



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Tesi doctoral

Efectes de l'administració de l'ornitina fenilacetat (OCR-002) en pacients amb cirrosi hepàtica i hemorràgia digestiva alta

Meritxell Ventura i Cots

Directors

Joan Córdoba Cardona, In Memoriam

Beatriz Mínguez Rosique

Joan Genescà i Ferrer

Departament de Medicina,

Programa de doctorat en medicina

Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2015.



Durant el període en el que ha portat a terme els estudis del doctorat i la seva formació investigadora la doctorant ha rebut les següents ajudes:

-Contracte d'investigació Río Hortega, Institut de Salut Carlos III, 2013-2014.

Els estudis que conformen la present tesi han estat finançats parcialment per:

- FIS 10/1028 de l' institut de salut Carlos III i la TRA-190 del ministeri de Salut.

Aquesta tesi no existiria sense el Dr. Joan Córdoba, ni el Dr. Joan Genescà, diuen que tothom és prescindible i substituïble, doncs aquesta afirmació és absolutament falsa.

Agrair especialment a tots i cadascun dels adjunts del servei la seva ajuda i ensenyances (en especial a la Dra. Mínguez per acceptar en moments molt difícils la codirecció de la tesi), a tots els companys i companyes de residència especialment a tots els “nefastos”, a tots els companys d’urgències per la seva ajuda i ensenyances, a tots aquells que en algun moment han estat dins d’aquest món una mica de bojos que és la “caseta blava” (especialment als seus actuals habitants, la Maria la Macarena i la Mònica). I finalment als de casa, la casa de Barcelona (A la Mar), i les cases de Sabadell, la família (als meus pares) i amics (A l’Anna a l’Emili, a la Ros, la Marta, la Sònia, la Sílvia, el Carlitus i als petits, la Berta i el Bernat).

Abreviacions

EH, encefalopatia hepàtica

MELD, model of end stage liver disease

OP, ornitina fenilacetat

NaPA, sodi fenilacetat

PA, fenilacetat

PAG, fenilacetilglutamina

HDA, hemorràgia digestiva alta

ACLF, *acute on chronic liver failure*

GPB, glicerol Fenilbutirat

IQR, rang interquartílic

ILE, isoleucina

LEU, leucina

VAL, valina

ÍNDIX

I. Introducció

- a. Rellevància de l'encefalopatia hepàtica clínica.
- b. Tractaments eficaços en l'encefalopatia hepàtica.
- c. Ornitina Fenilacetat.
- d. Estudis en encefalopatia hepàtica. Dificultat de disseny i obtenció de rellevància clínica.

II. Justificació de la unitat temàtica.

III. Resum de les hipòtesis, objectius, procediments i resultats.

- a. Estudi 1.
- b. Estudi 2.

IV. Discussió

V. Conclusions

VI. Bibliografia

VII. Annex

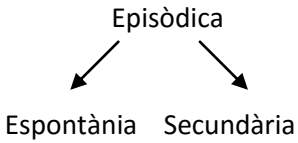
I. Introducció.

a. Rellevància de l'encefalopatia hepàtica clínica.

L'encefalopatia hepàtica (EH) és una entitat que es manifesta en context de la cirrosi hepàtica o com a conseqüència de la presència de xunts portosistèmics. Aglutina una gran varietat de símptomes i signes a nivell del sistema nerviós central i perifèric, que poden anar des de la desorientació, passant per alteracions motores, fins al coma hepàtic¹. La seva aparició es relaciona amb fases avançades de la cirrosi hepàtica que comporten una mala funció de la síntesi hepàtica i confereixen mal pronòstic pel que fa referència a la supervivència; no obstant, independentment del grau de disfunció hepàtica l'EH és un predictor independent de mortalitat² i s'associa a una gran morbiditat³.

Existeixen diferents tipus i formes de presentació de l'EH (Taula 1). L'associada a la insuficiència hepàtica aguda que està estretament relacionada amb una elevada mortalitat lliure de trasplantament hepàtic (80%)⁴. L'associada a la presència de xunts porto sistèmics que pot aparèixer en absència de malaltia hepàtica o en estadis molt lleus de la mateixa i l'associada a la malaltia hepàtica avançada, que es pot presentar de forma crònica, podent ser en tot moment detectable a través de l'exploració física i l'anamnesi convencional o bé en forma episòdica, ja sigui amb un únic episodi aïllat o bé amb episodis recidivants, tornant a la normalitat en els períodes entre episodis. Finalment, l'EH es pot manifestar en forma d'EH mínima. Aquest tipus d'EH és només detectable a través de tests neuropsicològics, però no obstant això, aquesta forma també s'ha associat a un pitjor pronòstic i major comorbiditat⁵.

Taula 1| Classificació de l'encefalopatia hepàtica

EH associada a insuficiència hepàtica aguda		
EH associada a xunt porto sistèmic sense malaltia hepàtica subjacent		
EH associada a cirrosi i hipertensió portal		
Episòdica  Espontània Secundària	Crònica	Mínima

EH; encefalopatia hepàtica

El diagnòstic de l'EH és clínic i es basa en la història, l'anamnesi i l'exploració física, excepte en el cas de l'EH mínima en que els tests neuropsicològics són imprescindibles per a realitzar-ne el diagnòstic. Els més freqüentment utilitzats per avaluar l'EH mínima són la bateria PHES (psychometric hepatic encephalopathy score) ⁶ i la freqüència crítica de parpelleig (critical flicker frequency) ⁷. Respecta a l'EH clínica s'utilitzen diferents escales per avaluar-ne la gravetat, les més usades i validades són: l'escala de West-Haven⁸, la de CHES⁹ i l'índex HESA ¹⁰. Tot i així les probes complementàries (probes d'imatge com la tomografia per emissió de positrons o la ressonància magnètica) poden ajudar a establir o descartar el diagnòstic d'EH.

b. Tractaments eficaços en l'encefalopatia hepàtica.

Tot i la incidència i rellevància clínica de l'EH, i si bé és cert que s'han fet avenços en la tipificació i classificació dels diferents tipus d'EH¹, els tractaments no han experimentat cap canvi en els últims anys. El més destacable és que, exceptuant l'estudi realitzat per Rockey et al.¹¹, fins fa 5 anys no hi ha hagut pràcticament cap intent d'iniciar assajos clínics, de qualitat amb la intenció d'establir un tractament estandarditzat i eficaç per aquesta patologia, tot i que el tractament estàndard i acceptat de l'EH, els disacàrids no absorbibles, havien vist qüestionada la seva eficàcia ¹². Els disacàrids no absorbibles actuen a nivell de la flora colònica, a través del seu efecte catàrtic i la modificació del

pH, disminueixen la quantitat d'amoni que s'absorbeix a nivell intravascular, eliminen la flora que ha incorporat productes nitrogenats, afavorint per tant l'eliminació d'amoni i finalment propugnen un canvi en la flora intestinal augmentant el percentatge de flora sacarolítica respecte al de la flora proteolítica, fet que disminueix la proporció de bacteris que contenen ureasa.

No obstant, si que s'han obert nous camps pel que fa a la prevenció de l'EH. En els últims anys dos nous fàrmacs han demostrat ser eficaços en prevenir la recidiva i allargar el període entre episodis en pacients amb EH episòdica. Aquest són la rifaximina, un antibiòtic no absorbible ¹³ i el glicerol fenilbutirat (GPB), un eliminador d'amoni ¹¹. Aquests nous tractaments han canviat l'escenari del tractament de la profilaxi secundària de l'EH. La rifaximina actua a nivell dels bacteris intestinals i s'han proposat diversos mecanismes d'acció: la inhibició de l'activitat de la glutaminasa, la disminució de la translocació bacteriana, la disminució de l'estat inflamatori i finalment, el canvi en l'espectre de la flora intestinal. El GPB és una molècula utilitzada en el tractament dels trastorns del cicle de la urea que proporciona una nova via d'eliminació de l'amoni en forma de fenilacetilglutamina (PAG) a través de la orina.

El tractament durant l'episodi agut d'EH és però un escenari completament diferent. Els disacàrids no absorbibles han demostrat ser eficaços tant en la prevenció primària ¹⁴, com en la prevenció secundària ¹⁵, però no hi ha dades clares, ni estudis de qualitat durant els episodis aguts d'EH amb manifestacions clíniques. Tot i això la lactulosa és considerada en el moment actual el tractament estàndard de l'EH, tant en la seva forma recidivant, com en la seva forma crònica i el seu ús s'ha estès als episodis d'EH clínica. La única actuació que ha demostrat ser eficaç durant l'EH episòdica o crònica amb manifestacions clíniques són, per una banda, la correcció dels factors desencadenants, quan aquests existeixen, que és en una minoria de casos ³ i el manteniment d'una dieta normoproteica ¹⁶, que si bé no millora l'episodi agut, evita complicacions pel que fa referència a la desnutrició proteica i millora l'estat catabòlic.

