República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019020506-3 A2

(22) Data do Depósito: 29/03/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 04/08/2020

(54) Título: MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE HIPOFOSFATASIA (HPP) EM ADULTOS E ADOLESCENTES

(51) Int. Cl.: A61K 38/46; A61P 19/08; C12Q 1/42; G01N 33/50.

(30) Prioridade Unionista: 05/05/2017 US 62/502,255; 16/03/2018 US 62/643,953; 31/03/2017 US 62/480,213.

(71) Depositante(es): ALEXION PHARMACEUTICALS, INC..

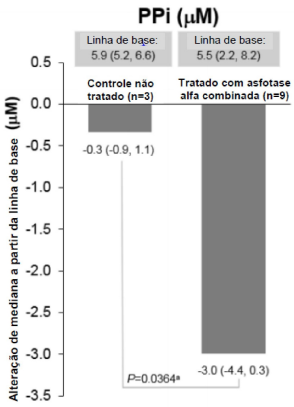
(72) Inventor(es): SCOTT EDWARD MOSELEY; ANDREW E. DENKER; WEI-JIAN PAN.

(86) Pedido PCT: PCT US2018025206 de 29/03/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/183720 de 04/10/2018

(85) Data da Fase Nacional: 30/09/2019

(57) Resumo: A divulgação apresenta métodos para o tratamento de hipofosfatasia (HPP) em um paciente (por exemplo, um adulto com HPP, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP) apresentando concentrações inferiores de pirofosfato (PPi) ou de piridoxal 5'-fosfato (PLP), por exemplo, em uma amostra de plasma, deficiências físicas ou diminuição da capacidade de andar através da administração de uma fosfatase alcalina solúvel (sALP) ao paciente.



"MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE HIPOFOSFATASIA (HPP) EM ADULTOS E ADOLESCENTES"

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] A divulgação apresenta métodos para tratamento da hipofosfatasia (HPP).

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[0002] A hipofosfatasia (HPP) é uma doença esquelética hereditária rara, com uma incidência de 1 para cada 100.000 nascimentos para as formas mais graves da doença. O distúrbio resulta de mutações de perda de função no gene que codifica a fosfatase alcalina não específica do tecido (TNALP). A HPP exibe uma notável variedade de sintomas e gravidade, desde o raquitismo até a quase completa ausência de mineralização óssea *in utero*.

[0003] A apresentação da HPP varia entre os pacientes e varia entre a idade do paciente. A maioria dos pacientes com HPP apresenta alterações esqueléticas, baixa estatura, dor crônica, membros inferiores doloridos, distúrbio da marcha e perda dentária precoce e atraumática. Por exemplo, sintomas comuns de adultos com HPP podem incluir osteomalácia, ossos pouco mineralizados, níveis elevados de pirofosfato inorgânico (PPi), piridoxal 5'-fosfato (PLP) ou fosfoetanolamina (PEA) na urina e/ou sangue, hipomineralização, hipercalciúria, baixa estatura, deformidade esquelética, caminhada vacilante, dor óssea, fratura óssea, deposição de cristais de pirofosfato de cálcio di-hidratado, artrite e artropatia por pirofosfato. Sintomas comuns de adolescentes com HPP podem incluir níveis elevados de PPi, PEA ou PLP na urina ou no sangue, osteomalácia,

deformidade esquelética, hipotonia, fraqueza muscular, complicações reumatoides, artrite, pseudogota, caminhada vacilante, dificuldades ambulatoriais, dor óssea, perda prematura de dentes, hipomineralização, hipoplasia pulmonar, insuficiência respiratória, convulsões, hipercalciúria, baixa estatura e atraso no crescimento.

[0004] Devido a deficiências físicas associadas à HPP, os pacientes adultos afligidos por HPP frequentemente exibem menor capacidade de andar em relação a indivíduos saudáveis (Weinstein RS, Whyte MP, *Arch Intern Med*. 1981; 141 (6): 727-731). Pacientes adultos com HPP podem sofrer de Doença de Deposição de Pirofosfato de Cálcio (CPPD), pseudogota, condrocalcinose, periartrite calcária, fraturas por esmagamento vertebral, fraturas subtrocantéricas, fraturas metatarsais e/ou pseudofraturas (Coe JD, et al., *J Bone Joint Surg Am*. 1986;68(7):981-990; Sutton, RAL, et al., *J Bone Miner Res*. 2012; 27(5): 987-994). Outros sintomas, como raquitismo, costelas raquíticas, hipomineralização grave, déficit de desenvolvimento, atraso no desenvolvimento motor, ganho de peso inadequado, hipoplasia pulmonar, insuficiência respiratória, insuficiência respiratória, craniossinostose (incluindo complicações da craniossinostose) e convulsões ocorrem em crianças pequenas ou em bebês com HPP, mas não em adultos com HPP.

[0005] Notavelmente, a eficácia e a segurança do tratamento da HPP, particularmente os danos fisiológicos e físicos específicos e a diminuição da capacidade de andar associada a formas adultas e adolescentes de HPP com um tratamento terapêutico por um longo período de tempo, são

desconhecidas. Assim, existe a necessidade de métodos que possam ser usados para tratar e monitorar a HPP em pacientes adultos e adolescentes, por longos períodos, para que esses pacientes possam viver com deficiências físicas e fisiológicas diminuídas e possam recuperar níveis adequados de capacidade de locomoção.

