.
- 10
- 15 El Ejemplo 8 muestra que los niveles de glutamina eran generalmente superiores en los pacientes en los grupos de ULN de amoníaco de partida superior y habían disminuido en los pacientes con el nivel de glutamina de partida más elevado en el punto de partida a los tres meses de tratamiento. Además, hubo una correlación estadísticamente significativa, pero comparativamente débil entre los niveles de amoníaco y glutamina de partida en el momento de la inscripción, así como entre los niveles de glutamina en ayunas y la exposición a amoníaco diaria durante el tratamiento con GPB o NaPBA. Un análisis de la relación entre las categorías de glutamina y amoníaco respecto a las categorías de ULN mostró que la correlación global parecía estar motivada por los pacientes cuyo nivel de amoníaco de partida excedía 1,0 ULN. Además, los pacientes con OTC y CPS mostraron una correlación más marcada entre glutamina y amoníaco.
- 20
- Además, los niveles de glutamina eran ligeramente superiores en el punto de partida en los pacientes que experimentaron una CHA en comparación con los pacientes que no experimentaron ninguna CHA durante el estudio. En determinadas realizaciones, si un sujeto ha sido tratado previamente con un fármaco de atrapamiento de nitrógeno y tiene un nivel de glutamina de entre aproximadamente 649 $\mu\text{mol/L}$ y 808 $\mu\text{mol/L}$, entonces el sujeto tiene una probabilidad mayor de riesgo de una CHA en comparación con los sujetos con un nivel de glutamina inferior a aproximadamente 649 $\mu\text{mol/L}$. En determinadas realizaciones, el riesgo de CHA puede ser de aproximadamente una tasa de riesgo 2,5 veces superior. De acuerdo con determinadas realizaciones, si un sujeto ha sido tratado previamente con un fármaco de atrapamiento de nitrógeno y tiene un nivel de glutamina superior o igual a aproximadamente 809 $\mu\text{mol/L}$, entonces el sujeto tiene una probabilidad mayor de riesgo de CHA en comparación con los sujetos con un nivel de glutamina inferior a aproximadamente 649 $\mu\text{mol/L}$. En determinadas realizaciones, el riesgo de CHA puede ser de aproximadamente una tasa de riesgo 2,8 veces superior. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB, durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto. Por ejemplo, el sujeto ha sido tratado con un GPB durante al menos 3, 4 o 5 días. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con GPB durante aproximadamente un año. En determinadas realizaciones, los valores normales del límite superior de glutamina son: para los pacientes de 4 meses a 2 años de edad (709 $\mu\text{mol/L}$), de 2 a 10 años de edad (709 $\mu\text{mol/L}$), de 10 a 18 años de edad (740 $\mu\text{mol/L}$), mayores de 18 años de edad (721 $\mu\text{mol/L}$) (Blau 2008).
- 25
- 30
- 35
- 40 El ULN para el amoníaco en sangre habitualmente representa el nivel más elevado en el intervalo de valores normales, que puede estar influenciado por una serie de factores tales como el método de ensayo, tipos de reactivos, muestras de referencia estándar utilizadas y especificaciones y calibración del equipo utilizado para llevar a cabo la medición. En determinadas realizaciones de los métodos divulgados en la presente, el ULN para el amoníaco en sangre se determina para un sujeto individualmente. En otras realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre se puede basar en medidas obtenidas en un conjunto de sujetos (p. ej., sujetos sanos o sujetos con TCU). En determinadas realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre puede representar un valor de referencia estándar divulgado en la técnica tal como un ULN promedio desarrollado en un subconjunto particular de sujetos. En otras realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre puede representar una medida estándar que haya sido desarrollada por una entidad particular que lleve a cabo extracciones de sangre y/o evaluaciones de sangre tal como un laboratorio clínico particular.
- 45
- 50 En determinadas realizaciones, el ULN es un valor de referencia estándar utilizado por la misma entidad que mide el nivel de amoníaco en sangre en ayunas. En estas realizaciones, un experto en la técnica reconocerá que las unidades de medida de amoníaco también pueden variar de laboratorio a laboratorio (p. ej., $\mu\text{g/mL}$ o $\mu\text{mol/L}$), lo que resalta la importancia de interpretar los niveles de amoníaco de un sujeto en relación con el ULN en el laboratorio en el que se llevó a cabo la medida. En determinadas realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre puede ser de aproximadamente 12 a 70 $\mu\text{mol/L}$. En ciertas de estas realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre puede ser de aproximadamente 11 a 64 $\mu\text{mol/L}$, de 20 a 50 $\mu\text{mol/L}$, de 30 a 40 $\mu\text{mol/L}$, de 32 a 38 $\mu\text{mol/L}$, o de 34 a 36 $\mu\text{mol/L}$, y en ciertas de estas realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre es de aproximadamente 35 $\mu\text{mol/L}$. En determinadas realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre puede ser de aproximadamente 20 a 120 $\mu\text{g/dL}$. En ciertas de estas realizaciones, el ULN para el amoníaco en sangre puede ser de aproximadamente 50 a 65 $\mu\text{g/dL}$, de 55 a 63 $\mu\text{g/dL}$, o de 57 a 61 $\mu\text{g/dL}$, y en ciertas de estas realizaciones el ULN para el amoníaco en sangre es de aproximadamente 59 $\mu\text{g/dL}$.
- 55
- 60

Un fármaco de atrapamiento de nitrógeno, tal como se utiliza en la presente, se refiere a cualquier fármaco que disminuya los niveles de nitrógeno y/o amoníaco en sangre. En determinadas realizaciones, un fármaco de atrapamiento de nitrógeno puede eliminar nitrógeno en forma de PAGN, y en ciertas de estas realizaciones, el fármaco de atrapamiento de nitrógeno puede ser un fármaco que se pueda administrar oralmente que contenga PAA o se metabolice a PAA. Por ejemplo, un fármaco de atrapamiento de nitrógeno puede ser un profármaco de PAA tal como PBA o GPB, una sal farmacéuticamente aceptable de PBA tal como NaPBA, o un éster, ácido, o derivado farmacéuticamente aceptable de un profármaco de PAA. En otras realizaciones, un fármaco de atrapamiento de nitrógeno puede eliminar nitrógeno mediante ácido hipúrico. En ciertas de estas realizaciones, un fármaco de atrapamiento de nitrógeno puede ser ácido benzoico, una sal farmacéuticamente aceptable de ácido benzoico tal como benzoato sódico o un éster, ácido o derivado farmacéuticamente aceptable de ácido benzoico. El fármaco de atrapamiento de nitrógeno utilizado en la invención es GPB.

Aumentar la dosis de un fármaco de atrapamiento de nitrógeno se puede referir a aumentar la cantidad de fármaco por administración (p. ej., un aumento desde una dosis de 3 mL hasta una dosis de 6 mL), aumentar el número de administraciones del fármaco (p. ej., un aumento desde una dosificación una vez al día hasta dos o tres veces al día), o cualquier combinación de estos.

En determinadas realizaciones, un sujeto al que se ha administrado previamente un fármaco de atrapamiento de nitrógeno, se le ha administrado el fármaco durante una duración de tiempo suficiente para alcanzar el estado estacionario. De forma similar, en los métodos en los que el nivel de amoníaco en sangre en ayunas se mide después de una primera, segunda, tercera o posterior dosis de fármaco de atrapamiento de nitrógeno, la medida se puede llevar a cabo después de que el fármaco haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado estacionario a esa dosis. Por ejemplo, se puede haber administrado el fármaco al sujeto 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.

En determinadas realizaciones de los métodos divulgados en la presente, el periodo de ayuno para obtener un nivel de amoníaco en sangre en ayunas es una noche. En determinadas realizaciones, el periodo de ayuno es de 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, o 12 horas o más, y en determinadas realizaciones, el periodo de ayunas es de 4 a 8 horas, de 6 a 8 horas, o de 8 a 12 horas. Durante el periodo de ayuno, el sujeto preferentemente no ingiere ninguna comida. En determinadas realizaciones, el sujeto también se puede abstener de ingerir determinadas sustancias que no sean alimentos durante el periodo de ayuno. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el sujeto no ingiere ningún suplemento ni fármacos de atrapamiento de nitrógeno durante el periodo de ayuno. En ciertas de estas realizaciones, el sujeto puede no obstante ingerir uno o más fármacos aparte de los fármacos de atrapamiento de nitrógeno durante el periodo de ayuno. En determinadas realizaciones, el sujeto no ingiere ningún líquido hipercalórico durante el periodo de ayuno. En ciertas de estas realizaciones, el sujeto no ingiere ningún líquido aparte de agua durante el periodo de ayuno. En otras realizaciones, el sujeto puede ingerir pequeñas cantidades de bebidas hipocalóricas tales como té, café o zumos diluidos.

En determinadas realizaciones de los métodos divulgados en la presente, las muestras de sangre utilizadas para medir los niveles de amoníaco en sangre en ayunas y/o los ULN de amoníaco en sangre son muestras de sangre venosa. En determinadas realizaciones, una muestra de sangre es una muestra de sangre plasmática. Se pueden utilizar cualesquiera métodos conocidos en la técnica para obtener una muestra de sangre plasmática. Por ejemplo, se puede extraer sangre de un sujeto en un tubo que contenga heparina o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). En determinadas realizaciones, la muestra puede colocarse sobre hielo y centrifugarse para obtener plasma en 15 minutos desde la toma, almacenarse a de 2 a 8 °C (36 a 46 °F) y analizarse en 3 horas desde la toma. En otras realizaciones, la muestra de plasma sanguíneo se congela inmediatamente, se almacena a ≤ -18 °C (≤ 0 °F) y se analiza en un momento posterior. Por ejemplo, la muestra se puede analizar en de 0 a 12 horas, de 12 a 24 horas, de 24 a 48, de 48 a 96 horas después de congelarse, o dentro de cualquier otro lapso de tiempo durante el cual la muestra haya demostrado estabilidad. En determinadas realizaciones, las muestras de sangre se toman en un entorno de laboratorio u hospitalario. En determinadas realizaciones, se utiliza una única muestra de sangre en ayunas para medir el nivel de amoníaco en sangre en ayunas. Sin embargo, en otras realizaciones, se pueden obtener múltiples muestras de sangre en ayunas. En determinadas realizaciones, el nivel de amoníaco en sangre de un sujeto se puede monitorizar durante todo el día. Además, en determinadas realizaciones, los métodos divulgados en la presente comprenden un paso adicional de obtener una o más muestras de sangre de un sujeto antes o después de medir el nivel de amoníaco en sangre en ayunas.

En determinadas realizaciones, una muestra de sangre se analiza inmediatamente después de la toma. En otras realizaciones, la muestra de sangre se almacena durante algún periodo entre la toma y el análisis. En estas realizaciones, la muestra se puede almacenar durante menos de 1 hora, de 1 hora a 6 horas, de 1 hora a 12 horas, de 1 hora a 24 horas, o de 1 hora a 48 horas. En ciertas de estas realizaciones, la muestra de sangre se almacena a una temperatura de entre 0 a 15 °C, tal 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.

La medición de los niveles de amoníaco en una muestra de sangre en ayunas se puede llevar a cabo utilizando cualquier técnica conocida en la técnica. Por ejemplo, los niveles de amoníaco se pueden medir utilizando una reacción colorimétrica o una reacción enzimática. En determinadas realizaciones, una reacción colorimétrica puede conllevar el uso de azul de bromofenol como indicador para el amoníaco. En estas realizaciones, el amoníaco puede reaccionar con el azul de bromofenol para proporcionar un tinte azul. En determinadas realizaciones, una reacción enzimática puede conllevar que la glutamato-deshidrogenasa catalice la aminación reductiva de 2-oxoglutarato con NH_4^+ y NADPH para formar glutamato y NADP⁺. La formación del NADP⁺ formado es directamente proporcional a la cantidad de amoníaco presente en la muestra de sangre. Por lo tanto, la concentración de amoníaco se mide basándose en una disminución en la absorbancia.

5 Un experto en la técnica reconocerá que se pueden tener en consideración otra serie de factores diferentes al determinar la dosis eficaz de GPB. Por ejemplo, se pueden considerar factores tales como la dieta (p. ej., ingesta proteica) y la capacidad de eliminación de nitrógeno de desecho endógena (p. ej., capacidad de síntesis de urea).

10 Un experto en la técnica reconocerá que las diferentes realizaciones descritas en la presente se pueden combinar. Por ejemplo, se pueden combinar los pasos de los diferentes métodos de tratamiento divulgados en la presente para lograr un nivel de tratamiento satisfactorio o mejorado.

15 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor la invención reivindicada. El alcance de la invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

20 Ejemplo 1: Relación entre niveles de amoníaco en ayunas y CHA durante el tratamiento a largo plazo (1 año) de pacientes de TCU.

25 Los datos para los 100 sujetos de TCU de tres ensayos clínicos (HPN-100-005, HPN-100-007 y HPN-100-012) se analizaron para evaluar la correlación entre los niveles de amoníaco en ayunas y las CHA (Tabla 1). Los pacientes se trataron durante 12 meses con GPB durante el estudio. Hubo una división prácticamente igual en el número de sujetos que eran adultos (51%) y niños (49%), definidos como de edad <18 años en el momento de la inscripción. En esta población, 30 pacientes habían experimentado un total de 54 CHA en los 12 meses anteriores al estudio y 19 pacientes experimentaron un total de 27 CHA durante el estudio (Tabla 1). El amoníaco de partida se definió como el nivel de amoníaco en ayunas del sujeto tomado en el mes cero o en la visita de exploración dependiendo del estudio en el que estuviera inscrito el sujeto y de si el sujeto se había inscrito en estudios previos.

Tabla 1. Estadística descriptiva de la población de estudio.