Tot i les evidents dificultats, en els darrers anys, han sorgit nous fàrmacs que volen abastar tant la profilaxi secundària com el tractament de l'EH aguda; aquests són els fàrmacs moduladors del metabolisme de l'amoni, el GPB i l'ornitina fenilacetat (OP).

c. Hipòtesis d'acció i desenvolupament de l'ornitina fenilacetat

L'amoni prové en major percentatge de la dieta, tot i que també se'n forma a partir del catabolisme proteic a nivell muscular. L'absorció intestinal dels aminoàcids no és un 100% eficient. Els aminoàcids provinents de la dieta arriben fins al còlon, on els bacteris (especialment els anaerobis) transformen els aminoàcids que no s'han pogut absorbir en amoni. Aquest amoni és absorbit i fins a un 90% passa a la circulació portal, arribant al fetge on es transforma en urea a través del cicle de la urea. El 75 % d'aquesta urea és eliminada a través de l'orina, no obstant el 25% es conjuga amb els àcids biliars tornant via circulació enterohepàtica al còlon on és convertida novament en amoni. Cal tenir en compte que un 10% de l'amoni evita el fetge i es metabolitza a nivell dels ronyons, cor i cervell¹⁷. La presència de cirrosi hepàtica o xunts portosistèmics altera completament tot el metabolisme de l'amoni i per tant la seva eliminació.

L'augment de l'amoni plasmàtic és un dels factors més importants en el desenvolupament de l'EH¹⁸. Hi ha diversos estudis que atribueixen el desenvolupament de l'EH als canvis que una situació d'hiperamonièmia produeix a nivell cerebral, tant a nivell de neurotransmissors, com en el metabolisme¹⁹. La hiperamonièmia en pacients amb EH també s'ha relacionat amb una alteració de la resposta immunològica davant les infeccions, atribuint-ho a la disminució de la capacitat fagocítica que aquesta provoca en els neutròfils²⁰. Hi ha diferents fàrmacs que disminueixen l'amoni plasmàtic, els millors resultats fins al moment actual s'han obtingut en la prevenció primària o secundària amb fàrmacs que tenen com a diana el sistema digestiu²¹. Els nous fàrmacs en desenvolupament es basen en l'eliminació d'amoni plasmàtic.

El sodi fenilacetat (NaPA) és una molècula que elimina amoni a través de la seva unió amb glutamina formant PAG, que posteriorment s'elimina a través de l'orina. Aquesta molècula ha estat utilitzada prèviament amb èxit en pacients amb trastorns del cicle de la urea²². Un altre fàrmac que s'ha administrat tant en pacients amb trastorns del cicle de la urea, com en cirròtics compensats és el GPB (profàrmac del fenilacetat). El GPB ha demostrat ser un fàrmac segur en pacients cirròtics²³ i eficaç en la prevenció secundària de l'EH en pacients cirròtics compensats comparat amb placebo¹¹.

Finalment, un altre fàrmac també proposat com a eliminador d'amoni plasmàtic és l'OP. Es tracta d'una sal cristal·lina formada per una molècula d'ornitina i una de fenilacetat (figura 1).

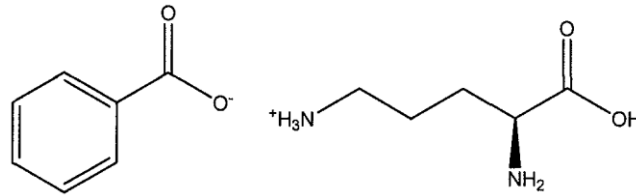


Figura 1 | molècula d'ornitina fenilacetat

El PA és el principal component de dos fàrmacs utilitzats pel tractament de les situacions d'hiperamonièmia en els trastorns del cicle de la urea, el NaPA d'administració endovenosa i l'àcid fenilbutíric (profàrmac del PA), que s'administra per via oral. L'ornitina és un aminoàcid no essencial que s'ha utilitzat juntament amb l'aspartat en forma de L-ornitina L-aspartat (LOLA) en el tractament de l'EH mínima i clínica amb resultats contradictoris i sense efectes clars sobre la supervivència, ni qualitat de vida ²⁴.

La hipòtesis d'actuació d'aquest fàrmac es basa en la capacitat de l'ornitina per estimular l'activitat de la glutamina sintetasa que afavoreix la transformació de glutamat en glutamina, especialment a nivell muscular. En aquesta transformació s'incorporen dues molècules d'amoni i el PA s'uneix a les molècules de glutamina de nova formació transformant-se en PAG, molècula hidrosoluble, que s'excreta per via urinària (figura 2). Aquesta estratègia evita la degradació de la glutamina per la glutaminasa intestinal i per tant la formació d'amoni. Aquesta hipòtesi va quedar reforçada per l'estudi portat a terme per Davies, et al.²⁵ on es va demostrar que la utilització combinada d'aquesta molècula era més efectiva en disminuir l'amoni plasmàtic, que no pas l'ús de PA o ornitina de forma aïllada en un model de rates amb lligadura del conducte biliar.

S'han portat a terme múltiples estudis preclínic que han demostrat l'eficàcia de l'OP en disminuir la concentració d'amoni plasmàtic i prevenir l'aparició d'edema cerebral en el context d'insuficiència hepàtica ²⁶. L'OP també ha demostrat que disminueix en un 45% l'augment plasmàtic d'amoni produït en rates amb una lligadura portocaval després d'una hemorràgia digestiva alta (HDA)²⁷. Aquesta disminució en l'amoni plasmàtic s'ha associat per una banda amb una millora clínica objectiva de l'EH ²⁷ i per

l'altra amb una millora en les alteracions que l'amoni produeix en el metabolisme cerebral de l'òxid nítric²⁸. S'ha postulat també com a possible diana de l'OP la glutamina sintetasa, hipotetitzant que en pot disminuir l'activitat, fet que afegeix també al seu efecte una disminució en la producció d'amoni²⁹.

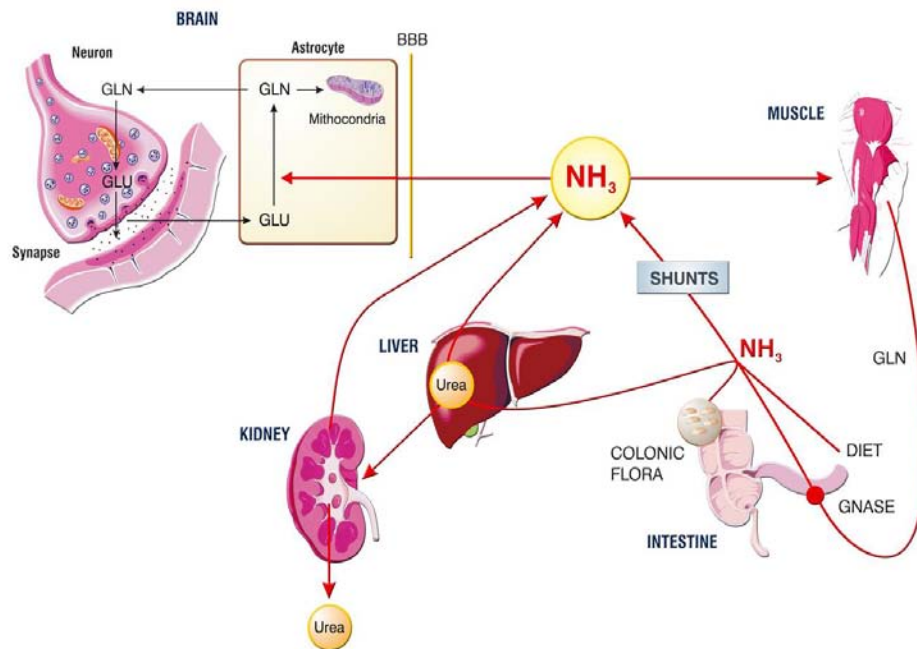


Figura 2 | Mecanisme d'acció de l'ornitina fenilacetat. Modificat de Cordoba, et al. Semin Liv Dis 2008.

Respecte a la recerca clínica, s'ha portat a terme un estudi fase I en voluntaris sans en que l'OP s'ha mostrat segur (OCR002-HV201) i un estudi en fase IIa en pacients cirròtics no descompensats (OCR-HE201)³⁰. En aquest darrer estudi, es van administrar dosis d'entre 4 i 40g durant 24 hores sense objectivar cap efecte advers greu, la tolerància global va ser bona i la dosis més ben tolerada va ser de 10g/dia³⁰. Els efectes secundaris més freqüents en tots el grups van ser, cefalea, nàusees, vòmits, somnolència, inestabilitat cefàlica, mareig, taquicàrdia i tinnitus.