SUMÁRIO

[0006] São divulgados (1) métodos para identificar adultos com HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, como adultos com HPP com início pediátrico) e/ou adolescentes com HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 idade até aos 17 anos de idade) para tratamento com uma fosfatase alcalina solúvel (sALP; por exemplo, SEQ ID NO: 1) e (2) tratamento de tais doentes com uma sALP. Os sintomas da HPP em adultos, como definidos neste relatório descritivo, incluem, por exemplo, níveis sanguíneos e/ou urinários elevados de fosfoetanolamina (PEA), hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, locomoção vacilante, dor óssea, fratura óssea, deposição de cristal di-hidrato de pirofosfato de cálcio, artrite, artropatia por pirofosfato, condrocalcinose, periartrite calcificada e pseudofratura. Os sintomas da HPP em adolescentes, tal como definidos neste relatório descritivo incluem, por exemplo, níveis sanguíneos ou urinários elevados de PPi, PEA ou PLP, osteomalácia, uma ou mais deformidades esqueléticas, hipotonia, fraqueza muscular, complicações reumatoides, artrite, pseudogota, locomoção vacilante, dificuldades ambulatórias, dor óssea, dor, perda prematura dos dentes, hipomineralização,

hipoplasia pulmonar, insuficiência respiratória, convulsões, hipercalciúria, baixa estatura e atraso no crescimento.

[0007] Métricas exemplares úteis para avaliar a necessidade ou a eficácia do tratamento usando uma sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) incluem (1) concentrações plasmáticas de PPi e PLP, (2) Teste de Caminhada de Seis Minutos (6MWT), (3) Teste de Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora 2ª Edição (BOT-2), (4) Dinamometria de Mão (HHD), (5) Escala de Função de Extremidade Inferior (Lower Extremity Function Scale, LEFS) e (6) Inventário Resumido da Dor - Forma Curta (*Brief Pain Inventory-Short Form*, BPI -SF). Testes e métricas adicionais podem incluir o software de análise de mobilidade orientada por desempenho da Tinetti (POMA; opcionalmente modificado) e o software e hardware de análise temporal e espacial da marcha, como o GAITRITE® (Clinical Image Retrieval System Inc.). Os métodos incluem ainda o uso de uma ou mais das métricas descritas (por exemplo, o BOT-2, TC6, concentrações plasmáticas de PPi e PLP, HHD, LEFS ou BPI-SF) isoladamente ou em combinação para avaliar a eficácia do tratamento usando uma sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) para um paciente com HPP no qual melhorias relativas a uma determinada pontuação ou valor demonstram que a sALP é eficaz para o tratamento de HPP. Além disso, o nível de atividade da ALP em uma amostra (por exemplo, uma amostra plasmática) do paciente com HPP também pode ser usado isoladamente ou em combinação com uma ou cada uma dessas métricas para avaliar a eficácia do tratamento da sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) para o paciente. Adicionalmente, os métodos incluem ainda a alteração da dosagem e/ou frequência da administração de

sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) para determinar a quantidade efetiva de sALP para administração a um adulto com HPP (por exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP.

[0008] Um primeiro aspecto apresenta um método de tratamento da HPP em um paciente com HPP de início pediátrico com aproximadamente 18 anos de idade ou mais (por exemplo, um ser humano) caracterizado como tendo sintomas da HPP em adultos, que inclui a administração de uma sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) ao paciente em um regime de tratamento que fornece cerca de 1 mg/kg/semana para cerca de 9 mg/kg/semana, preferencialmente 6 mg/kg/semana da sALP para um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos ou o tempo de vida do paciente; particularmente, pelo menos, seis semanas). Preferencialmente, o paciente adulto é não exposto (isto é, não exposto ao tratamento) em relação ao tratamento com a sALP. Particularmente, a sALP inclui uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de aminoácidos da

SEQ ID NO: 1 (por exemplo, asfotase alfa). A administração da sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) resulta em um ou mais dos seguintes: (i) uma diminuição estatisticamente significativa na concentração de PPi em uma amostra plasmática do paciente de pelo menos cerca de 1 μM em relação à concentração de PPi em uma amostra plasmática de um indivíduo portador de HPP de início pediátrico não tratado com cerca de 18 anos de idade ou mais; (ii) uma diminuição estatisticamente significativa na concentração de PLP em uma amostra plasmática do paciente de pelo menos cerca de 100 ng/ml em relação à concentração de PLP em uma amostra plasmática de um indivíduo portador de HPP de início pediátrico não tratado com cerca de 18 anos de idade ou mais; e (iii) um aumento estatisticamente significativo de pelo menos 50 metros em distância na caminhada do paciente, avaliado por um 6MWT, em relação à distância percorrida em 6 minutos do paciente sem administração. Além disso, pode haver um aumento na atividade de ALP em uma amostra (por exemplo, uma amostra plasmática) após a administração da sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1).

[0009] Como resultado dos métodos, a diminuição na concentração de PPi na amostra plasmática do paciente (por exemplo, um paciente de HPP de início na infância não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais), a diminuição na concentração de PLP na amostra plasmática do paciente e/ou o aumento na distância de caminhada do paciente são sustentados durante o período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos

seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos ou pelo menos dez anos ou a vida do paciente, particularmente pelo menos seis semanas).