-	ESTUDIO			
-	TOTAL	005	007	012
N	100	17	60	23
N.º de eventos HA				
Estudio previo	54	8	17	29
Estudio	27	3	12	12
N con ≥1 eventos HA				
Estudio previo	30	5	10	15
Estudio	19	3	9	7
Edad en el punto de partida				
Media en años	19,6	10,0	28,8	2,8
(DE)	(15,9)	(3,5)	(13,9)	(1,7)

Edad dicotómica (%)				
Pediátrica (<18 años)	49,0	100,0	15,0	100,0
Adulta (≥18 años)	51,0	0,0	85,0	0,0
Amoniaco de partida (µmol/L)				
Media	28,8	27,7	27,5	32,8
(DE)	(19,9)	(12,4)	(19,6)	(24,9)
25° percentil	11,0	14,0	10,0	11,0
50° percentil	28,9	29,0	26,5	25,0
75° percentil	37,5	37,0	36,7	51,0
0 a <0,5 del límite normal	39,0%	29,4%	40,0%	43,5%
0,5 a <1,0 del límite normal	34,0%	58,8%	30,0%	26,1%
≥1 del límite normal	27,0%	11,8%	30,0%	30,4%
Género (%)				
Masculino	33,0	17,7	31,7	47,8
Femenino	67,0	82,3	68,3	52,2
Raza (%)				
Blanca	81,0	82,4	80,0	82,6
No blanca	19,0	17,6	20,0	17,4

Los sujetos se dividieron en tres grupos basándose en sus niveles de amoniaco en ayunas: de 0 a menos de 0,5 (0 a <0,5 ULN) veces el límite superior normal (ULN) (39 sujetos), de 0,5 a menos de 1,0 (0,5 a <1,0 ULN) veces el ULN (34 sujetos) y 1,0 veces el ULN o superior (≥ 1,0 ULN) (27 sujetos). Con el fin de caracterizar la distribución del amoniaco de partida para las categorías del límite normal superior del amoniaco de partida, se desarrollaron gráficas de caja del amoniaco para las categorías del límite superior normal tal como se muestra en la FIG. 1. Hubo muy poco solapamiento en los valores de amoniaco de partida sin tratar entre las categorías del límite normal superior de amoniaco de partida. La estadística descriptiva de las categorías de amoniaco de partida se proporciona en la Tabla 2. Se observó una tendencia ascendente entre las categorías ULN de amoniaco de partida en la media, mediana e intervalo. No se observaron diferencias sustanciales entre las categorías en el punto de partida entre los diferentes grupos en términos de edad, género o subtipo de TCU, aunque hubo una proporción ligeramente superior de pacientes de 6 a 11 años de edad en el grupo de 0,5 a <1,0 ULN que en los otros dos grupos. Además, los niveles de glutamina aumentaron al aumentar el amoniaco de partida. Siete pacientes tenían menos de 2 años de edad, con una proporción similar de estos pacientes en cada una de las categorías de amoniaco de partida. Los pacientes con deficiencia de ornitina-transcarbamilasa (OTC), el subtipo más común de TCU y uno que frecuentemente se asocia con una enfermedad más leve, también se distribuyeron uniformemente entre los subgrupos.

Tabla 2: Estadística descriptiva del amoniaco de partida (µmol/L) clasificado según el amoniaco de partida categorizado en relación con el ULN

Variable	Categoría de amoniaco de partida		
	< 0,5 ULN	0,5 a < 1,0 ULN	≥ 1,0 ULN
	(N = 39)	(N = 34)	(N = 27)

ES 2 748 294 T3

Edad			
Media en años	22,9	17,4	18,6
(DE)	(17,7)	(15,0)	(12,8)
Número de pacientes			
Adultos (≥ 18 años)	22	14	15
(%)	(56,4)	(41,2)	(55,6)
Pediátricos (<18 años)	17	20	12
(%)	(43,6)	(58,8)	(44,4)
<2 años	3	2	2
(%)	(7,7)	(5,9)	(7,4)
2 a 5 años	7	4	5
(%)	(17,9)	(11,8)	(18,5)
6 a 11 años	5	10	2
(%)	(12,8)	(29,4)	(7,4)
12 a 17 años	2	4	3
(%)	(5,1)	(11,8)	(11,1)
Género			
Masculino	15	9	9
(%)	(38,5)	(26,5)	(33,3)

ES 2 748 294 T3

Femenino	24	25	18
(%)	(61,5)	(73,5)	(66,7)
Amoniaco de partida en ayunas (µmol/L)			
Media	11	30,8	51,9
(DE)	(3,7)	(7,7)	(19,5)
Glutamina en el punto de partida			
Media	694	710	857
(DE)	(199,0)	(183,3)	(306,0)
Subtipo de TCU			
ARG	1	0	1
(%)	(2,6)		(3,7)
ASL	7	5	1
(%)	(18,0)	(14,7)	(3,7)
ASS	4	3	5
(%)	(10,3)	(8,8)	(18,5)
CPS	1	0	0
(%)	(2,6)		
HHH	2	1	0
(%)	(5,1)	(2,9)	
OTC	24	25	20
(%)	(61,5)	(73,5)	(74,1)

A continuación, se analizó a los sujetos conforme a si habían experimentado o no una CHA antes de la inscripción y aquellos que experimentaron una CHA durante los ensayos clínicos. Diecinueve pacientes (19,0%) experimentaron

un total de 27 CHA durante el tratamiento de estudio. La proporción de pacientes que experimentaron una CHA durante el estudio aumentó a medida que aumentaba el amoniaco de partida. La proporción de pacientes que experimentaron una CHA también fue superior para los pacientes pediátricos que para los adultos y para los hombres que para las mujeres (Tabla 3).

- 5 La proporción de pacientes que experimentaron una CHA durante el tratamiento con NaPBA antes de la inscripción (30,0%), basada en los datos tomados retrospectivamente, fue superior a la proporción de pacientes que experimentaron una CHA durante el estudio. Se registraron un total de 54 CHA durante el periodo de estudio previo. De forma similar a los datos durante el estudio, los datos del estudio previo mostraron que la proporción de pacientes con CHA aumentó a medida que aumentaba el amoniaco de partida y que una proporción mayor de pacientes pediátricos que adultos y una proporción mayor de hombres que mujeres experimentaron CHA (Tabla 3). El subtipo de TCU más común en este estudio fue la deficiencia de ornitina-transcarbamilasa (OTC) (n = 69). La proporción de pacientes que experimentaron una CHA durante el estudio fue similar para aquellos con deficiencia de OTC (18,8%) y aquellos con deficiencias no-OTC (19,4%).

Tabla 3. Proporción de pacientes que experimentaron una CHA.

	Estudio previo	Durante el estudio
Número de pacientes con CHA	30	19
(%)	(30,0)	(19,0)
N.º total de CHA	54	27
Edad (% de pacientes)		
Pediátrica (< 18 años)	42,9	24,5
Adulta (≥ 18 años)	17,7	13,7
Amoniaco de partida (µmol/L)		
0 a <0,5 ULN	23,1	10,3
0,5 a <1,0 ULN	26,5	14,7
≥ 1,0 ULN	44,4	37,0
Género (% de pacientes)		
Masculino	42,4	24,2
Femenino	23,9	16,4
Raza (% de pacientes)		
Blanca	28,4	18,5
No blanca	36,8	21,1

- 15 A continuación, los sujetos se analizaron conforme a si habían experimentado o no una CHA durante los ensayos clínicos en comparación con aquellos que no experimentaron una CHA. Las características de los grupos con CHA y sin CHA se resumen en la Tabla 4.

20 Tabla 4: Estadística descriptiva de los sujetos que experimentaron CHA y aquellos que no experimentaron ninguna CHA durante el periodo de estudio.

	CHA (N=19)	No CHA (N=81)
% Total	19,0	81,0
Edad promedio en años (DE)	12,9 (11,7)	21,2 (16,3)

		CHA (N=19)	No CHA (N=81)
Intervalos de edad (%)	<6 años	30,4	69,6
	6-11 años	23,5	76,5
	12-17 años	11,1	88,9
	≥18 años	13,7	86,3
Edad dicotómica (%)	Pediátrica: <18 años	24,5	75,5
	Adulta: >años	13,7	86,3
Amoniaco de partida promedio (μmol/L) (DE)		41,8 μmol/L (23,7)	25,7 μmol/L (17,8)
Amoniaco de partida (vs. ULN)	0 - <0,5 ULN	10,3	89,7
	0,5 - <1,0 ULN	14,7	85,3
	≥1 ULN	37,0	63,0
Género	Masculino	24,2	75,8
(%)	Femenino	16,4	83,6
Raza (%)	Blanca	18,5	81,5
	No blanca	21,1	78,9

Diecinueve de los sujetos habían experimentado una CHA durante los ensayos clínicos, mientras que 81 no. La edad promedio de los sujetos que experimentaron una CHA era inferior a la de los sujetos que no tuvieron una CHA (12,9 años frente a 21,5 años). El amoniaco de partida promedio era aproximadamente dos veces superior para los sujetos que experimentaron una CHA frente a aquellos que no. Además, el porcentaje de sujetos que experimentaron una CHA durante el estudio aumentó a medida que los niveles de amoniaco de partida aumentaban, donde los sujetos que experimentaron CHA mostraban niveles de amoniaco de partida aproximadamente 1,5 veces superiores a los sujetos que no experimentaron CHA (10%, 15% y 37% para los pacientes con niveles de amoniaco de partida <0,5 ULN, 0,5 a <1,0 ULN, ≥1,0 ULN, respectivamente). La aparición de CHA para los sujetos con niveles de amoniaco en ayunas de <0,5 ULN, 0,5 a <1,0 ULN, e igual o superior a 1,0 ULN se resume en las FIG. 2, 3 y 4. La asociación entre las categorías de ULN y las CHA fue significativa, de modo que el porcentaje de pacientes que experimentaron una CHA fue el más bajo en aquellos con un nivel de amoniaco de partida de <0,5 ULN y aumentó de forma gradual para aquellos con <1,0 ULN y fue el más elevado en pacientes con el valor de amoniaco ≥1,0 ULN en el punto de partida ($p = 0,024$). Por tanto, las categorías de amoniaco en ayunas proporcionan un agente predictivo útil de la probabilidad de CHA, y los sujetos que se sitúan en la categoría de amoniaco en ayunas de <0,5 ULN tienen una probabilidad significativamente inferior de experimentar una CHA.

Ejemplo 2: Relación entre los niveles de amoniaco en ayunas y el tiempo hasta la primera CHA.

Los sujetos se monitorizaron durante 400 días y se analizaron los factores que podían influir en el tiempo hasta la primera CHA de un sujeto. La probabilidad de experimentar una CHA para la población total y aquellos que se sitúan en cada categoría de ULN se representa gráficamente utilizando el modelo de Kaplan Meier (KM) (Kaplan 1958). El eje y de la gráfica de KM es la probabilidad de supervivencia (supervivencia sin CHA) y el eje x es el tiempo en días. La población de estudio comienza al 100% sin CHA y la gráfica KM describe la probabilidad de no tener una CHA a lo largo del tiempo y “+” denota un valor censurado. Un valor censurado denota que el sujeto ya no se está siguiendo en el estudio. Se computaron las pruebas en rango logarítmico para comparar las distribuciones de supervivencia entre los valores covariantes (Peto 1972).

La supervivencia exenta de crisis para la población de estudio total se representa en la FIG. 5. Tal como se muestra, después de aproximadamente un año de seguimiento, un 80% de los sujetos no habían experimentado ninguna CHA durante el tratamiento con GPB (FIG. 5). La gráfica de KM era relativamente plana hasta aproximadamente el día 150, cuando la curva experimentó una caída significativa. Esto sugería que una buena parte de los sujetos experimentaban una CHA alrededor de los 150 días, tras lo cual la gráfica de KM comienza a estabilizarse.

A continuación, los sujetos diagnosticados con TCU se dividieron en tres grupos basándose en sus niveles de amoniaco en ayunas: <0,5 ULN, de 0,5 a <1,0 ULN, ≥1,0 ULN. Los resultados se exponen en la FIG. 6. Se descubrió que los sujetos con niveles de amoniaco de partida superiores con relación al ULN se encontraban en un riesgo mayor de padecer una CHA en comparación con los pacientes en las categorías de ULN inferiores, y presentaban una probabilidad de supervivencia inferior. Hubo asociaciones estadísticamente significativas entre el tiempo hasta la primera CHA y los cuartiles de amoniaco de partida (p = 0,0088) y entre el tiempo hasta la primera CHA y el amoniaco de partida por categoría de ULN (p = 0,0077). Los pacientes con un nivel de amoniaco de partida superior por cuartiles o categoría de ULN se encontraban en un riesgo mayor de padecer una CHA que los pacientes con un nivel de amoniaco de partida inferior (FIG. 6).

Con el fin de cuantificar el riesgo relativo de tiempo hasta la primera CHA, se generaron regresiones de modelos de riesgos proporcionales de Cox univariantes. Estos resultados se exponen en la Tabla 5.

Tabla 5: Resultados de la regresión de Cox univariable para el tiempo hasta la primera CHA.

Factor de riesgo		N	Proporción de riesgos	Valor p
Edad en años	Pediátrica (<18 años)	49	1,84	0,200
	Adulta (≥18 años)	51	Ref	
Amoniaco de partida (vs. ULN)	0 - <0,5 ULN	39	Ref	Ref
	0,5 - <1,0 ULN	34	1,43	0,598
	≥1,0 ULN	27	4,51	0,011
Género (%)	Masculino	33	1,58	0,327
	Femenino	67	Ref	Ref
Raza (%)	Blanca	81	Ref	Ref
	No blanca	19	1,19	0,760

Los datos sugirieron que el riesgo de CHA era aproximadamente 4,5 veces superior en sujetos con niveles de amoniaco de partida de 1,0 veces el ULN o superiores frente a sujetos con niveles de amoniaco de partida a <0.5 veces el ULN. Este resultado fue estadísticamente significativo (p = 0,011).

Se generó un modelo de regresión de Cox multivariable para cada uno de los factores de riesgo en la Tabla 6 con el fin de considerar coiniciadores potenciales. Las proporciones de los riesgos se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6: Resultados de regresión de Cox multivariable para el tiempo hasta la primera CHA durante el estudio.