La possible toxicitat de l'OP s'ha relacionat amb la molècula de PA i es basa en els estudis sobre NaPA. Aquest fàrmac ha estat usat prèviament en pacients amb tumors sòlids i amb trastorns del cicle de la urea. En el primer cas a dosis de 250-300 mg/Kg en bol s'ha descrit toxicitat neurològica^{31,32}. En els trastorns del cicle de la urea s'ha usat l'Ammonul® (NaPA) i d'aquest fàrmac en destaca la possibilitat de desenvolupar efectes tòxics neurològics (convulsions, edema cerebral i bradipsíquia), així com

hipopotassèmia, hiperglicèmia i vòmits. En els estudis de toxicitat del sodi fenilbutirat (Ammonaps®) també destaquen principalment els efectes adversos sobre el sistema nerviós central. Cal tenir en compte que tots aquests efectes, tant en pacients oncològics, com en pacients amb trastorns del cicle de la urea s'han produït amb medicació endovenosa i que estan relacionats amb la concentració màxima de PA, cedint ràpidament al parar l'administració. El GPB ha estat administrat en pacients cirròtics compensats demostrant ser un fàrmac segur, essent novament els efectes adversos més freqüents els neurològics (cefalea) i els relacionats amb alteracions del tracte digestiu. La farmacocinètica del GPB és equivalent a la del NaPA²³.

Pel contrari l'altre component de l'OP, l'ornitina, pràcticament no té efectes adversos, únicament s'han descrit episodis de nàusees²⁴ i està contraindicat en situacions d'insuficiència renal amb creatinines més altes de 3mg/mL (a dosis de 20g/dia). Això es degut a que la situacions d'hiperproteinèmia poden condicionar un augment de la pressió intraglomerular a través dels canvis sobre l'expressió del perfil hormonal (glucagó, factor de creixement insulínic de tipus 1, eix renina-angiotensina) , el perfil de citocines i a través de la inducció directa de retroalimentació tubuloglomerular.

d. Estudis en encefalopatia hepàtica. Dificultat de disseny i obtenció de rellevància clínica.

L'EH és sens dubte una complicació molt heterogènia, principalment per tres motius: 1) la gran variabilitat clínica pel que fa referència a la presentació, fet que afegix dificultat al seu diagnòstic i retarda la introducció del tractament, 2) la gran quantitat i variabilitat dels factors precipitants que poden desencadenar aquesta complicació, 3) els diferents graus de disfunció hepàtica que presenten aquests pacients, que poden anar des d'una funció de síntesi hepàtica pràcticament normal, fins a una insuficiència hepàtica aguda sobre fetge sa o sobre un fetge prèviament cirròtic³³.

Aquests tres fets condicionen que la població diana dels estudis amb EH aguda sigui d'entrada molt heterogènia i per tant dificulten molt homogeneïtzar la mostra poblacional. Els escassos estudis que existeixen en EH aguda estan formats per grups molt reduïts de pacients i la manca d'estudis epidemiològics descriptius també en dificulta el disseny, per la desconeixença sobre l'evolució de la patologia i els seus

veritables factors precipitants. Recentment s'ha publicat un estudi sobre els factors de risc i les característiques dels pacient amb EH on destaquen varis fets. El més rellevant es que només s'han pogut identificar com a factors de risc per al desenvolupament de l'EH l'ús de diürètics durant els 3 mesos previs a l'episodi i especialment el fet d'haver patit amb anterioritat un episodi d'EH². Aquest mateix estudi posa en entredit la relació de l'EH amb alguns dels factors de risc que històricament s'havien relacionat amb la presència d'EH, com les infeccions i l'hemorràgia digestiva alta.

La comunitat científica té com a objectiu l'obtenció de resultats clínicament rellevants, sigui quin sigui el seu camp d'investigació. Això es tradueix en el camp de l'EH en haver centrat els esforços en la profilaxi secundària de l'EH, on s'han obtingut resultats sobre el retard en l'aparició de nous episodis d'EH i evitar ingressos hospitalaris. Pel contrari, molts pocs estudis s'han centrat en obtenir resultats clínics rellevants en l'EH aguda³⁴. La majoria d'estudis en EH aguda s'han centrat en l'anàlisi d'indicadors indirectes com l'amonèmia. Tot i no ser l'ideal, aquests tipus d'estudis han conduït a resultats prometedors i han posat les bases per dissenyar altres assajos molt més ambiciosos pel que fa referència a resultats clínics.

II. Justificació de la unitat temàtica

En base a la rellevància de l'EH com a complicació de la cirrosi hepàtica que confereix, independentment del grau de disfunció hepàtica, una menor supervivència i donada l'escassa efectivitat dels tractaments acceptats fins el moment pels episodis d'EH aguda, proposem l'estudi d'una nova molècula (OP) per al tractament de la hiperamonèmia. Donada l'heterogeneïtat dels pacients amb EH tant en la clínica com en el desencadenant de la situació d'hiperamonèmia, s'ha escollit com a situació clínica d'hiperamonèmia l'hemorràgia digestiva alta (HDA) per tal d'homogeneïtzar els grups.

L'OP no s'ha administrat fins al moment actual en pacients cirròtics descompensats, per tant se'n desconeix la seguretat i tolerabilitat. Tampoc ha demostrat la seva eficàcia en disminuir l'amoní plasmàtic en aquests pacients. Així doncs el següent treball s'estructura en dues parts: A) estudiar la seguretat i la tolerabilitat del fàrmac en pacients cirròtics descompensats per una HDA, i B) estudiar l'eficàcia del fàrmac en disminuir la concentració d'amoní plasmàtic després d'una HDA.

III. Resum de les hipòtesis, objectius, procediments dels estudis i resultats

- a. **Estudi 1. Seguretat de l'ornitina fenilacetat en pacients cirròtics descompensats: estudi obert d'una sola cohort amb dosis esglaonades.**

Introducció

L'OP és una nou fàrmac que s'ha proposat com a tractament de la hiperamonièmia i l'encefalopatia hepàtica. Ha demostrat ser segur en voluntaris sans i en pacients cirròtics no descompensats. El present estudi s'ha realitzat per establir la seva seguretat i tolerabilitat en pacients cirròtics en context d'una HDA.

Hipòtesi

L'OP és un fàrmac segur i ben tolerat en pacients cirròtics descompensats per una HDA.

Objectius

L'objectiu principal és establir la seguretat i la tolerabilitat del fàrmac en pacients cirròtics descompensats, en aquest cas en forma d'HDA.

Els objectius secundaris són estudiar la concentració d'amoní, PA i aminoàcids en plasma i l'excreció urinària de PAGN.

Mètodes

Es van incloure 10 pacients durant les 24 hores posteriors a una HDA. L'OP es va administrar en forma d'infusió continua a dosis creixents, iniciant-la a un 33% de la dosi final i augmentant la dosi a intervals de 12 hores, fins a un màxim de 10g/24 hores, assolint aquesta dosi a les 24 h (0,42g/h). La durada total del tractament fou de 5 dies amb un control posterior al 6è dia.

L'anàlisi de l'amoni, PA i PAG així com dels diferents metabòlits i aminoàcids implicats en el metabolisme i mecanisme d'acció de l'OP s'han realitzat d'acord amb els mètodes estàndards ^{35, 36}.

Resultats

L'OP és un fàrmac segur i ben tolerat pels pacients cirròtics descompensats, presentant durant l'estudi un total de 8 efectes secundaris tots ells lleus i només dos relacionats amb la infusió de la medicació.

La disminució de l'amoni plasmàtic (descens del 65% de l'amoni basal al 5è dia d'infusió, $P < 0,01$), sembla estar en relació amb la disminució de glutamina plasmàtica (descens del 37% al 3er dia d'infusió) i en l'aparició de PAG en orina. Aquests fets doncs, donen suport al mecanisme d'acció proposat per l'OP, posicionant aquest fàrmac com a un potencial agent eliminador d'amoni.

- b. Estudi 2. Efecte de l'ornitina fenilacetat sobre la concentració plasmàtica d'amoni en pacients cirròtics descompensats per una hemorràgia digestiva alta. Estudi multicèntric aleatoritzat a doble cec.**

Introducció

L'HDA condueix a un augment de l'amoni plasmàtic en pacients amb cirrosi hepàtica, aquesta situació pot desembocar en un quadre d'EH. L'OP és un fàrmac amb un potencial efecte sobre l'eliminació d'amoni, que ha demostrat ser segur i ben tolerat en pacients cirròtics descompensats. Existeixen dades que confirmen el seu mecanisme d'acció pel que fa referència a la disminució plasmàtica d'amoni i la seva posterior eliminació en forma de PAGN en orina. Aquest estudi vol demostrar que l'OP és eficaç comparat contra placebo en la disminució de l'amoni plasmàtic.