[0010] Antes da administração da sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1), o paciente (por exemplo, paciente de HPP de início na infância não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais) pode ser caracterizado como tendo um concentração de PPi de até cerca de 6 μM (por exemplo, cerca de 3,5 μM plasmática cerca de 4 μM, cerca de 4,5 μM, cerca de 5 μM ou cerca de 5,5 μM ou uma concentração plasmática de PPi dentro da faixa de cerca de 3,5 μM a cerca de 6 μM), uma concentração plasmática de PLP de até 1300 ng/ml (por exemplo, uma concentração plasmática de PLP de cerca de 200 ng/ml 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml, 900 ng/ml, 1000 ng/ml, 1100 ng/ml, 1200 ng/ml ou 1300 ng/ml ou uma concentração plasmática de PLP na faixa de cerca de cerca de 200 ng/ml a aproximadamente 1300 ng/ml) e/ou uma distância em seis minutos de cerca de 350 metros ou menos (por exemplo, uma distância a pé em seis minutos de cerca de 50 metros, 75 metros, 100 metros, 125 metros, 150 metros, 175 metros, 200 metros, 225 metros, 250 metros, 275 metros ou 350 metros ou uma curta distância a pé em seis minutos

dentro da faixa de cerca de 50 metros a cerca de 350 metros). Após a administração da sALP durante um período de tratamento, a diminuição da concentração de PPi na amostra plasmática do paciente pode ser de pelo menos cerca de 2 μM (por exemplo, o paciente apresenta uma concentração plasmática de PPi na faixa de cerca de 2 μM a cerca de 5 μM após a administração da sALP), a diminuição na concentração de PLP na amostra do paciente é de pelo menos cerca de 200 ng/ml (por exemplo, o paciente exibe uma concentração plasmática de PLP na faixa de cerca de 2 ng/ml a cerca de 150 ng/ml após a administração do sALP) e/ou o aumento da distância percorrida em seis minutos de pelo menos 100 metros ou mais (por exemplo, o paciente exibe uma distância de caminhada em seis minutos de cerca de 420 metros ou mais após a administração da sALP). O paciente também pode exibir dependência diminuída de um dispositivo de mobilidade assistencial (por exemplo, andador, cadeira de rodas, aparelho ortopédico, muletas) e/ou uma diminuição na incidência de fraturas (por exemplo, fratura por esmagamento vertebral, fratura subtrocantérica ou fratura metatarsal) após a administração da sALP (SEQ ID NO: 1). Os pacientes também podem ser excluídos do tratamento com uma sALP para, por exemplo, níveis séricos de cálcio abaixo da faixa de um indivíduo saudável (por exemplo, cerca de 8,5 a cerca de 10,2 mg/dl), níveis séricos de fosfato abaixo da faixa de um indivíduo saudável (por exemplo, cerca de 2,5 a cerca de 4,5 mg/dl), níveis séricos de vitamina D abaixo da faixa de um indivíduo saudável (por exemplo, cerca de 20 ng/ml), creatinina sérica acima da faixa de um indivíduo saudável

(por exemplo, cerca de 0,6 mg/dl a 1,2 mg/dl) e/ou níveis de hormônios da paratireoide acima da faixa de um indivíduo saudável (por exemplo, cerca de 10 a cerca de 65 pg/ml).

[0011] Um primeiro aspecto apresenta um método de tratamento da HPP em um paciente com HPP de início pediátrico com aproximadamente 13 anos de idade ou mais (por exemplo, um ser humano) que inclui a administração de uma sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) ao paciente em um regime de tratamento que fornece cerca de 1 mg/kg/semana a cerca de 9 mg/kg/semana, preferencialmente 6 mg/kg/semana da sALP para um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos ou o tempo de vida do paciente; particularmente, pelo menos, seis semanas). O paciente pode ser não exposto em relação ao tratamento com a sALP. Particularmente, a sALP inclui uma sequência de aminoácidos possuindo pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 (por exemplo, asfotase alfa). A administração da sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) resulta em um ou mais dos seguintes: (i) uma mudança no percentual (%) da pontuação

de HHD prevista do paciente em cerca de 5% ou mais (por exemplo, cerca de 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% ou 20% ou mais) em relação ao percentual da pontuação de HHD prevista do paciente antes do tratamento com a sALP; (ii) uma alteração na pontuação da LEFS do paciente de cerca de 3 ou mais (por exemplo, cerca de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 ou mais) em relação à pontuação da LEFS do paciente antes de tratamento com a sALP; e (iii) uma alteração na pontuação do BPI-SF do paciente de cerca de -2 ou mais (por exemplo, cerca de -2, cerca de -3, cerca de -4, cerca de -5, cerca de -6 ou cerca de -7 ou mais) em relação à pontuação do BPI-SF do paciente antes do tratamento com a sALP.

[0012] No primeiro ou segundo aspecto, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser administrada uma ou mais vezes por dia, semana, mês ou ano (por exemplo, duas vezes por semana, três vezes por semana, quatro vezes por semana, cinco vezes por semana, seis vezes por semana ou sete vezes por semana). Particularmente, a sALP pode ser administrada em doses múltiplas dois dias por semana, três dias por semana, quatro dias por semana, cinco dias por semana, seis dias por semana ou sete dias por semana. Por exemplo, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) é administrada em uma dosagem inicial de cerca de 2,1 mg/kg/semana a cerca de 3,5 mg/kg/semana (por exemplo, uma dosagem inicial de cerca de 0,3 mg/kg/dia a cerca de 0,5 mg/kg/dia de sALP) e subsequentemente é aumentada para uma dosagem de cerca de 6 mg/kg/semana ou mais (por exemplo, 9 mg/kg/semana). Particularmente, a dose inicial pode ser aumentada após um

período de tratamento de pelo menos seis meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos ou pelo menos quatro anos ou mais (por exemplo, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, pelo menos dez anos, ou mais de dez anos, como para a vida do paciente). Além disso, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser administrada em uma dosagem de cerca de 1,3 mg/kg/semana, cerca de 2,7 mg/kg/semana ou cerca de 6 mg/kg/semana ou mais (por exemplo, cerca de 9 mg/kg/semana), tal como a sALP é administrada em uma dose de cerca de 2 mg/kg três vezes por semana, cerca de 3 mg/kg duas vezes por semana, cerca de 3 mg/kg três vezes por semana 1 mg/kg seis vezes por semana. Adicionalmente, a sALP pode ser administrada uma vez por dia em dias consecutivos ou alternados. Além disso, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser administrada em uma quantidade que é terapeuticamente eficaz para tratar pelo menos um sintoma de HPP em adultos (por exemplo, um ou mais níveis elevados de fosfoetanolamina (PEA) no sangue e/ou na urina, hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, locomoção vacilante, dor óssea, fratura óssea (por exemplo, fratura vertebral por esmagamento, fratura subtrocantérica ou fratura metatarsal), deposição de cristal pirofosfato di-hidratado, artrite, artropatia por pirofosfato, condrocalcinose, periartrite calcificada e pseudofratura.