Factor de riesgo	N	Proporción de riesgo	valor p
Edad en años			
Pediátrica: <18	49	2,60	0,062
Adulta: ≥18	51	Ref	
Amoniaco de partida (µmol/L)			
0 - <0,5 ULN	39	Ref	Ref
0,5 - <1,0 ULN	34	1,49	0,562
≥1,0 ULN	27	5,67	0,005
Género (%)			
Masculino	33	2,05	0,153
Femenino	67	Ref	Ref
Raza (%)			
Blanca	81	Ref	Ref
No blanca	19	0,81	0,713

5 Después de ajustar para la edad, el género y la raza, había aún un efecto significativo del nivel de amoniaco de partida sobre el riesgo de CHA. Específicamente, los sujetos con un nivel de amoniaco de partida de uno o más de sus valores de límite superior normal tienen aproximadamente 5,7 veces el riesgo de tener una CHA en comparación con los sujetos con valores de amoniaco de partida <0,5 ULN (p = 0,005). Esto respalda adicionalmente los hallazgos anteriores que muestran que la determinación de los niveles de amoniaco de partida en función del ULN es una herramienta de diagnóstico útil.

Ejemplo 3: Relación entre los niveles de amoniaco en ayunas y las CHA acumuladas.

10 Algunos sujetos experimentaron más de una CHA durante el tratamiento de seguimiento. Por tanto, la tasa de CHA durante 12 meses se examinó en relación con las características de partida. La mayoría de los sujetos tuvieron al menos 12 meses de información de seguimiento, ya que la mediana del tiempo que se siguió a un sujeto durante el estudio fue de aproximadamente un año (es decir, 361,0 días). Para estimar las tasas de CHA y comparar las diferencias entre las covariables de interés, se generó un modelo de regresión binomial negativa univariable. Estos resultados se exponen en la Tabla 7.

15 Tabla 7: Resultados de regresión binomial negativa univariable que muestran la incidencia relativa para las CHA en relación con los factores de riesgo potenciales.

Factor de riesgo		Antes de la inscripción			Durante el estudio		
		Incidencia a los 12 meses	Proporción de la tasa de incidencia HAC (IRR)	valor de p	Incidencia a los 12 meses	Proporción de la tasa de incidencia HAC (IRR)	valor de p
Total		0,581			0,288		
Edad en años	Pediátrica (<18 años)	0,338	Ref		0,209	Ref	
	Adulta (≥18 años)	0,832	2,46	0,346	0,371	1,78	0,2539
	0 - <0,5 ULN	0,433	Ref		0,135	Ref	

Factor de riesgo		Antes de la inscripción			Durante el estudio		
		Incidencia a los 12 meses	Proporción de la tasa de incidencia HAC (IRR)	valor p	Incidencia a los 12 meses	Proporción de la tasa de incidencia HAC (IRR)	valor p
Amoniaco de partida (vs. ULN)	0.5 - <1,0 ULN	0,389	0,90	0,8161	0,150	1,11	0,8674
	≥1.0 ULN	1,071	2,47	0,0457	0,711	5,28	0,0057
Género (%)	Masculino	0,516	Ref		0,275	Ref	
	Femenino	0,712	1,38	0,3949	0,314	1,14	0,7832
Raza (%)	Blanca	0,564	Ref		0,296	Ref	
	No blanca	0,660	1,17	0,7246	0,248	0,838	0,7456

La tasa de incidencia de CHA antes de la inscripción fue de 0,581, lo que sugiere que si 100 sujetos se siguieran durante un año, el número esperado de CHA sería de aproximadamente 58. La tasa de incidencia de CHA del estudio fue de 0,288, es decir, aproximadamente un 50% inferior a la tasa antes de la inscripción. El riesgo de CHA fue aproximadamente cinco veces superior para los sujetos con niveles de amoniaco de partida de 1,0 ULN o superior frente a los sujetos con niveles de amoniaco de partida a <0,5 ULN. Las proporciones de la tasa de incidencia para las diferentes categorías de amoniaco de partida se exponen en la FIG. 7. Estos resultados ilustran además el gran salto en los resultados entre los sujetos en las dos primeras categorías (<0,5 ULN y 0,5- < 1,0 ULN) y los sujetos en la tercera categoría (igual o superior a 1,0 ULN).

- 5
- 10 Con el fin de ajustar para coiniciadores potenciales, se desarrolló una regresión binomial negativa multivariable de la tasa de CHA en las categorías de ULN de amoniaco de partida y la demografía de los sujetos tal como se presenta en la Tabla 8.

Tabla 8: Resultados de regresión binomial negativa multivariable para las tasas de CHA durante el estudio.

Factor de riesgo	Proporción de la tasa de incidencia	valor p
Edad en años		
Adulta: ≥18	ref	
Pediátrica: <18	2,62	0,0543
Amoniaco de partida (µmol/L)		
0 - <0,5 ULN	ref	
0,5 - <1,0 ULN	1,11	0,8648
≥1,0 ULN	7,38	0,0004
Género (%)		
Femenino	ref	

Factor de riesgo	Proporción de la tasa de incidencia	valor p
Edad en años		
Masculino	1,79	0,2229
Raza (%)		
Blanca	ref	
No blanca	0,53	0,2444

Después de ajustar para la edad, el género y la raza, se observó una diferencia significativa en la incidencia de CHA entre las categorías de amoniaco de partida ($p = 0,0004$). La edad mostró una diferencia marginalmente significativa en la incidencia de CHA después de llevar a cabo un control del amoniaco de partida, el género y la raza. Cabe destacar que los sujetos pediátricos mostraron una incidencia superior de CHA en comparación con los sujetos adultos ($p = 0,0543$).

Ejemplo 4: Relación entre la exposición a amoniaco y la duración de las CHA.

Se analizó la relación entre la exposición a amoniaco y la duración de la CHA. La exposición a amoniaco se caracterizó de tres formas diferentes: amoniaco máximo durante la crisis, amoniaco total durante la crisis y amoniaco en el momento de la admisión. La distribución de la duración de las CHA en los sujetos con CHA se muestra en la FIG. 8. La mayoría de las CHA duraron habitualmente un día y se observó una caída acusada en la distribución después de 2 días. (Nótese: se excluyeron dos sujetos con 20 días de duración de las CHA en este análisis). La estadística descriptiva de la duración de las CHA se presenta en la Tabla 9.

Tabla 9: Estadísticas descriptivas de la duración de la CHA para la población de estudio.

	Estudio			
	TOTAL	005	007	012
N	25	2	12	11
Duración de la crisis HA				
Promedio (días)	1,71	1,27	1,95	1,53
Mediana (días)	1,00	1,27	1,36	0,92
< 1 día (%)	48,0	50,0	41,7	54,6
1 -1,99 días (%)	16,0	0,0	16,7	18,2
2 – 2,99 días (%)	28,0	50,0	33,3	18,2
> 3 días (%)	8,0	0,0	8,3	9,1

Globalmente, aproximadamente un 48% de los sujetos experimentaron una CHA que duró menos de un día y aproximadamente un 64% de los sujetos tuvieron una duración de CHA que duró menos de 2 días.

Con el fin de evaluar la asociación entre la duración de la CHA y el nivel de amoniaco en el momento de la admisión durante una CHA, se implementó un modelo de regresión logística de la ecuación de estimación generalizada (GEE) con errores estándar empíricos robustos que explica la concentración de CHA en algunos sujetos (Hardin 2005). No se pudo implementar un modelo mixto lineal debido a los problemas de convergencia con una muestra tan pequeña y a las observaciones atípicas de nivel de amoniaco en el momento de la admisión. En cambio, se dicotomizó la duración de la CHA para asumir un valor de 0 cuando el sujeto experimentaba una CHA que durase 2 días o más y 1 cuando el sujeto experimentaba una crisis de HA de menos de 2 días. Las posibilidades de experimentar una CHA de 2 días o menos (Duración de CHA corta) en el momento de la admisión, el amoniaco máximo y en el momento de la baja, así como las características del paciente, se modelan en la Tabla 10.

Tabla 10: Modelos de regresión logística de GEE de las posibilidades de tener una CHA menos de 2 días.

Factor de riesgo	Proporción de posibilidades	valor p
Amoniaco en el momento de la admisión		
Aumento de 100 µmol/L	1,46	0,269
Amoniaco máximo		
Aumento de 100 µmol/L	1,06	0,805
Amoniaco TNAUC		
Aumento de 100 µmol/L	1,00	0,958
Edad en años		
Pediátrica: <18	Ref	
Adulta: ≥18	1,74	0,565
Amoniaco de partida		
0-38,0 µmol/L	3,06	0,279
38,0+ µmol/L	Ref	
Amoniaco de partida		
0 - <1,0 ULN	3,06	0,279
≥1,0 ULN	Ref	
Género (%)		
Masculino	3,06	0,279
Femenino	Ref	
Raza (%)		
Blanca	DNC	DNC
No blanca	DNC	DNC
GEE: Ecuación de estimación generalizada		
DNC: No convergieron		

5 Tal como se muestra en la Tabla 10, los sujetos con niveles de amoniaco de partida bajos (0 a <1 ULN) tenían mayores posibilidades de experimentar una duración de CHA corta en comparación con los sujetos con niveles de amoniaco de partida (≥1 ULN). Estos resultados respaldan los datos presentados en la presente de que los niveles de amoniaco influyen en las CHA.

Ejemplo 5: Relación entre diferentes subconjuntos de edad y tiempo hasta la primera CHA.

10 Para analizar la relación entre edad y CHA, se evaluaron las características de las CHA para los subconjuntos de sujetos de diferentes grupos de edad. El efecto de la edad en la primera CHA de un sujeto se investigó generando gráficos de KM que representan la supervivencia exenta de crisis en relación con cuatro subconjuntos de edad diferentes. Una gráfica de KM del tiempo hasta la primera CHA para los subconjuntos de edades diferentes (es decir, <6 años, 6-11 años, 11-18 años y 18 años y mayores) mostró que al parecer los pacientes más jóvenes presentaban un tiempo más corto hasta la primera CHA, aunque no se observó asociación estadísticamente significativa entre estos subconjuntos de edad y el tiempo hasta la primera CHA tal como se representa en la FIG. 9. En general, hubo una separación en las curvas de supervivencia después de 150 días, donde los sujetos ≤ 18 años de edad experimentaban un riesgo direccionalmente superior de CHA en comparación con los adultos. Después, una gráfica de KM del tiempo hasta la primera CHA por subconjuntos de edad binarios (adultos: 18 años y mayores (N = 51) frente a pediátricos: <18 años (N = 49)) mostró que los niños experimentaron un riesgo direccionalmente superior de CHA. La gráfica de KM se ilustra en la FIG. 10.

20 Para investigar adicionalmente la relación entre la edad y el tiempo hasta la primera CHA, se evaluaron las características de las crisis HA para los pacientes en los estudios clínicos HPN-100-005 y HPN-100-007 que tenían al menos 6 años de edad en el punto de partida (n = 77). El racional para este análisis es que la medición del amoniaco en ayunas es menos fiable en niños muy jóvenes, ya que los lactantes y niños jóvenes se alimentan más frecuentemente y no se encontraban en un estado real de ayuno como los pacientes mayores en el momento de la

medición de amoníaco. Se llevaron a cabo análisis similares para analizar el riesgo de CHA en sujetos de seis años de edad o mayores. Las características de esta subpoblación se exponen en la Tabla 11.

Tabla 11: Estadística descriptiva de los sujetos que tienen edades de 6 años o mayores.

		Total	Estudio	
			005	007
Número de sujetos		77	17	60
N.º de CHA	Estudio previo	25	8	17
	Estudio posterior	15	3	12
Sujetos con 1 o más CHA	Estudio previo	15	5	10
	Estudio posterior	12	3	9
Edad promedio en el punto de partida (DE)		24,7 (14,7)	10,0 (3,5)	28,9 (13,9)
Nivel de amoníaco promedio en el punto de partida (µmol/L) (DE)		27,6 (18,2)	27,7 (12,4)	27,5 (19,6)
Nivel de amoníaco en el punto de partida (µmol/L)	0 - <0,5 ULN (% de sujetos)	29 (37,7%)	5 (29,4%)	24 (40,0%)
	0,5 - <1,0 ULN (% de sujetos)	28 (36,3%)	10 (58,8%)	18 (30,0%)
	≥1,0 ULN (% de sujetos)	20 (26,0%)	2 (11,8%)	18 (30,0%)
Nitrógeno ureico en sangre de partida	N	74	17	57
	Promedio (DE)	2,84 (1,36)	2,71 (1,04)	2,87 (1,45)
Glutamina de partida	N	73	17	56
	Promedio (DE)	759,4 (250,2)	694,9 (220,5)	779,0 (257,1)
Género %	Masculino	28,6	17,7	31,7
	Femenino	71,4	82,3	68,3
Raza %	Blanca	80,5	82,4	80,0
	No blanca	19,5	17,6	20,0

5 Una gráfica de KM que ilustra el tiempo hasta la primera CHA en la subpoblación de 6 años y mayor se muestra en la FIG. 11. Este dato mostró una asociación muy significativa entre las categorías de ULN de amoníaco en ayunas de partida y el tiempo hasta la primera CHA. Se generó un modelo de riesgos proporcionales de Cox multivariable que se ajustó para la edad, el género y la raza en la subpoblación de 6 años y mayor. Los resultados de este modelo se resumen en la Tabla 12.

10 Tabla 12: Gráfica de KM del tiempo hasta la primera CHA por categorías de amoníaco de partida ULN para los sujetos con edades de 6 años y mayores.

Factor de riesgo		N	Proporción de riesgos	de valor p
Edad en años	Pediátrica (6-10 años)	17	Ref	
	Pediátrica (11-18 años)	9	0.21	0,192
	Adulta (≥ 18 años)	51	0.17	0,055
Amoniac de partida (frente a ULN)	0 - <0,5 ULN	29	Ref	Ref
	0,5 - <1,0 ULN	28	2,97	0,337
	$\geq 1,0$ ULN	20	20,3	0,009
Género (%)	Masculino	22	2,14	0,283
	Femenino	55	Ref	Ref
Raza (%)	Blanca	62	2,04	0,380
	No blanca	15	Ref	Ref

Hubo una asociación significativa entre las categorías ULN de amoniaco de partida y el tiempo desde el punto de partida hasta la primera CHA para los pacientes que tenían al menos 6 años de edad en el punto de partida ($p = 0,0058$) (FIG. 11).