Hipòtesi

L'OP és més eficaç que el placebo en disminuir la concentració d'amoni plasmàtic en un 25% respecte al basal durant les primeres 24 hores post HDA en pacients cirròtics descompensats.

Objectius

L'objectiu principal és observar l'eficàcia de l'OP *versus* placebo en disminuir la concentració d'amoni plasmàtic en pacients amb una cirrosi hepàtica descompensada en forma d'HDA, durant les primeres 24 hores d'infusió del fàrmac.

Els objectius secundaris són: estudiar els canvis en els aminoàcids plasmàtics durant el període d'estudi, així com el canvi en la concentració d'amoni plasmàtic durant tot el període d'estudi, confirmar la seguretat i tolerabilitat del fàrmac, confirmar el mecanisme d'acció, el seu perfil farmacocinètic i estudiar la presència d'episodis d'EH i d'infeccions bacterianes en ambdós grups.

Materials i mètodes

Es van incloure 38 pacients durant les 24 hores posteriors a una HDA. Els pacients van ser aleatoritzats 1:1 a rebre OP o placebo. L'OP es va administrar en forma d'infusió contínua a dosi fixa de 10g/24 hores. La durada total del tractament fou de 5 dies amb un control posterior al 6è dia i un seguiment als 28 dies.

L'anàlisi de l'amoni, del PA i PAG, així com dels diferents metabòlits i aminoàcids implicats en el metabolisme i mecanisme d'acció de l'OP, s'han realitzat d'acord amb els mètodes estàndards^{35,36}.

Resultats

S'observa una disminució de la concentració d'amoni en el grup tractat més marcada que en el grup placebo durant tot el període d'estudi, però sense ser significativa.

L'àrea sota la corba corregida pel temps durant el temps d'estudi (AUC-TN 0-120h) de l'amoni en els pacients amb Child-Pugh C, és significativament menor en el grup tractament [40,16 µmol/L (37,7-42,6); mediana (IQR)] que en el grup placebo [65,5 µmol/L (54-126); p=0,036].

El mecanisme d'acció del fàrmac es confirma a través de l'observació de la disminució de l'amoni plasmàtic i la seva eliminació en forma de PAGN en orina.

Les dades dels aminoàcids plasmàtics semblen apuntar a la inducció d'altres vies d'eliminació d'amoni.

No hi ha diferències en la incidència d'EH ni infeccions.

Es confirma la seguretat i tolerabilitat del fàrmac.

IV. Discussió

En el present treball s'ha estudiat l'ús de l'OP com a fàrmac eliminador d'amoni en pacients cirròtics descompensats per una HDA. El model HDA es va escollir com a model d'hiperamonièmia donada l'arribada massiva de sang a nivell del tracte digestiu alt en aquesta situació. Els components nitrogenats de la sang són digerits pels bacteris intestinals i els aminoàcids provinents de la molècula d'hemoglobina són desaminats per enzims de la mucosa intestinal. L'estat hipermetabòlic induït per l'HDA condueix a un augment de la producció d'amoni a diferents teixits, essent els ronyons els principals productors d'amoni^{18, 37, 38}. Els nivells mitjos i la desviació estàndard d'amoni de l'estudi 1 van ser de 80 µmol/L +/- 42,5, destacant que fins a tres pacients tenien uns nivells basals d'amoni <50 µmol/L. En l'estudi 2 els nivells basals d'amoni van ser de 100,3(43,5) i 94,7(47,2) µmol/L en el grup placebo i en el grup tractament, respectivament, havent-hi un total de 2 pacients per grup amb valors d'amoni <50 µmol/L. És important recalcar que els pacients que inicialment presentaven nivells d'amoni dins del límit de la normalitat es mantenen durant tot l'estudi dins els paràmetres de normalitat i per tant no treuen cap benefici de les intervencions terapèutiques. Per altra banda, els nivells basals d'amoni, tant en l'estudi 1 com en ambdós grups de l'estudi 2, tot i elevats, van ser inferiors als esperats, descrivint la literatura valors més alts, entorn als 122 µmol/L³⁷. A més a més cal destacar que tot i que clàssicament l'HDA s'ha associat a l'aparició d'EH, noves dades d'estudis epidemiològics posen en dubte aquesta associació², ja sigui perquè la incidència d'aquesta patologia ha baixat de forma dramàtica en els últims anys, o bé pel fet que els tractament de la mateixa han millorat espectacularment el control de l'hemorràgia i de les complicacions secundàries.

La ràtio entre la concentració plasmàtica d'isoleucina (ILE) i la suma dels aminoàcids leucina (LEU) i valina (VAL) és un bon paràmetre per estimar la quantitat de sang acumulada al tracte digestiu. Els canvis en la ràtio ILE/(LEU+VAL) són molt característics de les situacions d'hemorràgia digestiva^{39, 40}, i mostren en aquest cas que tots dos grups són comparables pel que fa referència a la quantitat de sang digerida (Figura 3).

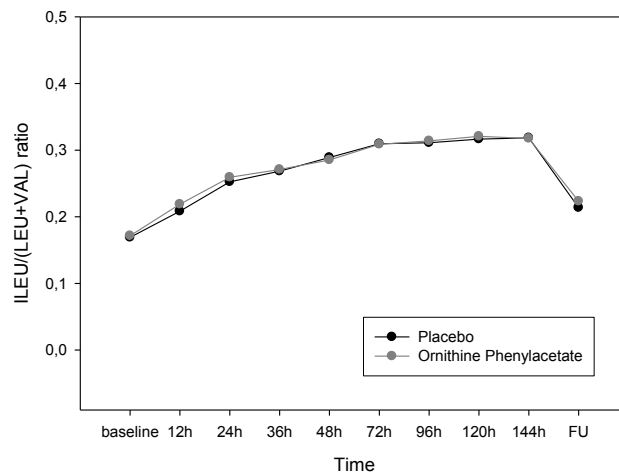


Figura 3 | Ràtio entre la concentració plasmàtica d'isoleucina (ILE) i la suma dels aminoàcids leucina (LEU) i valina (VAL), com a representació de la quantitat de sang ingerida per l'episodi d'HDA en ambos grups.

L'estudi 1 on es va explorar com a variable principal la seguretat i toxicitat del fàrmac, deixa clar que l'OP és segur i ben tolerat en aquest grup de pacients. Cal però recalcar que en aquest estudi per atzar no es va incloure cap pacient amb Child-Pugh C, a més a més i donat que s'havien descrit múltiples casos de toxicitat neurològica en pacients tractats amb PA, es va establir com a criteri d'exclusió la presència d'EH per poder avaluar aquesta toxicitat sense interferències. Tot i aquestes limitacions només es van descriure un total de 8 efectes secundaris classificats tots ells com a lleus. Només dos d'aquests efectes secundaris es van considerar secundaris a la medicació d'estudi. L'estudi 2, que va incloure un total de 9 pacients amb Child-Pugh C i 6 pacients amb EH, no ha fet més que confirmar la seguretat del fàrmac; es van produir un total de 55 efectes secundaris en el grup tractament i 68 en el grup placebo. D'aquests pràcticament el 50% de cada grup es van produir durant el seguiment de 28 dies un cop parada la infusió. Cal destacar que només un efecte secundari (dolor abdominal), classificat com a lleu, es va poder relacionar amb l'administració del fàrmac. En el grup placebo van aparèixer un total de 4 efectes secundaris greus i en el grup tractament 6 i en cap cas es a poder establir la relació causal amb el fàrmac; en el grup tractament 5 d'aquestes efectes es van produir durant el seguiment.

Les guies clíniques d'EH recomanen l'administració de disacàrids no absorbibles en situacions d'encefalopatia hepàtica aguda ⁴¹. No obstant la seva eficàcia en aquestes situacions és dubtosa ¹² i és clar doncs, que es necessita un fàrmac eficaç en les

situacions d'EH aguda. La nostra aposta és pels fàrmacs eliminadors d'amoni. La hiperamonièmia és pràcticament constant en totes les situacions d'EH independentment del desencadenant i tot i que no és l'únic factor implicat en el seu desenvolupament, si que podria ser-ne el desencadenant. Múltiples estudis experimentals mostren una forta associació entre el desenvolupament d'EH i les alteracions a nivell de neurotransmissors i metabolisme cerebral, provocat per l'exposició cerebral a la hiperamonièmia¹⁹. Els estudis en profilaxi secundària mostren que petits canvis en la concentració plasmàtica d'amoni comporten una menor incidència d'episodis d'encefalopatia hepàtica¹¹. A l'estudi 1 es van comparar els pacients amb una cohort històrica emparellada per MELD (*model for end stage liver disease*), objectivant un major descens en l'amoni plasmàtic en el grup tractat (Figura 4). Fet que va posar les bases per iniciar l'estudi 2, comparant aquest fàrmac contra placebo.