[0013] No primeiro ou segundo aspecto, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) é administrada em uma composição incluindo pelo menos um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável, tal como solução salina ou

cloreto de sódio e fosfato de sódio. Por exemplo, pelo menos um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável inclui 150 mM de cloreto de sódio e 25 mM de fosfato de sódio. Além disso, a composição farmacêutica pode ser administrada por via subcutânea, intramuscular, intravenosa, oral, nasal, sublingual, intratecal ou intradérmica. Particularmente, a composição farmacêutica é administrada subcutaneamente.

[0014] Um terceiro aspecto apresenta uma sALP incluindo uma sequência de aminoácidos com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (por exemplo, asfotase alfa) para o tratamento de hipofosfatasia (HPP) em um paciente com HPP de início pediátrico não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais (por exemplo, um ser humano). Particularmente, a sALP é formulada para administração em um regime de tratamento fornecendo cerca de 1 mg/kg/semana a cerca de 9 mg/kg/semana, preferencialmente 6 mg/kg/semana da sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas, por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos ou

pela vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas). A sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) é caracterizada pela administração da sALP ao paciente resultar em um ou mais dos seguintes: (i) uma diminuição estatisticamente significativa na concentração de PPi em uma amostra plasmática do paciente de pelo menos cerca de 1 µM em relação à concentração de PPi em uma amostra plasmática de um indivíduo portador de HPP de início pediátrico não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais; (ii) uma diminuição estatisticamente significativa na concentração de PLP em uma amostra plasmática do paciente de pelo menos cerca de 100 ng/ml em relação à concentração de PLP em uma amostra plasmática de um indivíduo portador de HPP de início pediátrico não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais; e (iii) um aumento estatisticamente significativo de pelo menos 50 metros em distância na caminhada do paciente, avaliado por um 6MWT, em relação à distância percorrida em 6 minutos do paciente sem administração.

[0015] No terceiro aspecto, a sALP pode ser caracterizada pela diminuição na concentração de PPi na amostra plasmática do paciente (por exemplo, um paciente de HPP de início na infância não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais), a diminuição na concentração de PLP na amostra plasmática do paciente e/ou o aumento na distância de caminhada do paciente são sustentados durante o período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas,

pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos ou pelo menos dez anos ou a vida do paciente, particularmente pelo menos seis semanas).

[0016] No terceiro aspecto, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser caracterizada pelo fato de que, antes da administração da sALP, o paciente (por exemplo, um paciente com HPP de início na infância não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais) apresenta uma concentração plasmática de PPi de cerca de 6 µM, uma concentração plasmática de PLP de até 1300 ng/ml e/ou uma distância caminhada por seis minutos de cerca de 350 metros ou menos. Particularmente, a sALP é caracterizada pela diminuição na concentração de PPi na amostra plasmática do paciente ser pelo menos de cerca de 2 µM (por exemplo, o paciente exibe uma concentração plasmática de PPi de cerca de 2 µM a cerca de 5 µM após a administração da sALP), a diminuição na concentração de PLP na amostra do paciente sendo de pelo menos 200 ng/ml (por exemplo, o paciente exibe uma concentração plasmática de PLP de cerca de 2 ng/ml a cerca de 150 ng/ml após a administração da sALP) e/ou a administração da sALP por um período de tratamento de pelo menos um ano resulta em um aumento de pelo menos 100 metros ou mais na distância percorrida em seis minutos (por exemplo, o paciente exibe uma distância caminhada em seis minutos de aproximadamente 420 metros ou

mais após a administração da sALP). O paciente também pode exibir dependência diminuída de um dispositivo de mobilidade assistencial (por exemplo, andador, cadeira de rodas, aparelho ortopédico, muletas) e/ou uma diminuição na incidência de fraturas (por exemplo, fratura por esmagamento vertebral, fratura subtrocantérica ou fratura metatarsal) após a administração da sALP (SEQ ID NO: 1).

[0017] No primeiro ou segundo aspecto, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser administrada uma ou mais vezes por dia, semana, mês ou ano (por exemplo, duas vezes por semana, três vezes por semana, quatro vezes por semana, cinco vezes por semana, seis vezes por semana ou sete vezes por semana). Particularmente, a sALP é formulada para administração em doses múltiplas dois dias por semana, três dias por semana, quatro dias por semana, cinco dias por semana, seis dias por semana ou sete dias por semana. Por exemplo, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) é formulada para administração em uma dosagem inicial de cerca de 2,1 mg/kg/semana a cerca de 3,5 mg/kg/semana (por exemplo, uma dosagem inicial de cerca de 0,3 mg/kg/dia a cerca de 0,5 mg/kg/dia de sALP) e subsequentemente é aumentada para uma dosagem de cerca de 6 mg/kg/semana ou mais (por exemplo, 9 mg/kg/semana). Particularmente, a dose inicial pode ser aumentada após um período de tratamento de pelo menos seis meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos ou pelo menos quatro anos ou mais (por exemplo, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, pelo menos dez anos, ou mais de dez anos, como para a vida do paciente).