- 5 Después de ajustar para la edad, género y raza, se observó aún un efecto significativo entre el amoniaco de partida frente a ULN y el riesgo de CHA. Cuando los pacientes < 6 años en el punto de partida (que experimentaron la tasa más elevada de CHA y para los que la medición del nivel de amoniaco en ayunas es problemática) se excluyeron, el riesgo mayor de CHA con niveles de amoniaco de partida elevados fue incluso más evidente. Específicamente, los sujetos con edades de 6 y mayores presentaron una tasa 3 veces superior de CHA si su nivel de amoniaco de partida en ayunas se encontraba entre 0,5 y < 1 ULN y una tasa 20 veces superior si sus niveles de amoniaco se encontraban a 1.0 ULN, o por encima, que los sujetos con niveles de amoniaco de partida < 0.5 ($p = 0,009$). Estos resultados sugieren que los pacientes cuyos niveles de amoniaco en ayunas se mantienen por debajo de 0,5 ULN tienen el menor riesgo de presentar una CHA y que el nivel de amoniaco en ayunas en sujetos con edades de 6 años y mayores se puede utilizar como un agente predictivo del riesgo de CHA.

15 Ejemplo 6: Relación entre la exposición a amoniaco y el riesgo relativo de CHA.

- 20 La relación entre la exposición a amoniaco total a lo largo del tiempo y el riesgo de aparición de CHA se exploró calculando el área normalizada respecto al tiempo bajo la curva (TNAUC_{12 meses}) para el amoniaco para los pacientes con y sin una CHA durante el tratamiento de 12 meses con GPB (Tabla 13). El AUC para el amoniaco, medido mensualmente, se calculó para cada paciente utilizando la regla del trapecoide durante el curso del estudio de 12 meses. Para normalizar el AUC, TNAUC_{mes x}, se dividió el AUC por el mes de estudio final de una evaluación de amoniaco. La exposición a amoniaco considerada durante el seguimiento de 12 meses completo o en cualquier intervalo de 3 meses fue superior en pacientes que experimentaban una CHA que en aquellos que no.

Tabla 13. TNAUC_{12 meses} de amoniaco por evento de CHA.

	CHA	No CHA	Valor P
Mes 0-3			
N	19	81	
Promedio (DE)	33,3 (15,23)	23,5 (13,62)	0,0071
N.º de CHA (% de CHA total)	5 (18,5%)		
Tasa de incidencia/mes	0,0170		
Mes 0-6			
N	19	81	
Promedio (DE)	33,0 (12,17)	24,0 (13,85)	0,0100
N.º de CHA (% de CHA total)	13 (48,1%)		
Tasa de incidencia/mes	0,0224		
Mes 0-9			
N	19	81	
Promedio (DE)	33,4 (13,03)	23,7 (12,56)	0,0032
N.º de CHA (% de CHA total)	20 (74,1%)		
Tasa de incidencia/mes	0,0234		
Mes 0-12			
N	19	81	
Promedio (DE)	35,0 (14,99)	23,6 (11,94)	0,0006
N.º de CHA (% de CHA total)	27 (100%)		
Tasa de incidencia/mes	0,0240		-
Nota: Incidencia acumulativa = N.º de CHA/personas en riesgo al comienzo del intervalo.			

5 Para cuantificar adicionalmente la asociación de la aparición de CHA con el aumento en el nivel de amoníaco, el riesgo relativo de experimentar una CHA por aumento progresivo en la exposición a amoníaco total durante 12 meses (área bajo la curva normalizada respecto al tiempo de amoníaco (TNAUC)) también se exploró utilizando un método de regresión de Poisson con una varianza de error robusta (remítase a la Tabla 14 y a la FIG. 12). El TNAUC durante 12 meses se correlaciona con el riesgo de experimentar una CHA en cualquier momento durante ese periodo.

Tabla 14: Riesgo relativo (RR) de eventos CHA basado en el TNAUC de amoníaco.

TNAUC _{12meses}	Estimación del riesgo relativo	Error estándar	Riesgo relativo		valor p
			Límites de confianza	de	
aumento de 1 unidad	1,0416	0,0082	1,0257	1,0578	<0,0001
aumento de 5 unidades	1,2263	0,0482	1,1354	1,3245	
aumento de 10 unidades	1,5039	0,1182	1,2892	1,7544	
aumento de 25 unidades	2,7736	0,5450	1,8870	4,0766	

CHA: crisis hiperamónica; TNAUC: área bajo la curva normalizada respecto al tiempo.

5 Para un aumento de 1 unidad en el amoniaco, el riesgo relativo (IC de un 95%) fue 1,0416 (1,0257-1,0578) y aumentó hasta 1,2263 (1,1354-1,325) para un aumento de 5 unidades, que refleja un aumento de un 4% y un 23%, respectivamente, en el riesgo de experimentar una CHA. De manera similar, los aumentos de 10 y 25 $\mu\text{mol/L}$ aumentaron el riesgo relativo de CHA en un 50% y un 270%, respectivamente ($p < 0,0001$ para todas las comparaciones) (Tabla 14).

Ejemplo 7: Relación entre el sitio de estudio y los niveles de amoniaco de partida dentro de cada categoría de ULN.

10 La proporción de pacientes con niveles de amoniaco de partida dentro de cada categoría de ULN varió considerablemente entre sitios de estudio (FIG. 13A), que se agruparon por tanto en tres categorías basándose en el porcentaje de pacientes inscritos cuyo nivel de amoniaco en ayunas de partida era $<0,5$ del ULN en el punto de partida: Grupo 1 (6 sitios de estudio; 33 pacientes, de los cuales $>50\%$ tenían niveles de amoniaco de partida $<0,5$ ULN); Grupo 2 (3 sitios de estudio; 29 pacientes, de los cuales un 25%-50% tenían niveles de amoniaco de partida $< 0,5$ ULN) y Grupo 3 (11 sitios; 38 pacientes, de los cuales $< 25\%$ tenían niveles de amoniaco de partida $< 0,5$ ULN) (FIG. 13B y Tabla 15).

15 Tabla 15: Demografía de los pacientes entre sitios de estudio en relación con el control de amoniaco.

	Agrupación de sitios de estudio basada en el % de sujetos cuyo nivel de amoniaco en el punto de partida era inferior a la mitad del ULN		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Número de sitios	6	3	11
Número de sujetos	33	29	38
Edad en el punto de partida			
Media en años (DE)	24,5 (19,8)	20,5 (13,2)	14,7 (12,4)
Edad en el punto de partida, N (%)			
<=2 años	2(6,1)	3 (10,3)	5 (13,2)
>2 años	31 (93,9)	26 (89,7)	33 (86,8)
Amoniaco en el punto de partida ($\mu\text{mol/L}$)			
Media (DE)	19,9 (20,3)	26,9 (16,0)	37,9 (18,8)
% 0-<0,5 límite normal	72,7	37,9	10,5
% 0,5-<1,0 límite normal	18,2	24,2	55,3
% ≥ 1 límite normal	9,1	37,9	34,2
Género (%)			
Masculino	42,4	27,6	29,0
Femenino	57,6	72,4	71,0

	Agrupación de sitios de estudio basada en el % de sujetos cuyo nivel de amoniaco en el punto de partida era inferior a la mitad del ULN		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Solamente entre sujetos femeninos, N (%) subtipo OTC Cualquier otro subtipo	16 (84,2) 3 (15,2)	17 (81,0) 4 (19,0)	20 (74,1) 7 (25,9)
Subtipo binario, N (%) OTC+Sujeto femenino	16 (48,8)	17 (58,6)	20 (52,6)
Subtipo binario, N (%) Cualquier otro	17 (51,2)	12(41,4)	18(47,4)
subtipo (%)			
OTC	66,7	69,0	71,1
ARG	0,0	3,5	2,6
ASL	21,2	10,3	7,9
ASS	9,1	6,9	18,4
CPS	0,0	3,5	0,0
HHH	3,0	6,9	0,0
Proteína prescrita (g/kg/día)			
Media (DE)	0,92 (0,42)	0,86 (0,47)	0,97 (0,41)

*Los sitios de estudio se agruparon en relación con los niveles de amoniaco entre los pacientes inscritos en ese sitio: *Grupo 1* (6 sitios de estudio; 33 pacientes de los cuales > 50% tenían niveles de amoniaco en el punto de partida < 0.5 ULN); *Grupo 2* (3 sitios de estudio; 29 pacientes, de los cuales un 25%-50% tenían niveles de amoniaco de partida < 0.5 ULN); y *Grupo 3* (11 sitios; 38 pacientes, de los cuales < 25% tenían un nivel de amoniaco de partida < 0.5 ULN)

La proporción de pacientes que experimentaron una CHA fue la más baja (12%) entre los sitios del Grupo 1 y aumentó progresivamente hasta un 21% y un 24% en los sitios de los Grupos 2 y 3 (FIG. 13B). Aunque la edad promedio de los pacientes en el Grupo 3 era inferior en comparación con el Grupo 1 (14,7 frente a 24,5 años), otros marcadores de gravedad de la enfermedad que incluían la proporción de sujetos femeninos con deficiencia de OTC y restricción de proteína en la dieta fueron similares entre los grupos. Las características de partida que incluían la edad, el género y el subtipo de TCU fueron similares entre los grupos de ULN. Por tanto, el hecho de que los niveles de amoniaco en ayunas más bajos se correlacionen en gran medida con un menor riesgo y frecuencia de CHA probablemente no refleja diferencias intrínsecas en la gravedad de la enfermedad. En cambio, los datos referentes a los niveles de amoniaco y frecuencia de CHA entre pacientes inscritos en más de 20 sitios en Norteamérica, incluso permitiendo posibles diferencias en el cumplimiento entre pacientes en diferentes sitios, parecen explicarse con las diferentes respuestas al control o las distintas estrategias de control en lugar de una diferencia regional en la gravedad de la enfermedad.

15 Ejemplo 8: Relación entre los niveles de glutamina y las diferentes categorías de amoniaco

La relación entre los niveles de glutamina y las categorías de amoniaco también se analizó. Los datos publicados de Blau et al., indican que el límite superior de los valores de glutamina normales para las diferentes categorías de edad es como sigue: de 4 meses a 2 años de edad (709 $\mu\text{mol/L}$), de 2 a 10 años de edad, (709 $\mu\text{mol/L}$), de 10 a 18 años de edad (740 $\mu\text{mol/L}$), mayores de 18 años de edad (721 $\mu\text{mol/L}$) (Blau 2008). Los niveles de glutamina se analizaron durante el periodo de estudio de 12 meses en pacientes tratados durante 12 meses con GPB. Los niveles de glutamina mensuales eran generalmente superiores en los pacientes en los grupos de ULN de amoniaco de partida superiores y, a los tres meses de tratamiento, habían disminuido en los pacientes con el nivel de glutamina de partida más elevado en el punto de partida (FIG. 14A).

25 Hubo una correlación estadísticamente significativa pero comparativamente débil entre los niveles de amoniaco y glutamina de partida en el momento de la inscripción ($r = 0,27$; $p = 0,008$) así como entre los niveles de glutamina en ayunas y la exposición a amoniaco diaria durante el tratamiento con GPB o NaPBA durante los estudios de inversión ($r = 0,292$, $p < 0,001$). Sin embargo, cuando se analizó la relación entre las categorías de glutamina y amoniaco con respecto al ULN, los valores de glutamina variaron sustancialmente para los pacientes en cada categoría y al parecer la correlación total estaba determinada por los pacientes cuyo nivel de amoniaco de partida excedía 1,0 ULN (FIG.

14A y B). Las estadísticas descriptivas de la glutamina de partida por categorías de límite superior se presentan en la FIG. 15 y en la Tabla 16.

Tabla 16: Estadística descriptiva de glutamina por categorías de ULN.

Categoría de ULN	N	Promedio (µmol/L)	DE	Mínimo	Máximo
0,0 - < 0,5	37	693,6	199,0	257,0	1378,0
0,5 - < 1,0	33	709,7	183,3	419,0	1135,0
≥ 1,0	25	856,5	306,0	483,0	1857,0

5 Además, los pacientes con deficiencias proximales (OTC y CPS) mostraron una correlación más marcada entre glutamina y amoniaco (FIG. 16). Sin embargo, no hubo correlación entre el nivel de amoniaco de partida y el subtipo de TCU o niveles de citrulina ($r = 0,04$; $p = 0,414$) o ácido argininosuccínico ($r = 0,14$; $p = 0,158$).

10 También se llevó a cabo un análisis para determinar las diferencias promedio en los niveles de glutamina en pacientes que experimentaron una CHA y aquellos que no (Tabla 17).

Tabla 17: Comparación promedio de glutamina por CHA.

CHA	N	Promedio (µmol/L)	DE	Mínimo	Máximo
No	76	732,0	245,9	257,0	1857,0
Sí	19	782,4	186,2	433,0	1184,0

15 El nivel de glutamina promedio fue 50,0 unidades superior en sujetos con una CHA en comparación con aquellos sin ninguna CHA durante el estudio (782,4 frente a 732,0 µmol/L; $p = 0,150$) o como exposición a glutamina total (TNAUC_{mes 12} de 720,9 frente a 699,4 µmol/L*m; $p = 0,686$).

Se llevó a cabo un análisis de regresión de Cox multivariable con los valores de amoniaco de ULN, valores de glutamina de partida, sexo, edad y raza y se proporciona en la Tabla 18.

20 Tabla 18: Resultados de regresión de Cox multivariable para el tiempo hasta la primera CHA durante el estudio con la inclusión de glutamina.