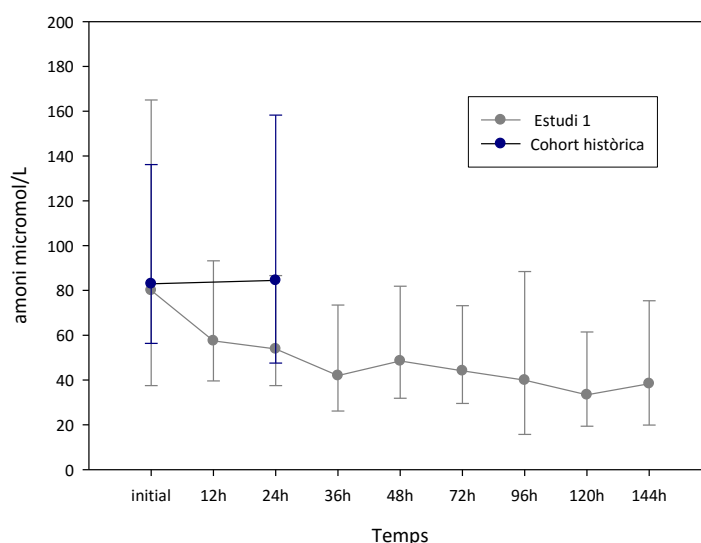


Figura 4| Concentracions mitjanes d'amoni de l'estudi 1, en relació amb les concentracions mitjanes d'amoni de la cohort històrica.

Els resultats obtinguts en l'estudi 2, tot i objectivar un major descens en l'amoni plasmàtic durant tot l'estudi i mostrar un descens durant les primeres 24h en el grup tractament [-20.4 µmol/L (-39.20– -2.80); mediana (IQR)] de pràcticament el doble que en el grup placebo [-11.88 µmol/L (-36.75– 26.35)], no aconsegueix l'objectiu principal de l'estudi, donat que les diferències no són estadísticament significatives. Per definir l'hipòtesi i calcular la mida de la mostra, es va preveure un descens en la

mitja d'amoni plasmàtic de 25 $\mu\text{mol/L}$ durant les primeres 24 hores d'infusió del fàrmac respecte al grup placebo. Aquesta hipòtesi es va construir en base a la cohort històrica que apuntava a la persistència de la hiperamonièmia en nivells d'uns 80 $\mu\text{mol/L}$ durant les primeres 24 hores, fet que posteriorment no s'ha confirmat a l'estudi 2.

Sembla doncs que els pacients inclosos en l'estudi 1 (N=10) presenten una corba d'amoni amb un descens més pronunciat i sostingut que els dels grup tractament de l'estudi 2. Cal destacar el perfil a les 144h (24h després de parar la infusió), si bé els pacients de l'estudi 1 persisteixen amb nivells molt baixos d'amoni, els pacients del grup tractament de la fase 2 passen de presentar concentracions d'amoni de 58,2 (28,8) $\mu\text{mol/L}$ a les 120h a uns nivells de 70,29 (34,8) $\mu\text{mol/L}$ a les 144h, essent aquestes últimes iguals que els del grup placebo. Aquest fet porta a pensar que la mostra de pacients de l'estudi 2 és més representativa i a visualitzar l'efecte de l'OP, així com la pèrdua d'aquest efecte al finalitzar la infusió (Figura 5). L'estudi 2 posa de manifest que són els pacients amb Child-Pugh C els qui semblen obtenir el major benefici de la dosi administrada, tal com queda reflectit a la taula 1, tot i això cal tenir en compte que la mostra de pacients és petita.

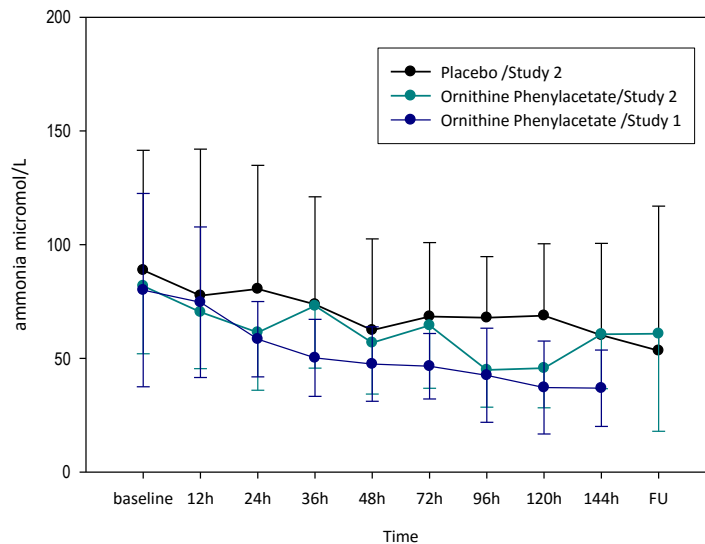


Figura 5 | Concentracions mitjanes d'amoni de l'estudi 1 en relació amb les concentracions mitjanes d'amoni del grup tractament i del grup placebo de l'estudi 2.

El fet que el descens en la concentració d'amoni sigui significatiu en el grup de pacients amb Child-Pugh C i no en aquells amb Child-Pugh A o B i donat que presentar un Child-Pugh C tradueix una pitjor funció hepàtica, ens fa postular que la dosi total administrada 10g/dia, podria ser suficient en aquells pacients amb Child-Pugh C, però no per la resta (Taula 2). Aquesta hipòtesi es basa en el fet que les concentracions de PA plasmàtiques a nivell global són molt menors que les obtingudes en la resta d'estudis realitzats amb molècules similars. En els estudis amb NaPA s'assoleixen unes concentracions de PA que fluctuen entre C_{\min} : 120 $\mu\text{g/mL}$ i C_{\max} : 4652 $\mu\text{g/mL}$)⁴². En profilaxi secundària amb GPB les concentracions de PA que s'associen amb una resposta clínica varien entre C_{\min} : 84.4 $\mu\text{g/mL}$ i C_{\max} : 292 $\mu\text{g/mL}$ ^{43, 44}. Aquests valors estan molt per sobre dels obtinguts en els nostres estudis on les concentracions màximes de PA s'assoleixen a les 36 hores d'inici de la infusió del fàrmac i són de 24,7 $\mu\text{g/mL}$. Aquests nivells són similars als obtinguts en l'estudi sobre seguretat i tolerabilitat de l'OP que s'està portant a terme en pacients amb insuficiència hepàtica aguda greu (nivells mitjos de PA 65 $\mu\text{g/mL}$, a dosis 10g/dia)⁴⁵ i que segueixen sent subòptims, donat que el rang terapèutic s'ha establert entre 75-150 $\mu\text{g/mL}$.

Taula 2 | TN -AUC_{0-120h} amoni respecte Child-Pugh score

Child-Pugh	Ammonia $\mu\text{mol/L}$ TN- AUC _{0-120h} median [IQR]		p value
	Placebo n	OP n	
Child-Pugh A	Placebo n=3 59.69 [56.73 - 111.80]	OP n=4 62.29 [57.82 - 70.47]	0.571
Child-Pugh B	Placebo n=9 75.79 [59.48- 84.94]	OP n=13 72.74 [46.86 - 90.26]	0.486
Child-Pugh C	Placebo n=6 65.50 [53.97- 125.76]	OP n=3 42.57 [37.76- 51.09]	0.024

TN-AUC_{0-120h}; àrea sota la corba entre 0 i 120 hores corregit per temps. IQR; rang interquartílic

També dona suport a aquesta hipòtesi, el fet que en l'estudi amb GPB els nivells de PA assolits pels pacients amb Child-Pugh C són més alts que els de la resta de grups⁴⁴. Cal tenir en consideració però, que la forma d'administració d'aquests estudis (oral en el cas de GPB dos cops al dia o endovenosa en bol en el cas del NaPA) difereix de la utilitzada en el nostre treball, on s'ha escollit una infusió endovenosa contínua.

Tant l'estudi 1 com el 2, semblen confirmar el mecanisme d'acció del fàrmac (figura 2), referent al descens plasmàtic observat en la glutamina, la posterior aparició de PAG en sang i la seva eliminació per l'orina (figura 6). Més recentment altres autors han suggerit en base a nous estudis experimentals que l'OP pot estimular altres vies d'eliminació de l'amoni, proposant l'eliminació d'amoni en forma de fenilacetilglicina⁴⁶. També en aquest treball observem una disminució plasmàtica significativa en la glicina, que sembla apuntar a aquest amino àcid com a una altre possible via d'eliminació de l'amoni induïda per l'OP, tot i que la via d'eliminació urinària a través de la fenilacetilglicina no s'ha determinat i per tant no es pot confirmar com a via d'eliminació en humans.