Além disso, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser administrada em uma dosagem de cerca de 1,3 mg/kg/semana, cerca de 2,7 mg/kg/semana ou cerca de 6 mg/kg/semana ou mais (por exemplo, cerca de 9 mg/kg/semana), tal como a sALP é formulada para administração em uma dose de cerca de 2 mg/kg três vezes por semana, cerca de 3 mg/kg duas vezes por semana, cerca de 3 mg/kg três vezes por semana 1 mg/kg seis vezes por semana. Adicionalmente, a sALP pode ser formulada para administração uma vez por dia em dias consecutivos ou alternados. Além disso, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser formulada para administração em uma quantidade que é terapeuticamente eficaz para tratar pelo menos um sintoma da HPP em adultos (por exemplo, um ou mais níveis elevados de fosfoetanolamina (PEA) no sangue e/ou na urina, hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, locomoção vacilante, dor óssea, fratura óssea (por exemplo, fratura por esmagamento vertebral, fratura subtrocantérica ou fratura metatarsal), deposição de cristais de pirofosfato de cálcio di-hidratado, artrite, artropatia por pirofosfato, condrocalcinose, periartrite calcificada e pseudofratura.

[0018] No terceiro aspecto, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) pode ser formulada para administração em uma composição incluindo pelo menos um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável, tal como solução salina ou cloreto de sódio e fosfato de sódio. Por exemplo, pelo menos um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável inclui 150 mM de cloreto de sódio e 25 mM de fosfato de sódio. Além disso, a composição farmacêutica pode ser formulada para administração

subcutânea, intramuscular, intravenosa, oral, nasal, sublingual, intratecal ou intradérmica. Particularmente, a composição farmacêutica é formulada para administração subcutânea.

[0019] Em qualquer um dos aspectos acima, o paciente (por exemplo, um paciente com HPP de início na infância não exposto com aproximadamente 18 anos de idade ou mais) pode ser aquele que não foi diagnosticado com base na presença de sintomas de HPP perinatal ou infantil, como raquitismo, costelas raquíticas, hipomineralização grave, déficit de desenvolvimento, atraso no desenvolvimento motor, ganho de peso inadequado, hipoplasia pulmonar, insuficiência respiratória, insuficiência respiratória, craniossinostose (incluindo complicações da craniossinostose) e convulsões.

[0020] Em qualquer um dos aspectos acima, o paciente é um humano. O paciente (por exemplo, um paciente com HPP de início na infância não exposto, com cerca de 18 anos de idade ou mais) pode não apresentar calcificação ectópica após a administração da sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1). Por exemplo, o paciente não apresenta calcificação ectópica após a administração da sALP por pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos ou pelo menos dez anos ou mais ou durante toda sua vida. Além disso, o paciente (por exemplo, um paciente com HPP com cerca de 13 anos de idade ou mais, como por exemplo um paciente com HPP de início na infância não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais) pode apresentar tolerabilidade à

administração da sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1), tal como falta ou diminuição da incidência de eventos adversos selecionados do grupo que consiste em eritema no local da injeção, diminuição da hemoglobina, pirexia, pneumonia, infecção do trato respiratório superior, otite média, vômitos, constipação, diarreia, perda de dentes, nasofaringite, erupção cutânea, cáries dentárias e irritabilidade.

[0021] Em qualquer um dos aspectos acima, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) inclui ou consiste na sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1. Por exemplo, a sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) é fisiologicamente ativa em relação a PEA, PPi e PLP, cataliticamente competente para melhorar a mineralização do esqueleto no osso e/ou é o domínio extracelular solúvel de uma fosfatase alcalina.

[0022] Em qualquer dos aspectos acima, a administração da sALP pode resultar em uma alteração estatisticamente significativa na média dos quadrados mínimos a partir da linha de base das concentrações de PPi e/ou PLP em uma amostra plasmática do paciente. A administração da sALP pode resultar em uma $AUC_{última}$ de cerca de 2.000 U × L/dia a cerca de 7.000 U × L/dia, em que a $AUC_{última}$ é igual à área sob uma curva de tempo versus concentração de um tempo zero a um tempo da última concentração observada em um intervalo de dosagem A administração da sALP pode resultar em uma AUC_{inf} de cerca de 4.000 U × L/dia a cerca de 10.000 U × L/dia, em que a AUC_{inf} é igual à área sob uma curva de tempo versus concentração desde o tempo zero até ao infinito. A administração da sALP pode resultar em um $t_{1/2}$ de cerca de 3

dias a cerca de 8 dias.

DEFINIÇÕES

[0023] Como usados neste relatório descritivo, "um/a" significa "pelo menos um" ou "um ou mais", salvo indicação em contrário. Além disso, as formas singulares "um/a" e "a/o" incluem referências no plural, a menos que o contexto claramente indique outra forma.

[0024] Como utilizado neste relatório descritivo, "cerca de" refere-se a uma quantidade que é de ± 10% do valor indicado e é de preferência ± 5% do valor indicado, ou mais preferencialmente ± 2% do valor indicado.

[0025] Como utilizado neste relatório descritivo, "pelo menos" refere-se a uma quantidade que é ≤10% do valor indicado e é preferencialmente ≤5% do valor indicado ou mais preferencialmente ≤2% do valor indicado.