Factor de riesgo	N	Proporción de riesgos	Valor p
Edad en años			
Pediátrica: <18	46	3,12	0,034
Adulta: ≥18	49	Ref	Ref
Amoniaco de partida (µmol/L)			
0- < 0,5 ULN	37	Ref	Ref
0,5- < 1,0 ULN	33	1,27	0,728
≥ 1,0 ULN	25	4,29	0,020
Niveles de glutamina			
0- < 649 µmol/L	32	Ref	Ref
649-808 µmol/L	31	2,59	0,177
≥ 809 µmol/L	32	2,79	0,140

Género (%)			
Masculino	31	2,21	0,121
Femenino	64	Ref	Ref
Raza (%)			
Blanca	77	1,34	0.623
No blanca	18	Ref	Ref
Nótese, que N= 95 porque 5 sujetos no tenían valores de glutamina en el punto de partida.			

5 Tal como se muestra en la Tabla 18, después de controlar la adición de los niveles de glutamina, las categorías de ULN de amoniaco continúan presentando una asociación significativa con el riesgo de CHA. Además, se observó un riesgo elevado de CHA con un aumento en los niveles de glutamina. Específicamente, los pacientes tenían aproximadamente una tasa de riesgo 2,5 veces superior de una primera CHA si sus niveles de glutamina estaban entre 649 $\mu\text{mol/L}$ y 808 $\mu\text{mol/L}$ y aproximadamente una tasa de riesgo 2,8 veces superior de una primera CHA si sus niveles de glutamina eran $\geq 809 \mu\text{mol/L}$ en comparación con los pacientes con niveles de glutamina de menos de 649 $\mu\text{mol/L}$.

10 Los niveles de glutamina eran ligeramente superiores en el punto de partida en los pacientes que experimentaron una CHA en comparación con aquellos que no experimentaron una CHA durante el estudio. La glutamina se correlacionó modestamente con el nivel de amoniaco en ayunas en el punto de partida y disminuyó durante el tratamiento con GPB en pacientes con los niveles de glutamina de partida más elevados. Curiosamente, la correlación entre el nivel de amoniaco y de glutamina en ayunas parecía estar motivada principalmente por los pacientes con el nivel de amoniaco más elevado. Esto puede explicar la aparente discrepancia entre los hallazgos de la presente y los publicados por Maestri *et al.*, cuyo paciente presentaba valores de amoniaco superiores que los pacientes en los análisis de la presente (Maestri 1992).

15

REFERENCIAS

20 1. Blau *Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics* 71 (2008)

2. Brusilow *Science* 207:659 (1980)

3. Brusilow *Pediatr Res* 29:147 (1991)

4. Diaz *Mol Genet Metab* 102:276 (2011)

5. Ghabril *Gastroenterology* 142:S918 (2012)

25 6. Haberle *Eur. J. Pediatr.* 170:21 (2011)

7. Haberle *Orphanet J Rare Dis* 7:1750 (2012)

8. Lee *Mol Genet Metab* 100:221 (2010)

9. Lichter-Konecki *Mol Genet Metab* 103:323 (2011)

10. McGuire *Hepatology* 51:2077 (2010)

11. Maestri *J. Pediatr.* 121:259 (1992)

30 12. Rockey *Hepatology* 56:248 (2012)

13. Kaplan *Journal of the American Statistical Association* 53: 457 (1958)

14. Peto *Journal of the Royal Statistical Society* 185 (1972)

15. Hardin *Generalized Estimating Equations* (2005)

35

REIVINDICACIONES

- 5
1. Fenilbutirato de glicerol (GPB) para su uso en un método de prevención de una crisis hiperamonémica (CHA) en un sujeto con un trastorno del ciclo de la urea (TCU) que ha sido tratado previamente con un fármaco de atrapamiento de nitrógeno y que tiene un nivel de glutamina superior o igual a 649 $\mu\text{mol/L}$, donde el método comprende:
- 10
- (a) medir un nivel de amoniaco en sangre en ayunas;
 - (b) comparar el nivel de amoniaco en sangre en ayunas con el límite superior normal (ULN) para el amoniaco en sangre; y
 - (c) administrar una dosis eficaz de GPB al sujeto si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas es superior a 0,5 veces el ULN para el amoniaco en sangre en ayunas,
- 15
- donde la dosis eficaz de GPB da lugar a que el nivel de amoniaco en sangre en ayunas sea $<0,5$ veces el ULN para el amoniaco en sangre, donde el sujeto tiene una edad de 6 años o mayor, y donde el fármaco de atrapamiento de nitrógeno se selecciona del grupo compuesto por benzoato sódico, GPB, ácido fenilbutírico (PBA), NaPBA y una combinación de dos o más de GPB, PBA y NaPBA.
- 20
2. GPB para su uso como en la reivindicación 1, donde la dosis eficaz de GPB da lugar a que el nivel de amoniaco en sangre en ayunas sea $<0,5$ veces el ULN para el amoniaco en sangre después de múltiples administraciones.
- 25
3. GPB para su uso como en la reivindicación 1, donde al sujeto se le ha administrado previamente una primera dosis de GPB, preferentemente donde la dosis de GPB administrada en el paso (c) es superior a la primera dosis.
4. GPB para su uso como en la reivindicación 1, donde la dosis eficaz de GPB se administra al sujeto si el nivel de amoniaco en sangre en ayunas es igual o superior a 1,0 ULN y el paciente es mayor de 6 años.
5. GPB para su uso como en cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la CHA es una primera CHA.
6. GPB para su uso como en cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el sujeto ha sido tratado previamente con GPB durante una cantidad de tiempo para mantener un nivel estacionario del fármaco en el sujeto.
7. GPB para su uso como en la reivindicación 1, donde el sujeto no ha sido tratado previamente con GPB, preferentemente donde el sujeto ha sido tratado previamente con fenilbutirato de sodio (NaPBA).