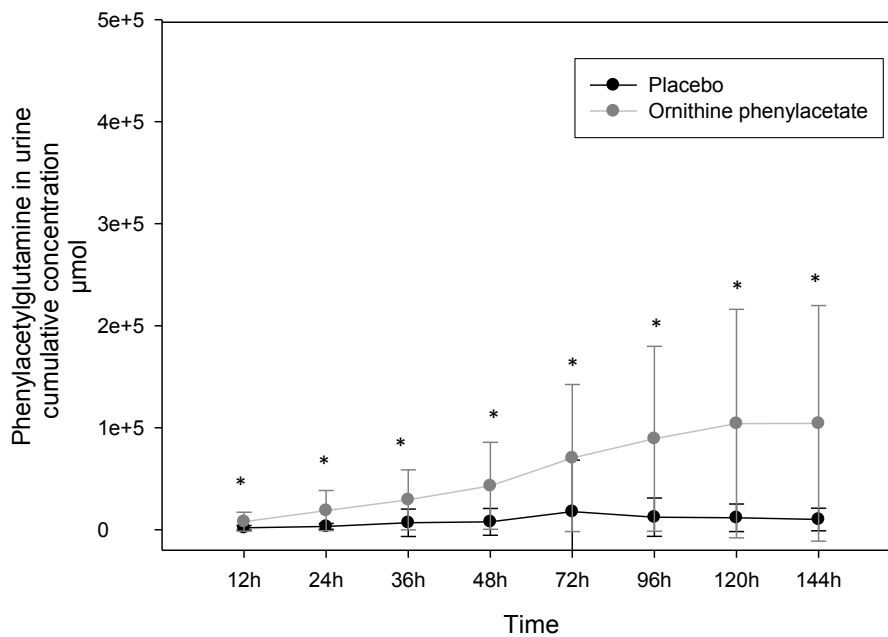


Figura 6 | Concentracions acumulades de PAG en orina de l'estudi 2. *p<0.05

Tot i que el treball presentat recull dades clíniques pel que fa referència a la incidència d'EH, aquest no n'era l'objectiu principal donat el baix nombre de pacients inclosos en els dos estudis. La incidència en el moment de l'inclusió i el nombre d'episodis d'EH descrits durant l'assaig no van diferir entre els dos grups. Tampoc s'han trobat diferències en la incidència d'infeccions bacterianes.

L'EH és doncs una patologia rellevant que pot aparèixer en diferents fases de la malaltia hepàtica, però que en qualsevol de les seves expressions condiona un pitjor pronòstic vital i un augment significatiu de la morbiditat. Tot i així, no disposem de fàrmacs eficaços pel tractament de la fase aguda d'aquesta patologia. L'OP s'ha proposat com a fàrmac eliminador d'amoni i ha demostrat la seva eficàcia en estudis preclínics. El present treball utilitza per primera vegada aquest fàrmac en pacients cirròtics descompensats i demostra que és un fàrmac segur i ben tolerat. El mecanisme d'acció del fàrmac queda confirmat per la disminució de la glutamina plasmàtica i la seva posterior aparició en orina en forma de PAGN. Respecta a la seva eficàcia davant de placebo en disminuir l'amonièmia, sembla que tot i no assolir l'objectiu principal, (disminució de 25 μ mol/L durant les primeres 24hores), sí que aconsegueix baixar-la de forma constant (aconseguint una disminució de 21.5 μ mol/L durant les primeres 24 hores). El subgrup de pacients amb Child Pugh C presenten un descens estadísticament significatiu de l'amonièmia i el fet que només aquest grup sembli beneficiar-se del fàrmac s'ha atribuït als baixos nivells de PA obtinguts al llarg de tot l'estudi, postulant que dosis de 20g/dia (el doble de l'administrada en l'estudi 1 i 2) podrien aconseguir nivells òptims de PA plasmàtic en la resta de grups, que es traduirien en baixades d'amoni plasmàtic més pronunciades.

V. Conclusions

- 1.-L'ornitina fenilacetat és un fàrmac segur i ben tolerat en pacients cirròtics descompensats per una hemorràgia digestiva alta a dosis de 10mg/dia.
- 2.-El mecanisme d'acció del fàrmac queda demostrat a través del descens plasmàtic de glutamina i la seva posterior aparició en orina en forma de fenilacetilglutamina.
- 3.-L'administració d'ornitina fenilacetat en el nostre grup de pacients condiciona un descens en l'amoni plasmàtic del 20.4 $\mu\text{mol/L}$ a les 24hores respecte al basal.
- 4.-Cal revisar les dosis administrades d'ornitina fenilacetat i ajustar-les tenint en compte la funció hepàtica, així com ampliar el nombre de pacients a estudi per tal de poder observar descensos significatius d'amoni.
- 5.-L'ornitina fenilacetat es un prometedor candidat per tractar la hiperamonièmia dels pacients cirròtics i en conseqüència l'encefalopatia hepàtica.

VI. Bibliografia

1. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology*. 2002; **35**(3): 716-21.
2. Cordoba J, Ventura-Cots M, Simon-Talero M, Amoros A, Pavesi M, Vilstrup H, et al. Characteristics, risk factors and mortality of cirrhotic patients hospitalized for hepatic encephalopathy with and without acute-on-chronic liver failure (ACLF). *J Hepatol*. 2013; **12**(13): 00692-2.
3. Bustamante J, Rimola A, Ventura PJ, Navasa M, Cirera I, Reggiardo V, et al. Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 1999; **30**(5): 890-5.
4. Escorsell A, Mas A, de la Mata M. Acute liver failure in Spain: analysis of 267 cases. *Liver Transpl*. 2007; **13**(10): 1389-95.
5. Cordoba J, Minguez B. Hepatic encephalopathy. *Semin Liver Dis*. 2008; **28**(1): 70-80.
6. Morgan MY, Amodio P, Cook NA, Jackson CD, Kircheis G, Lauridsen MM, et al. Qualifying and quantifying minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2015; **28**: 28.
7. Lauridsen MM, Jepsen P, Vilstrup H. Critical flicker frequency and continuous reaction times for the diagnosis of minimal hepatic encephalopathy: a comparative study of 154 patients with liver disease. *Metab Brain Dis*. 2011; **26**(2): 135-9.
8. Coon. The hepatic encephalopathies. *Hepatic encephalopathy. Syndromes and therapies*. . Bloomington, IL; 1994.
9. Ortiz M, Cordoba J, Doval E, Jacas C, Pujadas F, Esteban R, et al. Development of a clinical hepatic encephalopathy staging scale. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007; **26**(6): 859-67.
10. Hassanein TI, Hilsabeck RC, Perry W. Introduction to the Hepatic Encephalopathy Scoring Algorithm (HESA). *Dig Dis Sci*. 2008; **53**(2): 529-38.
11. Rockey DC, Vierling JM, Mantry P, Ghabril M, Brown RS, Jr., Alexeeva O, et al. Randomized, double-blind, controlled study of glycerol phenylbutyrate in hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 2013; **11**(10): 26611.
12. Als-Nielsen B, Gluud LL, Gluud C. Non-absorbable disaccharides for hepatic encephalopathy: systematic review of randomised trials. *Bmj*. 2004; **328**(7447): 30.
13. Bass NM, Mullen KD, Sanyal A, Poordad F, Neff G, Leevy CB, et al. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N Engl J Med*. 2010; **362**(12): 1071-81.
14. Sharma P, Sharma BC, Agrawal A, Sarin SK. Primary prophylaxis of overt hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: an open labeled randomized controlled trial of lactulose versus no lactulose. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012; **27**(8): 1329-35.
15. Sharma BC, Sharma P, Agrawal A, Sarin SK. Secondary prophylaxis of hepatic encephalopathy: an open-label randomized controlled trial of lactulose versus placebo. *Gastroenterology*. 2009; **137**(3): 885-91.
16. Cordoba J, Lopez-Hellin J, Planas M, Sabin P, Sanpedro F, Castro F, et al. Normal protein diet for episodic hepatic encephalopathy: results of a randomized study. *J Hepatol*. 2004; **41**(1): 38-43.
17. Cordoba J. New assessment of hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2011; **54**(5): 1030-40.
18. Olde Damink SW, Dejong CH, Jalan R. Review article: hyperammonaemic and catabolic consequences of upper gastrointestinal bleeding in cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009; **29**(8): 801-10.