[0026] "Asfotase alfa" se refere uma proteína de fusão TNALP humana (hTNALP) formulada para o tratamento de HPP. A asfotase alfa (STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc.) é uma proteína de fusão incluindo uma glicoproteína solúvel de duas cadeias polipeptídicas idênticas, em que cada cadeia polipeptídica inclui os resíduos de aminoácidos 1-726 da SEQ ID NO: 1. A estrutura de cada cadeia polipeptídica inclui o domínio catalítico de hTNALP, o domínio Fc da imunoglobulina humana G_1 e um peptídeo deca-aspartato usado como um domínio de direcionamento ósseo (a estrutura hTNALP-Fc-D_{10}). As duas cadeias polipeptídicas são ligadas covalentemente por duas ligações dissulfeto. A asfotase alfa foi aprovada em todo o mundo sob o nome comercial STRENSIQ®, incluindo nos Estados Unidos, Europa, Japão, Canadá, Israel, Austrália e Coréia.

[0027] Como usado neste relatório descritivo, "média" refere-se a um valor numérico que expressa a média ou mediana de um conjunto de dados. A média de um conjunto de dados é calculada dividindo a soma dos valores no conjunto pelo seu número. A mediana de um conjunto de dados é calculada determinando o valor médio em uma lista de números ímpares ou determinando a média dos dois valores de dados no meio em uma lista de números pares.

[0028] O termo "fração de direcionamento ósseo", como usado neste relatório descritivo, refere-se a uma sequência de aminoácidos entre 1 e 50 resíduos de aminoácidos de comprimento com uma afinidade suficiente para a matriz óssea, de tal forma que a fração de direcionamento ósseo, singularmente, possui uma afinidade de ligação *in vivo* à matriz óssea de cerca de 10^{-6} M a cerca de 10^{-15} M (por exemplo, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M, 10^{-14} M ou 10^{-15} M).

[0029] Os termos "Inventário Resumido da Dor - Forma Curta" e "BPI-SF", como usados alternadamente, referem-se a um método para medir a dor de pacientes, particularmente pacientes portadores de HPP (por exemplo, pacientes com mais de 13 anos de idade). O BPI-SF é uma medida de dor autorreferida descrita em Cleeland & Ryan (*Ann Acad Med Singapura*, 23 (2), 129-138; 1994), incorporada neste relatório descritivo por referência na sua totalidade. O BPI-SF é um questionário concebido para avaliar a gravidade da dor e o impacto da dor nas funções diárias. O BPI-SF é composto por 11 itens que utilizam uma escala de classificação numérica para avaliar a intensidade da dor (4

itens) e a interferência da dor (7 itens) nas 24 horas anteriores à aplicação do questionário. O questionário BPI-SF fornece informações sobre a intensidade da dor e grau em que a dor interfere nas funções diárias do paciente (por exemplo, um paciente com HPP com cerca de 13 anos de idade ou mais) em uma escala numérica de 0 (sem dor) a 10 (dor intensa ou interferência significativa causada pela dor); pontuações mais baixas indicam melhores resultados de qualidade de vida e redução da dor. Por exemplo, as pontuações do BPI-SF dos adolescentes e adultos portadores de HPP são um composto de 11 avaliações de dor.

[0030] Os termos "Teste Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora 2ª Edição" ou "BOT-2", como usados neste relatório descritivo, referem-se à segunda edição de um teste padronizado de desempenho motor bruto e fino para pacientes, por exemplo, adultos com HPP, tal como adultos com HPP de início pediátrico. Consultar Bruininks, RH (2005). *Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, (BOT-2)*. Minneapolis, MN: Pearson Assessment, incorporado neste relatório descritivo por referência na sua totalidade. O BOT-2 é administrado individualmente para avaliar as habilidades motoras grossas e finas de uma série de pacientes. O BOT-2, por exemplo, pode ser usado para avaliar deficiências físicas e restrições de mobilidade em pacientes com HPP (por exemplo, adultos com HPP, como adultos com HPP de início pediátrico). O BOT-2 fornece classificações do BOT-2 compostas nas seguintes áreas: força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e

coordenação dos membros superiores. Por exemplo, uma pontuação total de força no BOT-2 pode ser determinada fazendo um paciente executar abdominais sit-up, abdominais canivete ("*v-ups*"), salto horizontal, agachamento-parede ("*wall sit*") e flexões. A velocidade de corrida e a pontuação total de agilidade podem ser determinadas com um paciente passando por cima de uma trave de equilíbrio ou realizando uma corrida de ir e vir ("*shuttle run*"), um salto lateral bipodal ou um salto lateral unipodal. Tanto as pontuações totais de força no BOT-2 quanto as pontuações totais de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 variam de 0 a 25, nas quais uma pontuação de cerca de 10 a 25 é considerada representativa de indivíduos saudáveis. Pontuações normativas para a força e velocidade de corrida e agilidade são 15 +/- 5. As pontuações de adultos não têm norma (não usam a pontuação escalada) e, portanto, os valores de pontos mais altos representam melhor desempenho. Podem ser usadas pontuações médias ou medianas, com pontuações medianas preferidas para tamanhos de amostra menores ou conjuntos de dados menores.

[0031] O termo "cataliticamente competente", como usado neste relatório descritivo, refere-se a uma sALP que hidrolisa o pirofosfato inorgânico inibidor (PPi) da mineralização óssea para fornecer fosfato inorgânico (Pi), diminuindo assim as concentrações extracelulares de PPi. Assim, a sALP cataliticamente competente melhora a mineralização óssea no osso regulando a concentração de PPi.

[0032] Por "domínio extracelular" entende-se qualquer porção extracelular funcional da proteína nativa, por

exemplo, fosfatase alcalina. Particularmente, o domínio extracelular não possui o peptídeo sinal.