FIG. 1

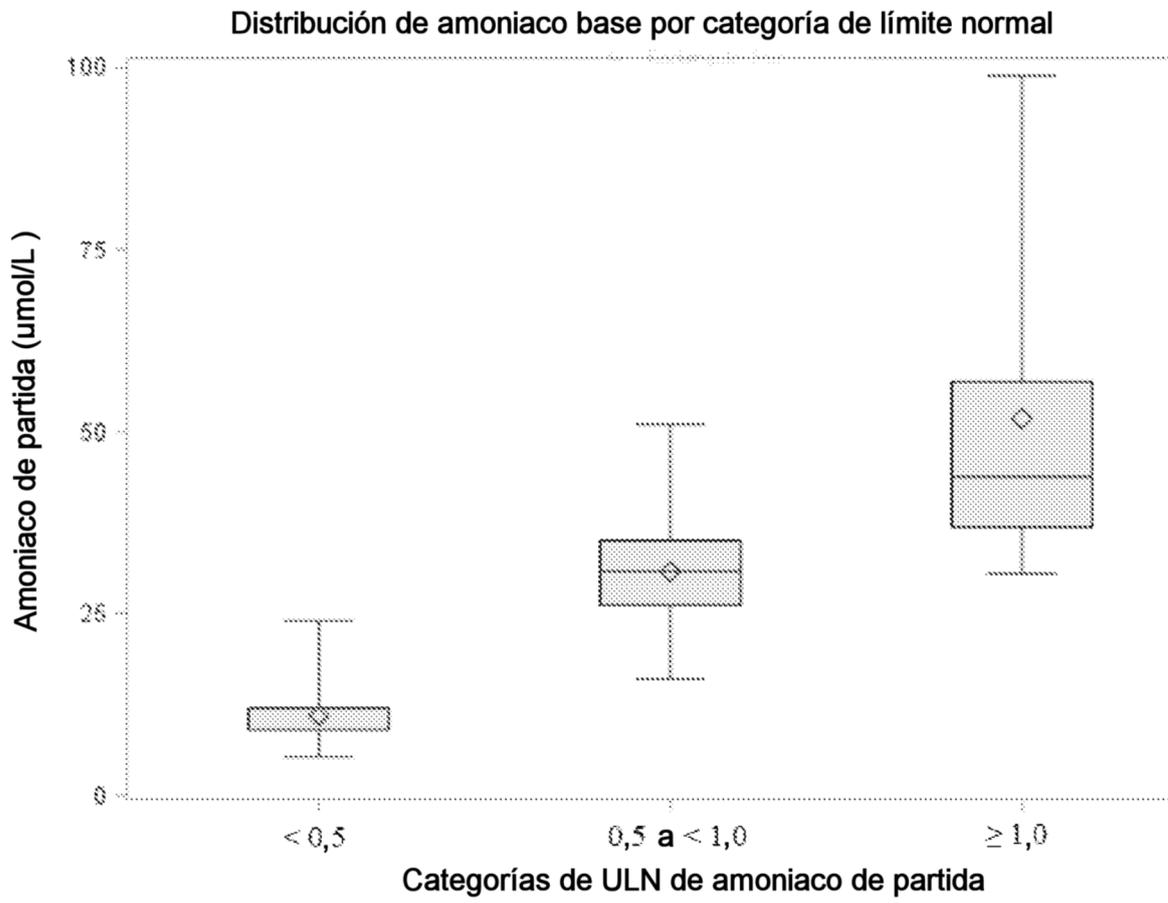


FIG. 2

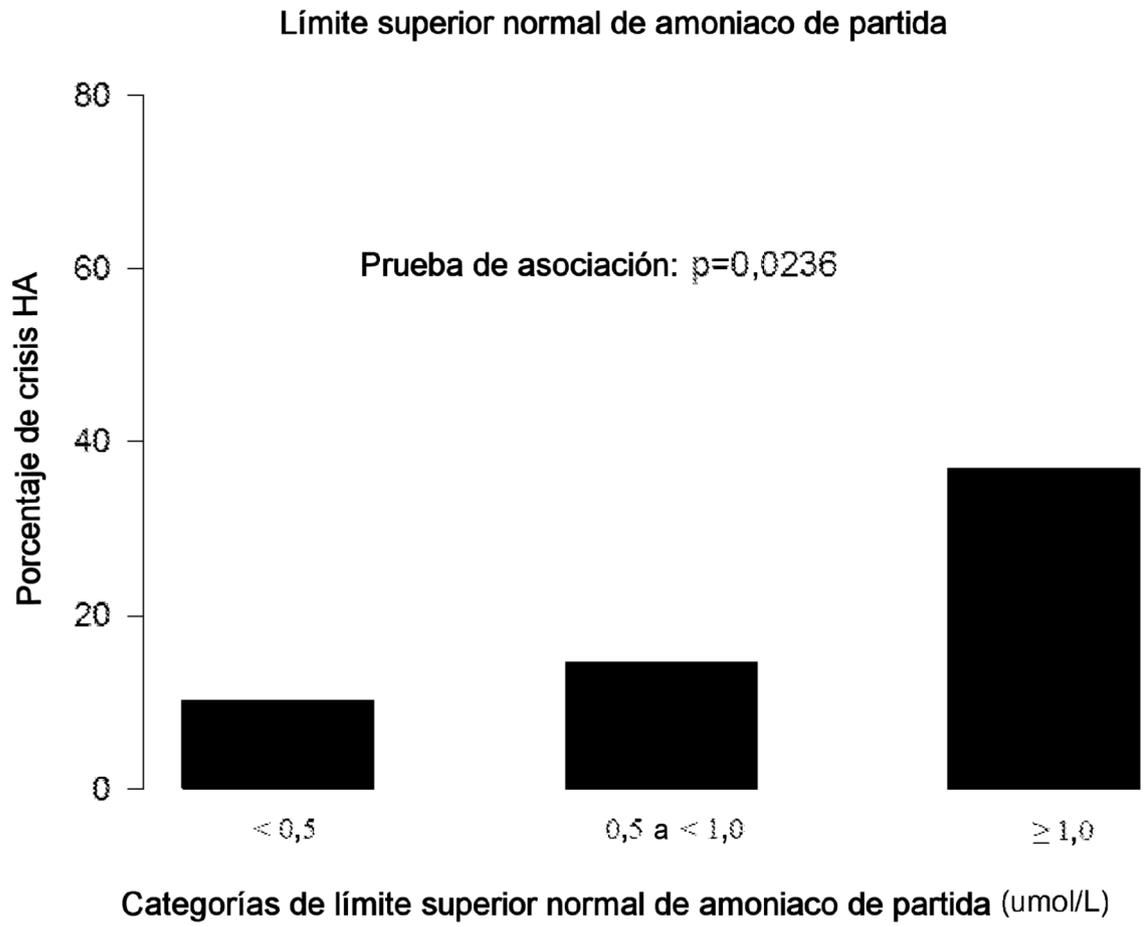


FIG. 3

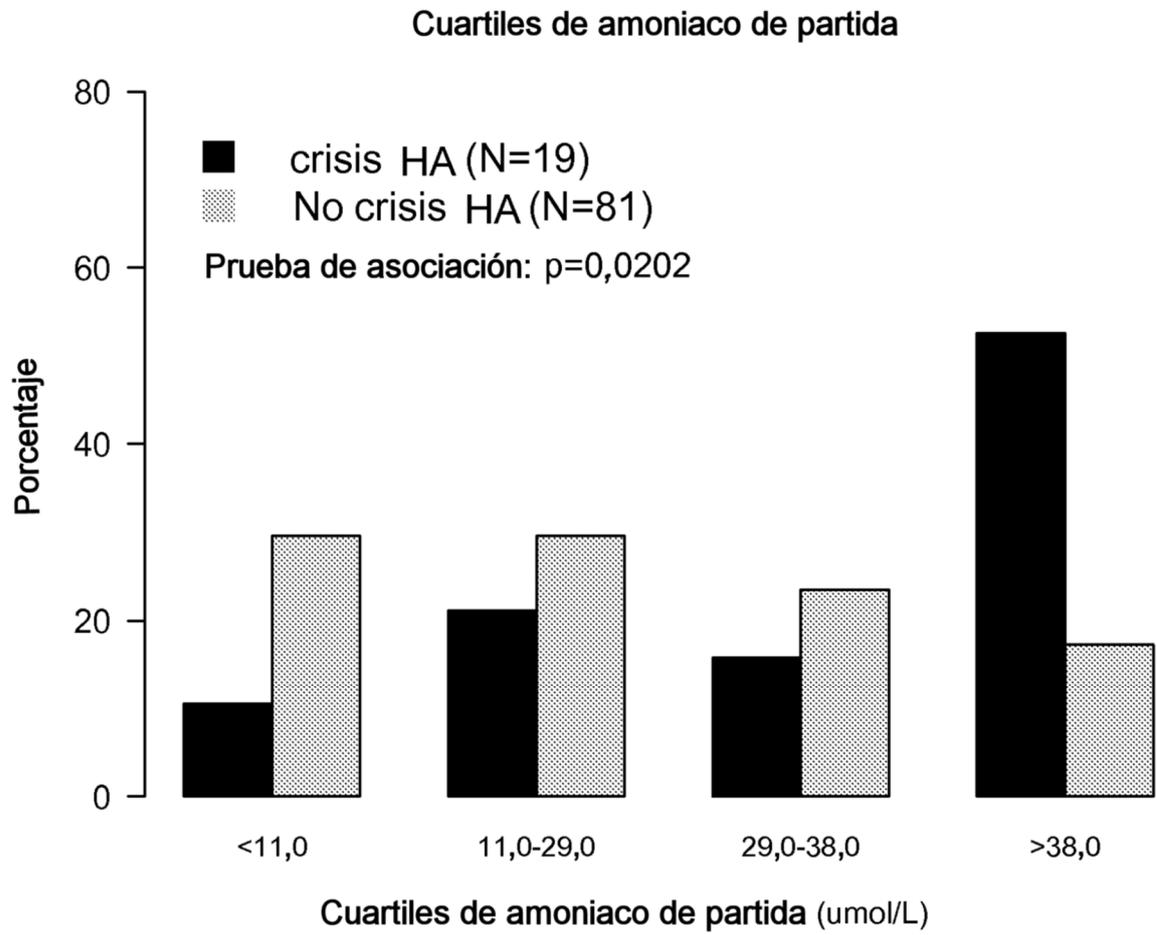


FIG. 4

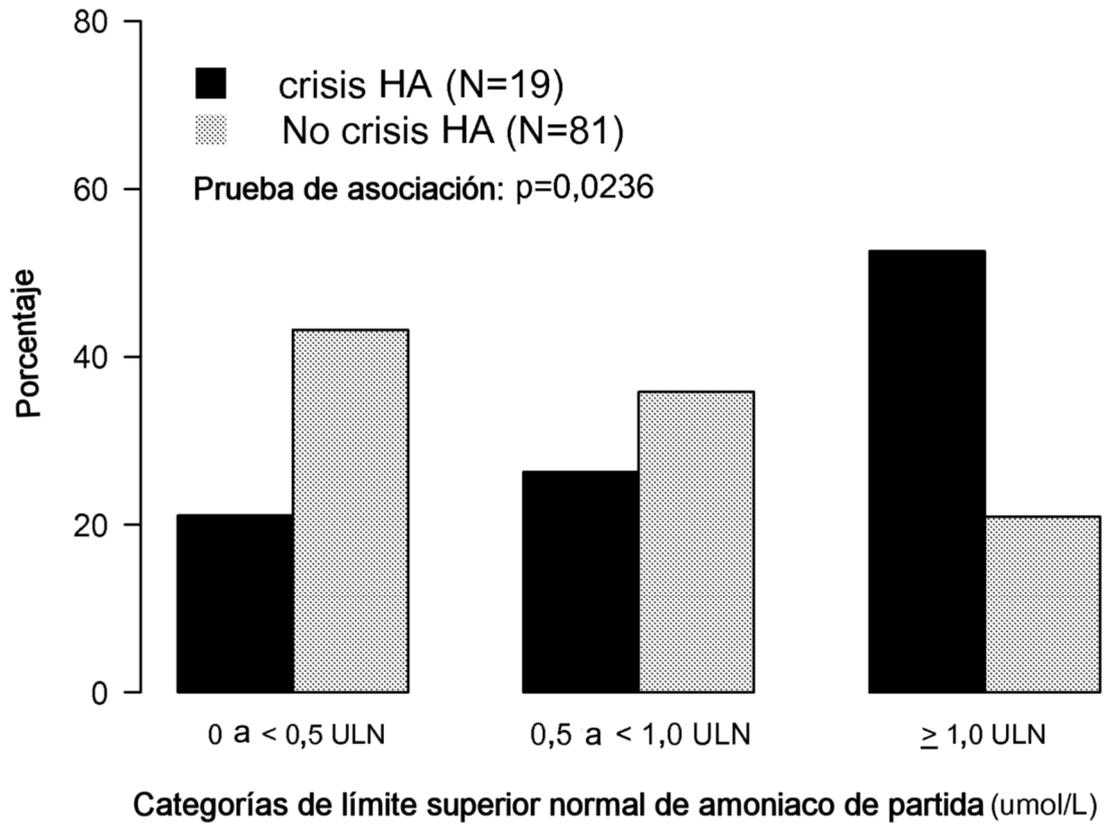


FIG. 5

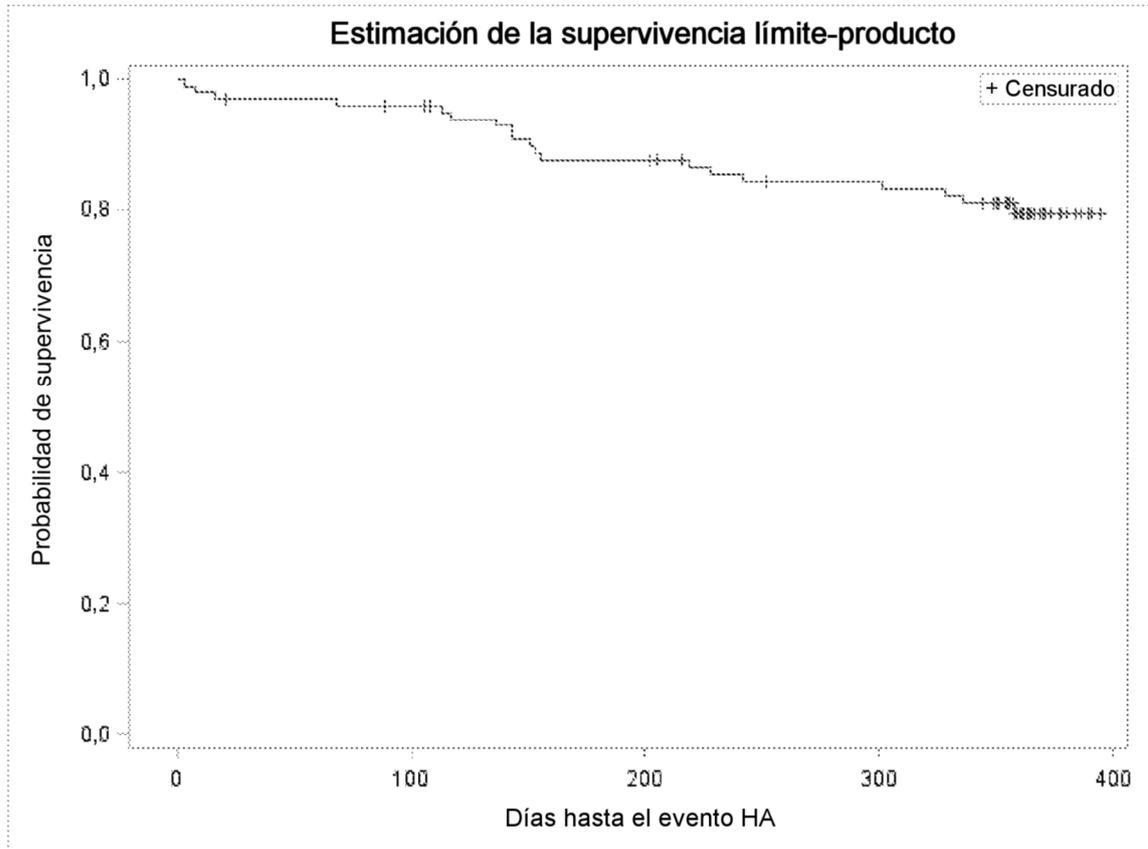


FIG. 6

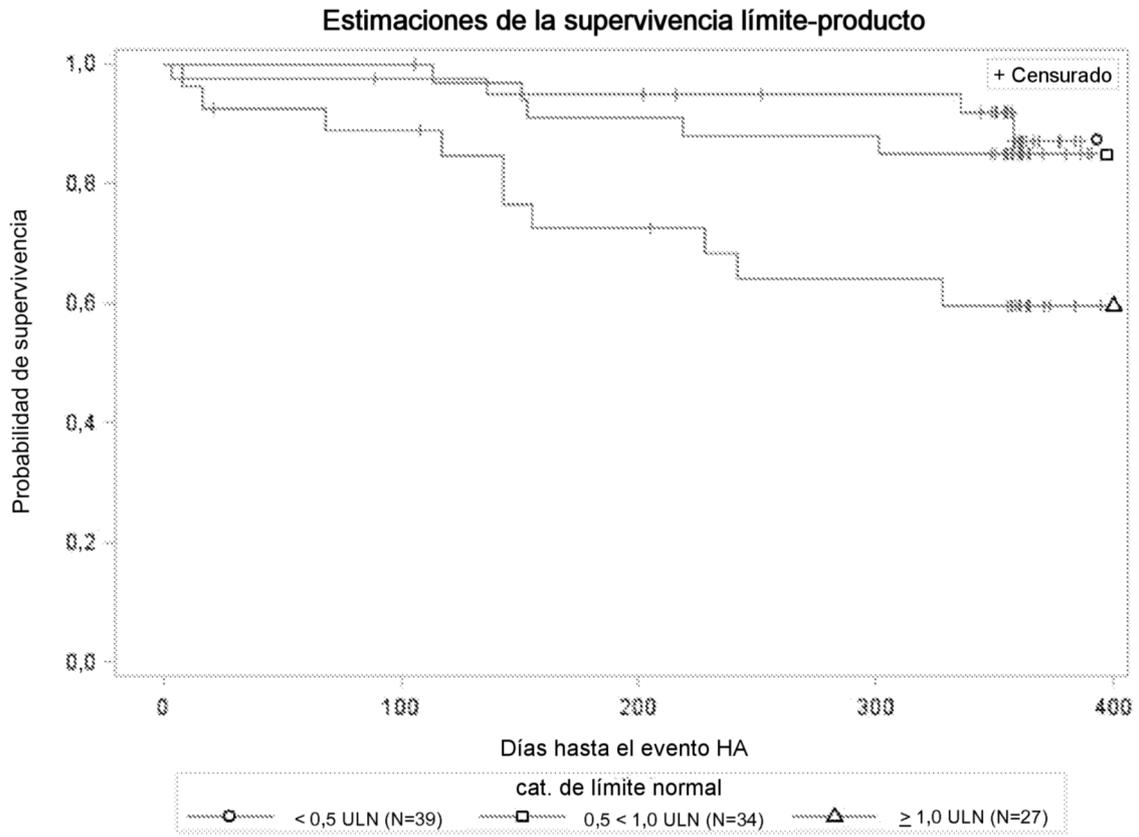