19. Shawcross DL, Olde Damink SW, Butterworth RF, Jalan R. Ammonia and hepatic encephalopathy: the more things change, the more they remain the same. *Metab Brain Dis.* 2005; **20**(3): 169-79.
20. Shawcross DL, Wright GA, Stadlbauer V, Hodges SJ, Davies NA, Wheeler-Jones C, et al. Ammonia impairs neutrophil phagocytic function in liver disease. *Hepatology.* 2008; **48**(4): 1202-12.
21. Blei AT, Cordoba J. Hepatic Encephalopathy. *Am J Gastroenterol.* 2001; **96**(7): 1968-76.
22. Enns GM, Berry SA, Berry GT, Rhead WJ, Brusilow SW, Hamosh A. Survival after treatment with phenylacetate and benzoate for urea-cycle disorders. *N Engl J Med.* 2007; **356**(22): 2282-92.
23. McGuire BM, Zupanets IA, Lowe ME, Xiao X, Sypliyiv VA, Monteleone J, et al. Pharmacology and safety of glycerol phenylbutyrate in healthy adults and adults with cirrhosis. *Hepatology.* 2010; **51**(6): 2077-85.
24. Gluud LL, Dam G, Les I, Cordoba J, Marchesini G, Borre M, et al. Branched-chain amino acids for people with hepatic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; **25**(2).
25. Davies NA, Wright G, Ytrebo LM, Stadlbauer V, Fuskevag OM, Zwingmann C, et al. L-ornithine and phenylacetate synergistically produce sustained reduction in ammonia and brain water in cirrhotic rats. *Hepatology.* 2009; **50**(1): 155-64.
26. Ytrebo LM, Kristiansen RG, Maehre H, Fuskevag OM, Kalstad T, Revhaug A, et al. L-ornithine phenylacetate attenuates increased arterial and extracellular brain ammonia and prevents intracranial hypertension in pigs with acute liver failure. *Hepatology.* 2009; **50**(1): 165-74.
27. Oria M, Romero-Gimenez J, Arranz JA, Riudor E, Ragner N, Cordoba J. Ornithine phenylacetate prevents disturbances of motor-evoked potentials induced by intestinal blood in rats with portacaval anastomosis. *J Hepatol.* 2012; **56**(1): 109-14.
28. Balasubramanian V, Wright G, Sharma V, Davies NA, Sharifi Y, Habtesion A, et al. Ammonia reduction with ornithine phenylacetate restores brain eNOS activity via the DDAH-ADMA pathway in bile duct-ligated cirrhotic rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012; **302**(1): 8.
29. Jover-Cobos M, Noiret L, Sharifi Y, Jalan R. Ornithine phenylacetate revisited. *Metab Brain Dis.* 2013; **28**(2): 327-31.
30. Hassanein T KJ, Casto J, Fischer L, Anderson K. Phase I-IIa study with ornithine phenylacetate; optimized dosing regime with an ammonia scavenger for treatment of hepatic encephalopathy. *Journal of Hepatology* 2012; **56**(S2): 240-1.
31. Thibault A, Cooper MR, Figg WD, Venzon DJ, Sartor AO, Tompkins AC, et al. A phase I and pharmacokinetic study of intravenous phenylacetate in patients with cancer. *Cancer Res.* 1994; **54**(7): 1690-4.
32. Piscitelli SC, Thibault A, Figg WD, Tompkins A, Headlee D, Lieberman R, et al. Disposition of phenylbutyrate and its metabolites, phenylacetate and phenylacetylglutamine. *J Clin Pharmacol.* 1995; **35**(4): 368-73.
33. Bajaj JS. Review article: the modern management of hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010; **31**(5): 537-47.
34. Simon-Talero M, Garcia-Martinez R, Torrens M, Augustin S, Gomez S, Pereira G, et al. Effects of intravenous albumin in patients with cirrhosis and episodic hepatic encephalopathy: A randomized double-blind study. *J Hepatol.* 2013; **19**(13): 020.
35. Narayan SB, Ditewig-Meyers G, Graham KS, Scott R, Bennett MJ. Measurement of plasma amino acids by Ultraperformance(R) Liquid Chromatography. *Clin Chem Lab Med.* 2011; **49**(7): 1177-85.
36. Laryea MD, Herebian D, Meissner T, Mayatepek E. Simultaneous LC-MS/MS determination of phenylbutyrate, phenylacetate benzoate and their corresponding metabolites phenylacetylglutamine and hippurate in blood and urine. *J Inher Metab Dis.* 2010; **33**(3): 010-9172.

37. Olde Damink SW, Jalan R, Deutz NE, Redhead DN, Dejong CH, Hynd P, et al. The kidney plays a major role in the hyperammonemia seen after simulated or actual GI bleeding in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2003; **37**(6): 1277-85.
38. Olde Damink SW, Dejong CH, Deutz NE, van Berlo CL, Soeters PB. Upper gastrointestinal bleeding: an ammoniagenic and catabolic event due to the total absence of isoleucine in the haemoglobin molecule. *Med Hypotheses*. 1999; **52**(6): 515-9.
39. Dejong CH, Meijerink WJ, van Berlo CL, Deutz NE, Soeters PB. Decreased plasma isoleucine concentrations after upper gastrointestinal haemorrhage in humans. *Gut*. 1996; **39**(1): 13-7.
40. Olde Damink SW, Dejong CH, Deutz NE, Soeters PB. Decreased plasma and tissue isoleucine levels after simulated gastrointestinal bleeding by blood gavages in chronic portacaval shunted rats. *Gut*. 1997; **40**(3): 418-24.
41. AASLD. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 practice guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases. *J Hepatol*. 2014; **61**(3): 642-59.
42. ammonul[®] (NDA-20645) Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review C, FDA.; 2005.
43. Ravicti package insert. Hyperion therapeutics; 2014.
44. Ghabril M, Zupanets IA, Vierling J, Mantry P, Rockey D, Wolf D, et al. Glycerol phenylbutyrate in patients with cirrhosis and episodic hepatic encephalopathy: a pilot study of safety and effect on venous ammonia concentration. *Clinical Pharmacology in Drug Development*. 2013; **2**(3): 278-84.
45. Oral Presentations. *Hepatology*. 2015; **62**(1): 28160.
46. Kristiansen RG, Rose CF, Fuskevåg OM, Maehre H, Revhaug A, Jalan R, et al. L-Ornithine phenylacetate reduces ammonia in pigs with acute liver failure through phenylacetyl-glycine formation: a novel ammonia-lowering pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014; **307**(10): 25.

VII. Annex

Editorial: Drug-induced removal of nitrogen derivatives in urine: a new concept whose time has come.

Hepatology 2014 March; 59, (3): 764-6

Drug-Induced Removal of Nitrogen Derivatives in Urine: A New Concept Whose Time Has Come

See Article on Page 1073

Hepatic encephalopathy (HE) corresponds to a confusional syndrome that can progress to coma and is caused by liver failure and/or portal-systemic shunting.¹ HE is frequent among hospitalized patients with cirrhosis; their admission into the hospital causes an important burden of care and carries important economic costs.² In spite of major progress in the treatment of complications of cirrhosis, therapy of HE episodes has remained unchanged for many years. Most recommendations have been focused on the general management of patients, with the correction of precipitating factors being the basis of treatment.³ Therapies for HE are mostly based on empirical observations without a good pathophysiological understanding.⁴ Recent theories have been focused on the accumulation of water in the astrocyte (the cell that supports neuronal function) and the effects of activated neuroinflammation.⁵ However, they have not led to new therapeutic developments.

For centuries, ammonia has been considered an important factor in the pathogenesis of HE.⁶ Ammonia precipitates a cascade of disturbances in multiple neurotransmitter systems⁷ and may lead to neurodegeneration.⁸ However, the role of ammonia is controversial. Though several precipitating factors increase plasma ammonia (e.g., constipation, gastrointestinal bleeding, infection, and so on), there is no good association between plasma levels and outcome. This may be explained by the coexistence of other factors that enhance ammonia injury (nitrosative stress, cytokines, Toll-like receptor polymorphisms, hyponatremia, dehy-

dration, and so on). In addition, blood ammonia may not be an adequate biomarker of ammonia exposure to the brain, which may depend more on time of exposure than on peak values. Nevertheless, an ultimate element to judge the role of ammonia would be demonstrating the benefits of drugs that eliminate ammonia or related metabolites.

Glycerol phenylbutyrate (GPB) is a new drug for HE that acts by providing an alternate pathway for ammonia removal in the form of urinary phenylacetylglutamine (PAG). This drug was designed for hyperammonemia secondary to urea-cycle disorders, where there is a large experience with phenylbutyrate (PB) and related compounds.⁹ These compounds were reserved for inborn errors of metabolism and did not reach wider use in HE. The current issue of HEPATOLOGY publishes the first study evaluating the effects of GPB in patients with cirrhosis.¹⁰ The strategy consists of stimulating the elimination of waste nitrogen with orally administered GPB. The study shows that GPB improves outcome among patients with cirrhosis with highly recurrent HE. The new drug, which improves the organoleptic properties of its predecessor (sodium PB) and avoids the risk of sodium overload, was well tolerated and had a good safety profile.