[0033] Por "Fc" entende-se uma região do fragmento cristalizável de uma imunoglobulina, por exemplo, IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-3 ou IgG-4, incluindo os domínios CH2 e CH3 da cadeia pesada de imunoglobulina. Fc também pode incluir qualquer porção da região de articulação que une as regiões Fab e Fc. A Fc pode ser de qualquer mamífero, incluindo humano e pode ser modificada pós-traducionalmente (por exemplo, por glicosilação). Em um exemplo não limitativo, Fc pode ser a região do fragmento cristalizável de IgG-1 humana com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO:20.

[0034] Por "fragmento" entende-se uma porção de um polipeptídeo ou molécula de ácido nucleico que contém, de modo preferencial, pelo menos, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais de todo o comprimento da molécula de ácido nucleico ou polipeptídeo de referência. Um fragmento pode conter, por exemplo, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 400, 500, 600, 700 ou mais resíduos de aminoácidos, até todo o comprimento do polipeptídeo. Os exemplos de fragmentos de sALP têm resíduos de aminoácidos 18-498, 18-499, 18-500, 18-501, 18-502, 18-503, 18-504, 18-505, 18-506, 18-507, 18-508, 18-509, 18-510, 18-511 ou 18-512 de uma ALP (por exemplo, SEQ ID NOs: 2-6) e podem incluir porções C-terminais e/ou N-terminais adicionais.

[0035] Os termos "dinamômetro portátil" e "HHD" (do original em inglês *hand held dynamometry*), como usados alternadamente, referem-se a um método para medir a força muscular e de aderência dos indivíduos, particularmente, indivíduos portadores de HPP com cerca de 13 anos de idade ou mais. Um dinamômetro pode ser usado para avaliar a força de preensão, flexão de joelho, extensão de joelho, flexão de quadril, extensão de quadril e abdução de quadril de um indivíduo com HPP. Por exemplo, a flexão e extensão do joelho e também a flexão, extensão e abdução do quadril de um indivíduo portador de HPP com cerca de 13 anos ou mais podem ser medidas usando, por exemplo, um dinamômetro MICROFET2TM, enquanto a força de preensão do indivíduo pode ser medida usando, por exemplo, um JAMAR® Grip Dynamometer. Particularmente, o administrador mantém o dinamômetro estacionário e o indivíduo exerce uma força máxima contra o dinamômetro. Dados de força de pico são coletados em libras, depois convertidos em Newtons (N). Os valores de torque são calculados usando o comprimento do membro em N-metros. O valor de torque pode então ser comparado ao valor de, por exemplo, um indivíduo normal com aproximadamente a mesma idade, o mesmo gênero e/ou a mesma altura e expresso como um valor percentual para gerar a pontuação de HHD do indivíduo.

[0036] Os termos “hipofosfatasia” ou “HPP”, como usados neste relatório descritivo, referem-se a um distúrbio esquelético hereditário raro causado por, por exemplo, uma ou mais mutações de perda de função no gene ALPL (fosfatase alcalina, fígado/osso/rim), que codifica a fosfatase alcalina tecidual não específica (TNALP). A HPP pode ainda

ser caracterizada como HPP infantil, HPP infantil perinatal (por exemplo, HPP perinatal benigna ou HPP perinatal letal), HPP odontológica, HPP em adolescentes ou HPP em adultos. Por exemplo, “HPP em adultos” descreve um paciente com HPP com 18 anos de idade ou mais. "HPP em adolescentes" descreve um paciente com HPP que tem cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade. O termo “HPP em adultos”, como usado neste relatório descritivo, refere-se a uma condição ou fenótipo caracterizado pela presença de um ou mais dos seguintes sintomas: níveis de pirofosfato inorgânico (PPi) no sangue e/ou urina, fosfoetanolamina (PEA) ou piridoxal 5'-fosfato (PLP), hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, locomoção vacilante, dor óssea, fratura óssea (por exemplo, fratura por esmagamento vertebral, fratura subtrocantérica ou fratura metatársica), deposição de cristais de pirofosfato de cálcio di-hidratado, artrite, artropatia por pirofosfato, condrocalcinose, periartrite calcificada e pseudofratura. O termo “HPP em adolescentes”, como usado neste relatório descritivo, refere-se a uma condição ou fenótipo caracterizado pela presença de um ou mais dos seguintes sintomas: níveis elevados de PPi, PEA ou PLP no sangue ou urina, osteomalacia, uma ou mais deformidades esqueléticas, hipotonia, fraqueza muscular, complicações reumatoides, artrite, pseudogota, locomoção vacilante, dificuldades ambulatoriais, dor óssea, dor, perda prematura dos dentes, hipomineralização, hipoplasia pulmonar, insuficiência respiratória, convulsões, hipercalciúria, baixa estatura e atraso no crescimento.

[0037] Os termos “Escala de Função de Extremidade

Inferior” e “LEFS”, como usados alternadamente, referem-se a um método para medir a incapacidade funcional nas extremidades inferiores de pacientes, particularmente pacientes com HPP (por exemplo, pacientes com mais de 13 anos de idade ou mais). A LEFS é uma medida autorreferida descrita em Binkley *et al.* (*Phys Ther.* 79: 371-83, 1999), incorporado neste relatório descritivo por referência na sua totalidade. As pontuações totais da LEFS variam de 0 a 80, com maiores pontuações indicativas de melhor funcionamento dos membros inferiores. Uma mudança na pontuação da LEFS de cerca de 9 pontos é considerada uma mudança clinicamente significativa. Um fisioterapeuta licenciado pode aplicar a LEFS a pacientes com HPP (por exemplo, pacientes com HPP com aproximadamente 13 anos de idade ou mais) em um formato de entrevista. As pontuações mais altas da LEFS são indicativas de melhor funcionamento dos membros inferiores, incluindo movimentos de transição (por exemplo, sair do banho ou rolar na cama), locomoção (por exemplo, caminhar ou correr em terreno irregular), subir escadas e agachar. A LEFS pode ser usada para avaliar a incapacidade funcional de um ou ambos os membros inferiores de um paciente com HPP, incluindo a capacidade de monitorar o paciente ao longo do tempo e avaliar a eficácia do tratamento com asfotase alfa.