FIG. 7

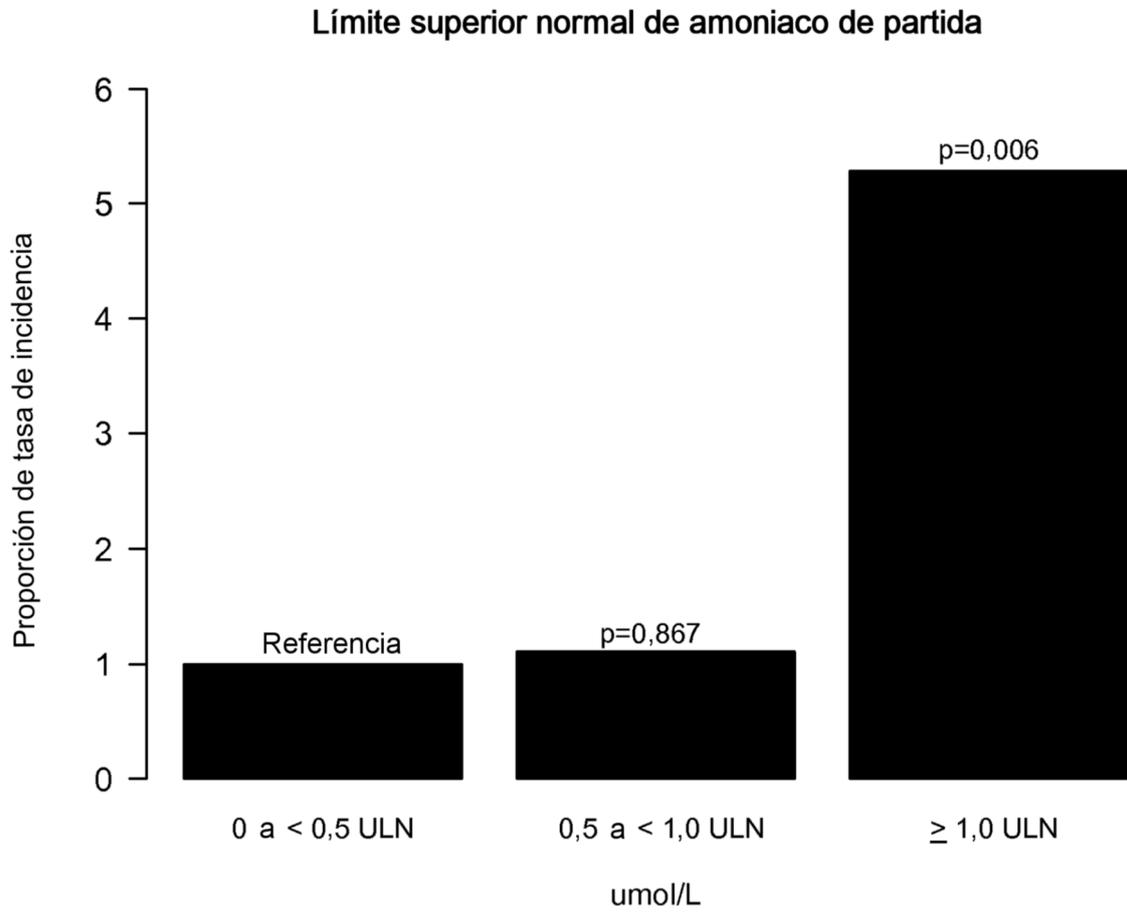


FIG. 8

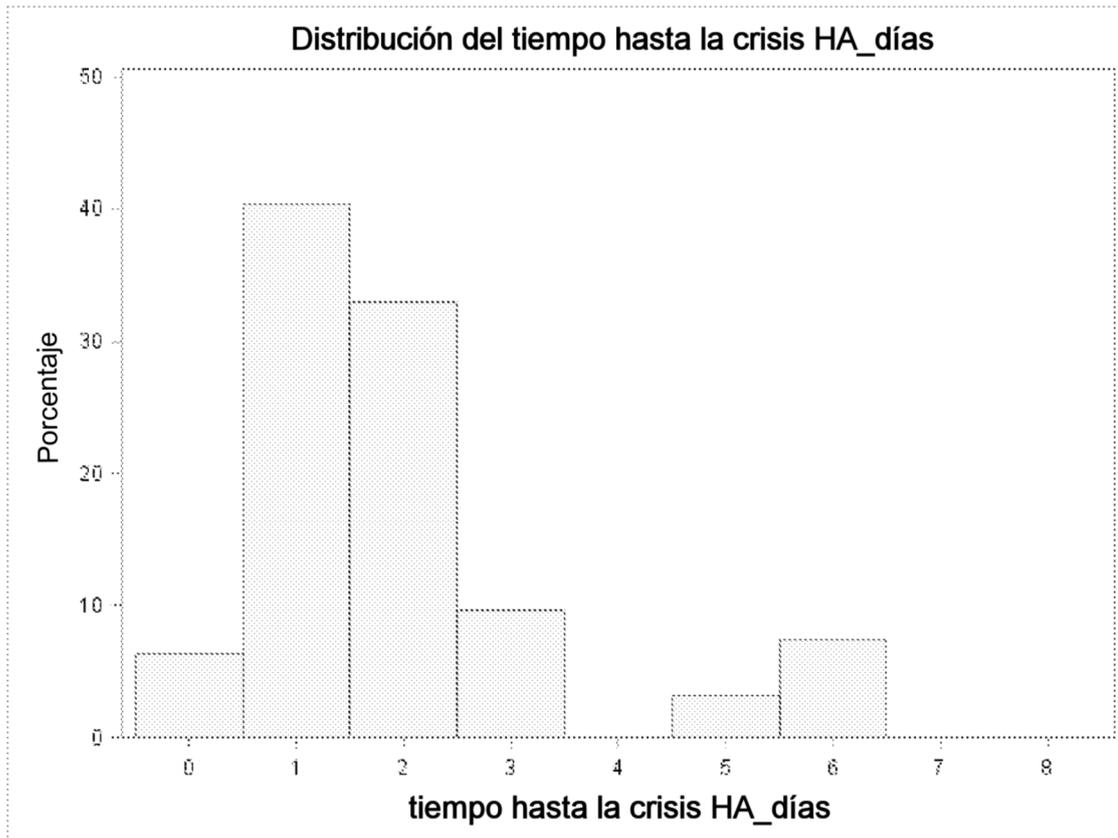


FIG. 9

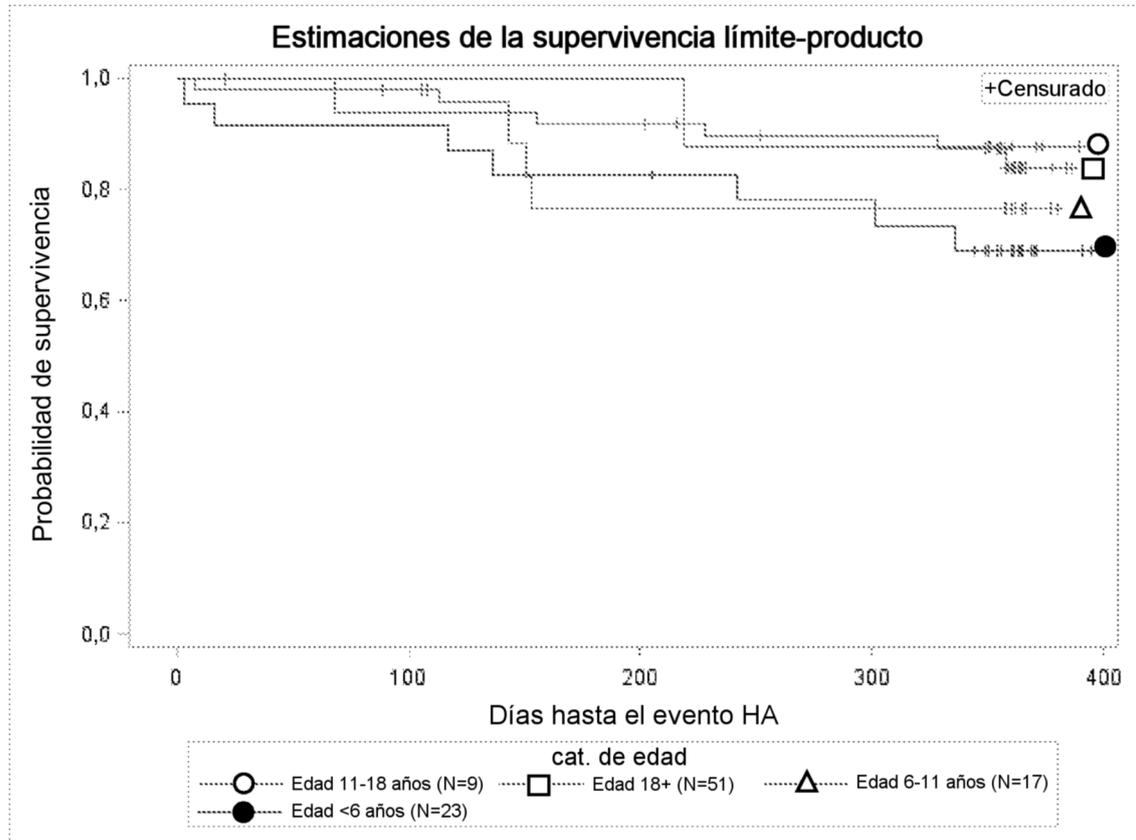


FIG. 10

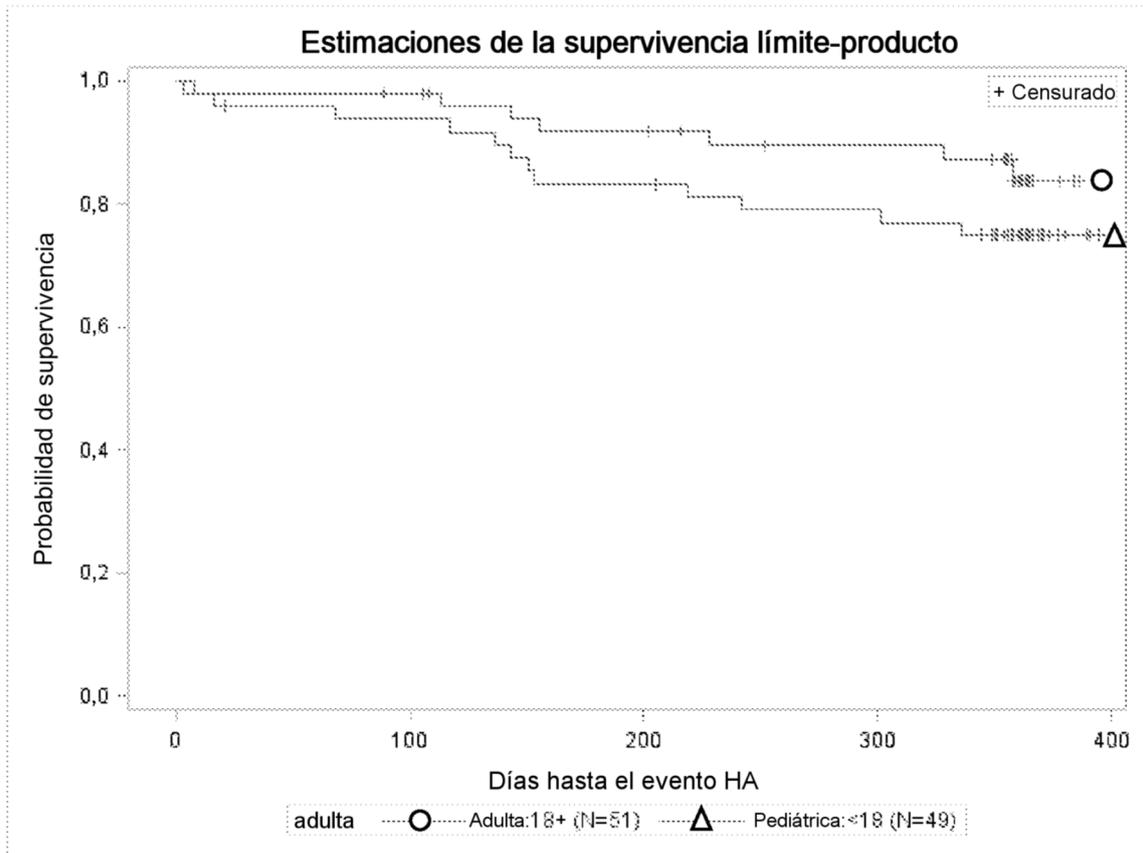


FIG. 11

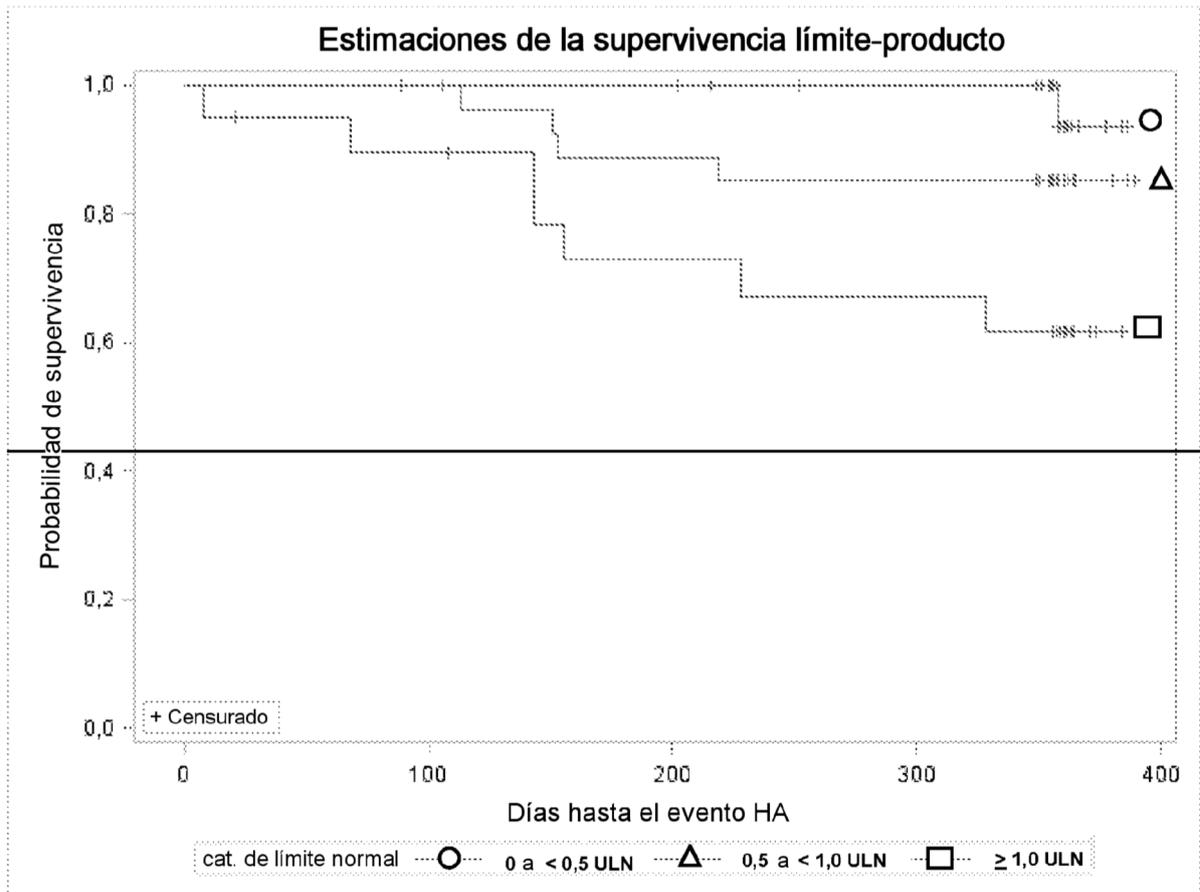


FIG. 12