The study will become a hallmark because it initiates a new therapeutic approach to HE. As previously demonstrated for lactulose¹¹ and rifaximin (RIF),¹² GPB is effective in the prevention of recurrence in a group of patients with cirrhosis with a relatively preserved liver function. The study reports that GPB prevents recurrence of HE, even in patients that receive lactulose. This is an interesting observation, because GPB has a different mechanism of action, compared to currently used drugs. The efficacy of nonabsorbable disaccharides (lactulose and lactitol) and antibiotics (RIF and neomycin) depends on interaction with gut flora.¹³ Both types of drugs appear to have several effects on the intestinal flora that may enhance the ammonia-lowering effect of GPB. A remarkable effect of GPB is that it can promote pathways for excreting nitrogen metabolites in urine that result in a decreased frequency of HE recurrence. Thus, the combination with gut-focused therapies may have added efficacy, as demonstrated for lactulose, but could not be

Abbreviations: GPB, glycerol phenylbutyrate; HE, hepatic encephalopathy; MELD, Model for End-Stage Liver Disease; PAG, phenylacetylglutamine; PB, phenylbutyrate; RIF, rifaximin.

Address reprint requests to: Juan Córdoba, M.D., Liver Unit, Hospital Vall Hebron, Paseo Vall Hebron 119, Barcelona 08035, Spain. E-mail: jcordoba@vhebron.net; fax: +34 93 2746068.

Copyright © 2014 by the American Association for the Study of Liver Diseases.

View this article online at wileyonlinelibrary.com.

DOI 10.1002/hep.26789

Potential conflict of interest: Dr. Córdoba received grants from Ocea.

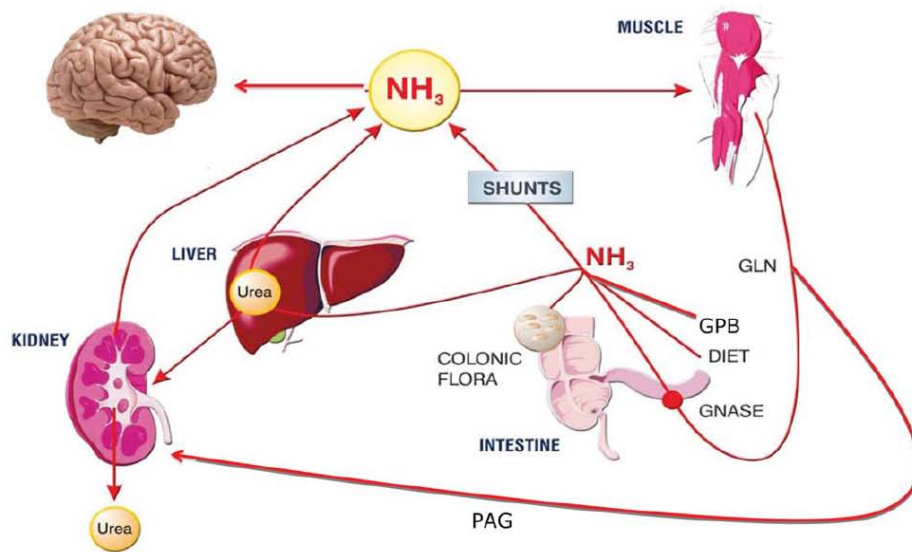


Fig. 1. Abbreviations: NH_3 , ammonia; GLN, glutamine; GPB, glycerol phenylbutyrate; PAG, Phenylacetylglutamine; GLU, glutamate; GNASE, glutamine synthetase.

demonstrated in the limited number of patients that received GPB plus RIF; combined treatment was administered to those with a more severe clinical presentation. Future studies should include patients with cirrhosis over a large range of severity and examine the value of combining several drugs. Ornithine phenylacetate, a new product that also enhances the disposal of nitrogenous molecules in urine, is under clinical development in decompensated cirrhosis and may become an intravenous treatment for episodic HE.¹⁴

The efficacy of currently used drugs for treating the episode of HE has been derived from preventive studies among highly recurrent HE patients.^{10,12} The effect of therapy was investigated in patients with relatively preserved liver function (according to Model for End-Stage Liver Disease [MELD] or Child-Pugh scores); the majority of them showed no precipitating factor. These results suggest that chronic preventive therapy should be reserved to recurrent HE and not generalized to all patients. Once an episode of HE has been resolved, chronic therapy should be tailored to the patient. Lactulose or lactitol is recommended after the first episode, in combination with RIF after the second. Therapy after an episode related to a precipitating factor may not be needed if the precipitating factor is under control. Cirrhosis is not a stable condition; several factors, such as alcoholic liver injury, bacterial infection, liver injury, or dehydration, change over time. Patients with low MELD and dominating shunts can benefit from their occlusion.¹⁵

HE has been usually considered a “multifactorial” disorder without understanding the role of the involved factors. Response to a treatment specifically addressed to remove ammonia in urine as related metabolites (PAG), provides additional value to the ammonia hypothesis.⁶ The results of the study extend the importance of ammonia to the whole metabolic process of nitrogenous metabolites, which are closely interrelated. The renewed interest in ammonia provides justification for the name of the society that deals with HE (International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism). The lesson that we can learn from our pediatric colleagues is that a therapeutic strategy, commonly used in nitrogen disorders, may be beneficial for patients with cirrhosis and HE. The results of the current study are very encouraging and provide a theoretical framework for better understanding the role of ammonia in HE. Next, it would be important to corroborate its preventive efficacy in different groups of patients and confirming the effects in episodic HE.

JUAN CORDOBA, M.D.^{1,2}

MERITXELL VENTURA-COTS, M.D.¹

¹Liver Unit, Hospital Vall Hebron, Paseo Vall Hebron 119, Barcelona 08035 Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona

²CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Madrid Spain

References

1. Cordoba J. New assessment of hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2011;54:1030-1040.
2. Stepanova M, Mishra A, Venkatesan C, Younossi ZM. In-hospital mortality and economic burden associated with hepatic encephalopathy in the United States from 2005 to 2009. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:1034-1041.
3. Strauss E, da Costa ME. The importance of bacterial infections as precipitating factors of chronic hepatic encephalopathy in cirrhosis. *Hepato-gastroenterology* 1998;45:900-904.
4. Rose CF. Ammonia-lowering strategies for the treatment of hepatic encephalopathy. *Clin Pharmacol Ther* 2012;92:321-331.
5. Häussinger D, Schliess F. Pathogenetic mechanisms of hepatic encephalopathy. *Gut* 2008;57:1156-1165.
6. Shawcross DL, Olde Damink SW, Butterworth RF, Jalan R. Ammonia and hepatic encephalopathy: the more things change, the more they remain the same. *Metab Brain Dis* 2005;20:169-179.
7. Butterworth RF. Complications of cirrhosis III. Hepatic encephalopathy. *J Hepatol* 2000;32(1 Suppl):171-180.
8. García-Martínez R, Rovira A, Alonso J, Jacas C, Simón-Talero M, Chavarria L, et al. Hepatic encephalopathy is associated with post-transplant cognitive function and brain volume. *Liver Transpl* 2011;17:38-46.
9. Maestri NE, Brusilow SW, Clisold DB, Bassett S. Long-term treatment of girls with ornithine transcarbamylase deficiency. *N Engl J Med* 1996;335:855-859.
10. Rockey DC, Vierling JM, Mantry P, Ghabril M, Brown RS, Jr., Alexeeva O, et al.; HALT-HE Study Group. Randomized, double-blind, controlled study of glycerol phenylbutyrate in hepatic encephalopathy. *HEPATOLOGY* 2014;59:1073-1083.
11. Sharma BC, Sharma P, Agrawal A, Sarin SK. Secondary prophylaxis of hepatic encephalopathy: an open-label randomized controlled trial of lactulose versus placebo. *Gastroenterology* 2009;137:885-889.
12. Bass NM, Mullen KD, Sanyal A, Poordad F, Neff G, Leevy CB, et al. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N Engl J Med* 2010;362:1071-1081.
13. Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Dai ta K, White MB, et al. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012;303:G675-G678.
14. Ventura-Cots M, Arranz JA, Simón-Talero M, Torrens M, Blanco A, Riudor E, et al. Safety of ornithine phenylacetate in cirrhotic decompensated patients: an open-label, dose-escalating, single-cohort study. *J Clin Gastroenterol* 2013 Jun 6. doi: 10.1097/MCG.0b013e318299c789.
15. Laleman W, Simon-Talero M, Maleux G, Perez M, Ameloot K, Soriano G, Villalba J, et al.; EASL-CLIF-Consortium. Embolization of large spontaneous portosystemic shunts for refractory hepatic encephalopathy: a multicenter survey on safety and efficacy. *HEPATOLOGY* 2013;57:2448-2457.