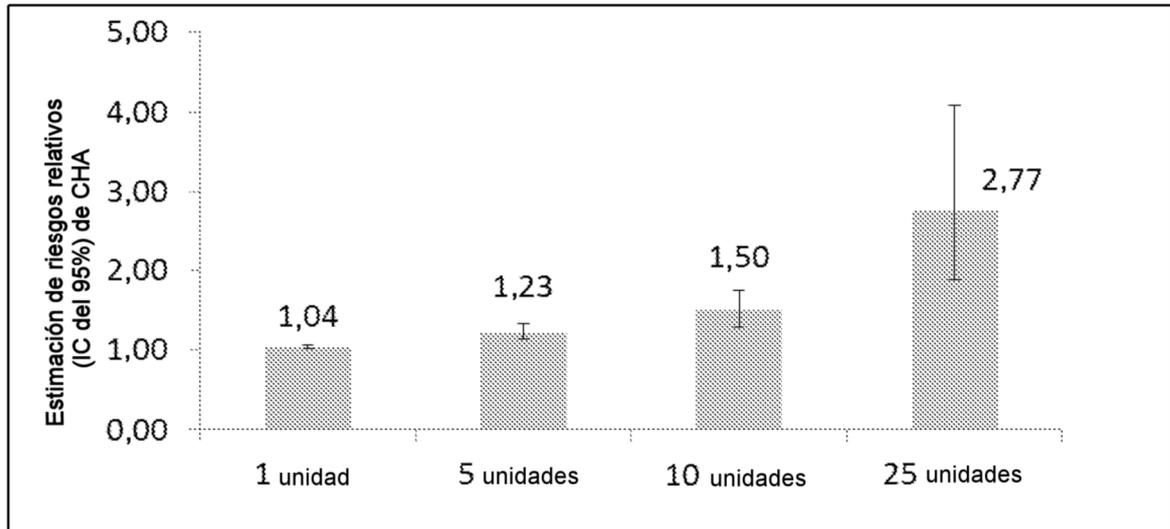
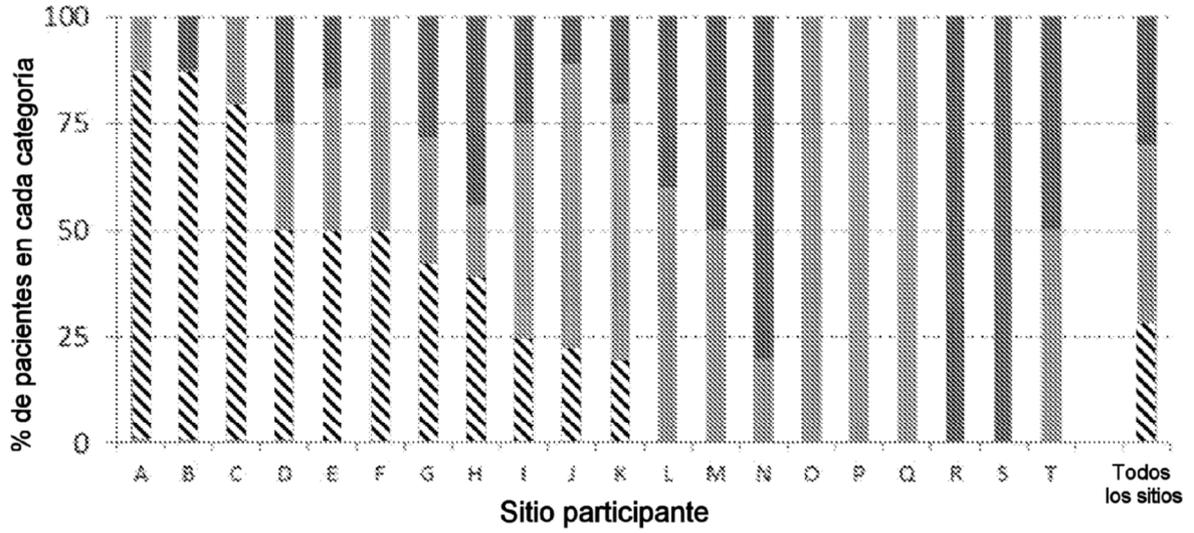


FIG. 13

A.



B.

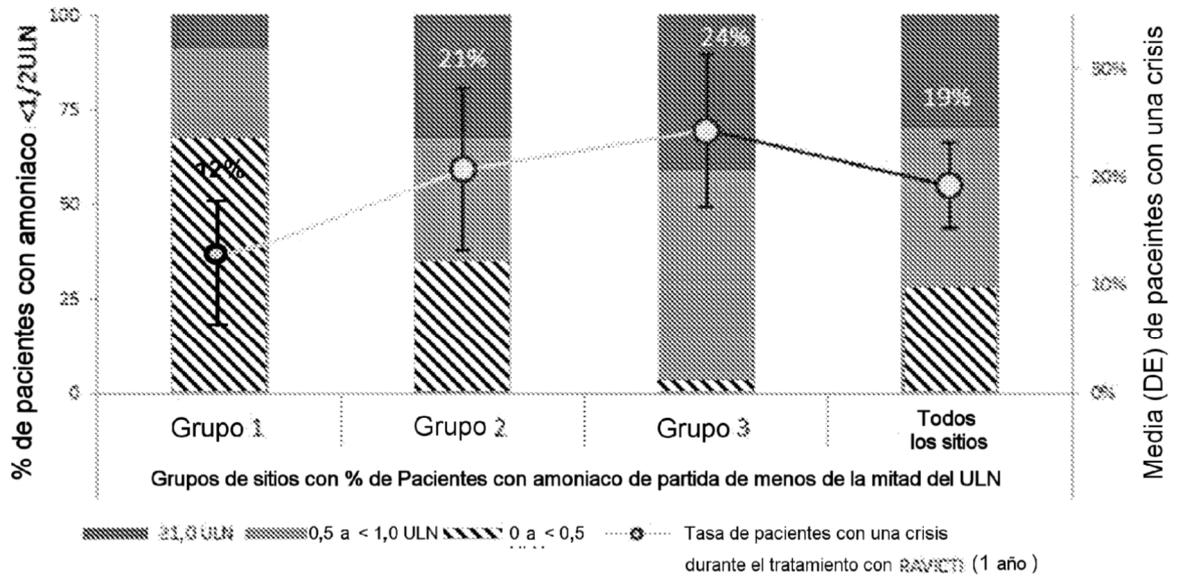
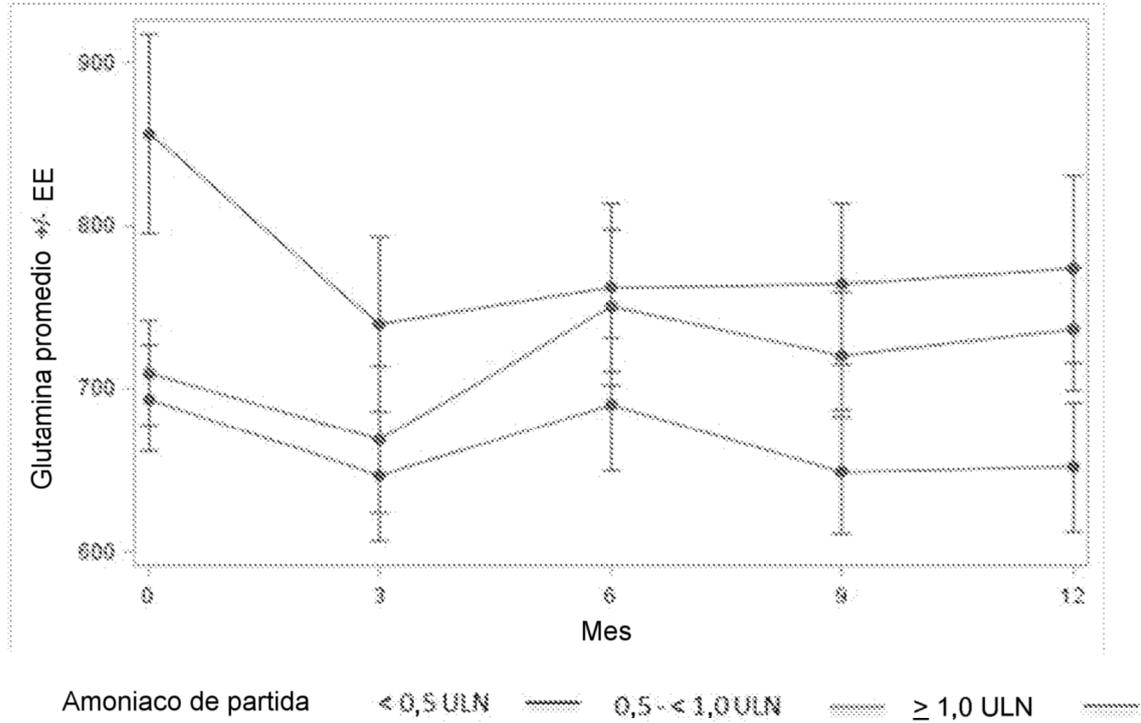


FIG. 14

A.



B.

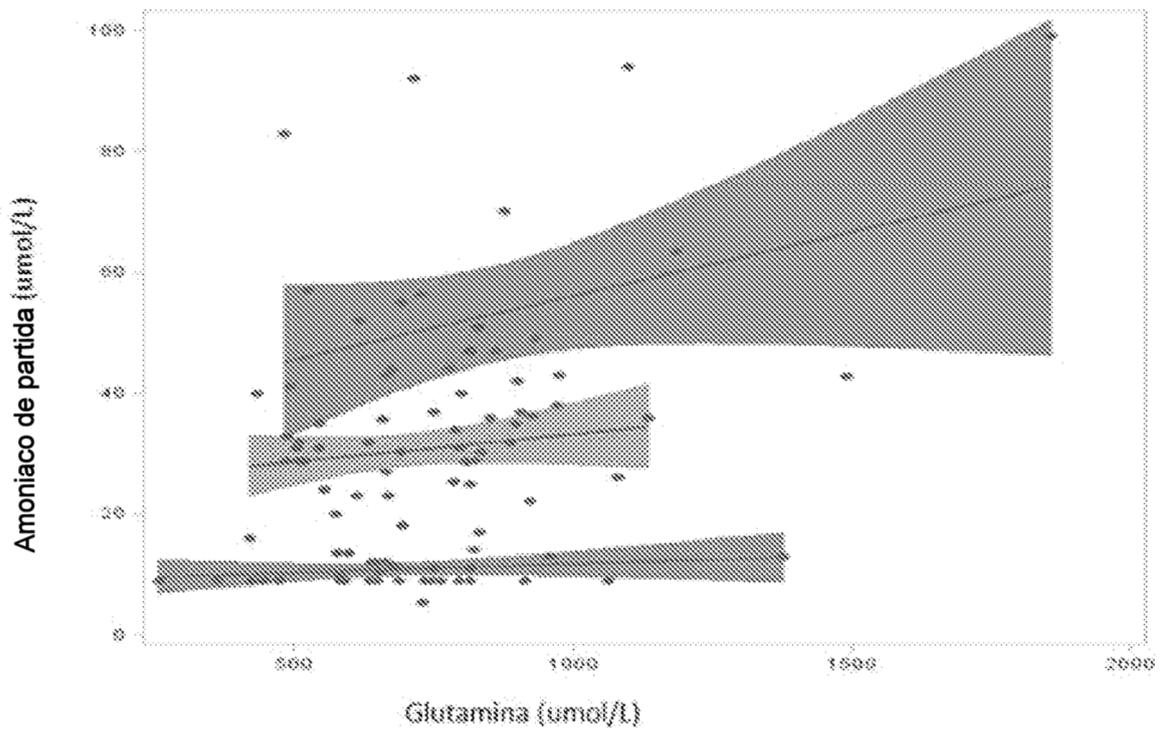


FIG. 15

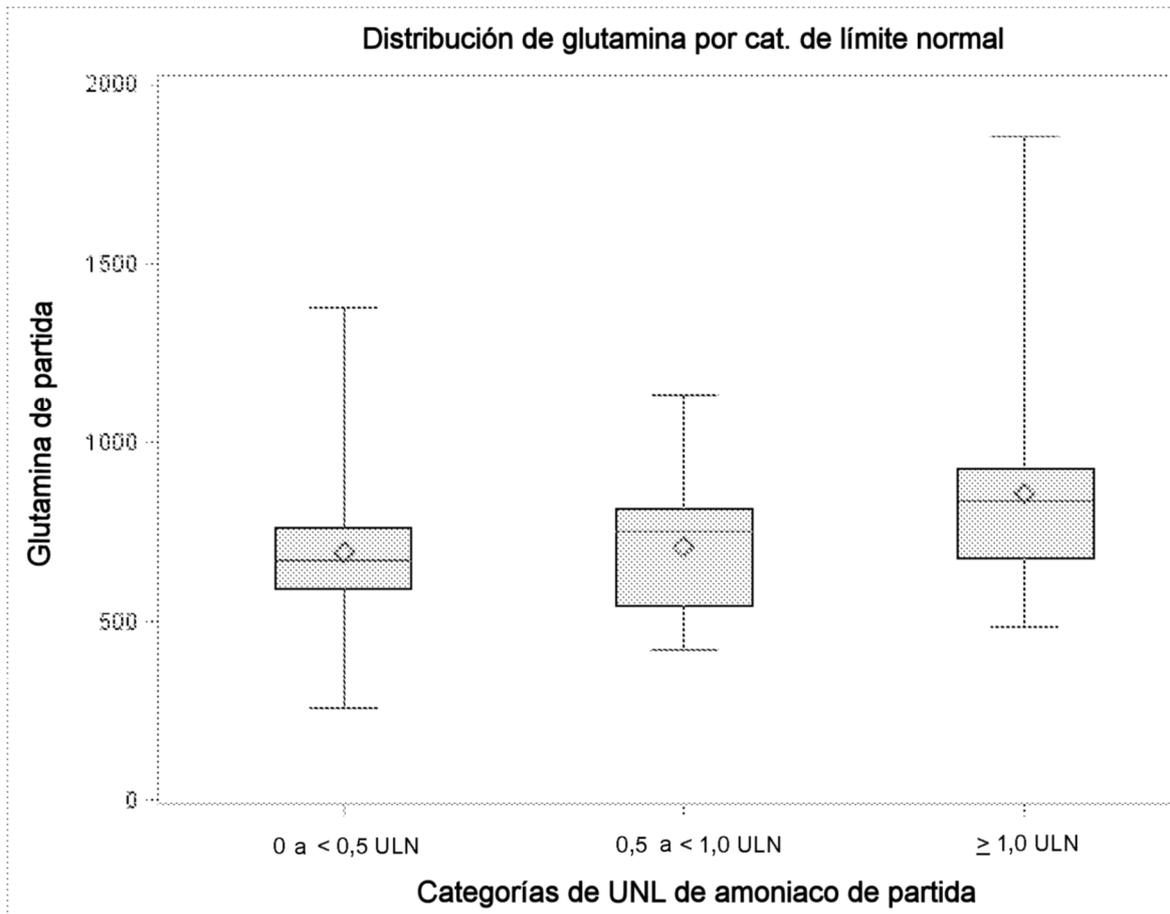


FIG. 16