[0038] Por “paciente não exposto” ou “indivíduo exposto” entende-se um paciente ou indivíduo com HPP de início pediátrico que não tenha recebido previamente tratamento com fosfatase alcalina ou com um polipeptídeo com atividade de fosfatase alcalina, como uma sALP (por exemplo, TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1

ou uma variante de polipeptídeo com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa).

[0039] Os termos “hipofosfatasia de início pediátrico” e “HPP de início pediátrico” referem-se à ocorrência de sintomas de HPP antes dos 18 anos de idade em um indivíduo.

[0040] Os termos “polipeptídeo” e “proteína” são usados indistintamente e referem-se a qualquer cadeia de dois ou mais resíduos de aminoácidos naturais ou não naturais, independentemente da modificação pós-translacional (por exemplo, glicosilação ou fosforilação), constituindo todos ou parte de um polipeptídeo ou peptídeo de ocorrência natural ou não natural, como é descrito neste relatório descritivo.

[0041] Por "carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável" entende-se um carreador, diluente ou excipiente, respectivamente, que seja fisiologicamente aceitável para o indivíduo (por exemplo, um humano) enquanto retém as propriedades terapêuticas da composição farmacêutica com a qual é administrado. Um exemplo de carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável é uma solução salina fisiológica. Por exemplo, o carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável pode incluir cloreto de sódio (por exemplo, 150 mM de cloreto de sódio) e fosfato de sódio (por exemplo, 25 mM de fosfato de sódio). Outros carreadores, diluentes ou excipientes fisiologicamente aceitáveis e as suas formulações são conhecidos por aqueles versados na técnica.

[0042] Por "composição farmacêutica" entende-se uma composição contendo um polipeptídeo (por exemplo,

composições incluindo uma sALP, tal como asfotase alfa) como descrito neste relatório descritivo formulado com pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável. A composição farmacêutica pode ser fabricada ou vendida com a aprovação de uma agência reguladora governamental como parte de um regime terapêutico para o tratamento ou prevenção de uma doença ou evento em um paciente. As composições farmacêuticas podem ser formuladas, por exemplo, para administração subcutânea, administração intravenosa (por exemplo, como uma solução estéril isenta de êmbolos particulados e num sistema solvente adequado para utilização intravenosa), para administração oral (por exemplo, um comprimido, cápsula, comprimido oblongo, cápsula gelatinosa, ou xarope), ou qualquer outra formulação descrita neste relatório descritivo, por exemplo, na forma de dosagem unitária.

[0043] O termo "deficiências físicas", como usado neste relatório descritivo, refere-se a uma condição fisiológica, como fraqueza óssea e fraqueza muscular, associada à HPP que pode restringir ou eliminar, por exemplo, capacidade de caminhar, resistência funcional e capacidade de realizar atividades da vida diária (AVD) de um paciente (por exemplo, um adulto com HPP, como um adulto com HPP de início pediátrico). Particularmente, deficiências físicas podem restringir ou eliminar a capacidade do paciente de realizar AVDs, que são atividades rotineiras que indivíduos saudáveis realizam diariamente sem precisar de auxílio, como mobilidade ou transferência funcional (por exemplo, caminhar), tomar uma ducha e tomar banho, vestir-se,

autoalimentação, higiene pessoal e asseio. Como descrito neste relatório descritivo, composições terapêuticas (por exemplo, composições incluindo uma sALP, tal como asfotase alfa) podem ser administradas a um paciente (por exemplo, um adulto portador de HPP, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) para diminuir a gravidade e/ou frequência das deficiências físicas associadas a um fenótipo de HPP e/ou para aumentar a capacidade de andar do paciente (por exemplo, a capacidade de andar determinada a partir da distância percorrida pelo paciente durante seis minutos).

[0044] O termo "fisiologicamente ativa", como usado neste relatório descritivo, refere-se a uma sALP (por exemplo, SEQ ID NO: 1) que hidrolisa fosfoetanolamina (PEA), pirofosfato inorgânico (PPi) e piridoxal 5'-fosfato (PLP) para fornecer Pi, diminuindo assim as concentrações extracelulares de PEA, PPi e PLP.

[0045] Os termos "sALP", "fosfatase alcalina solúvel" e "domínio extracelular de uma fosfatase alcalina" são usados de forma intercambiável e referem-se a uma fosfatase alcalina não ligada à membrana solúvel ou um domínio, fragmento biologicamente ativo ou sua variante biologicamente ativa. As sALPs incluem, por exemplo, uma fosfatase alcalina sem uma âncora de glicolipídeo C-terminal (sequência de sinal GPI, por exemplo, polipeptídeos incluindo ou consistindo nos resíduos de aminoácidos 18-502 de uma TNALP humana (SEQ ID NOs: 2, 3, 4, 5, ou 6)). Particularmente, uma TNALP pode incluir, por exemplo, um polipeptídeo incluindo ou constituído por resíduos de aminoácidos 1-485 de SEQ ID NO: 1, tais como asfotase alfa ou uma variante do polipeptídeo,

tendo pelo menos 95% da sequência de identidade aos resíduos de aminoácido 1-485 da SEQ ID NO: 1. sALPs incluem ainda, por exemplo, ortólogos de mamíferos da TNALP humana, tais como uma TNALP de macaco-rhesus (SEQ ID NO: 7), uma TNALP de rato (SEQ ID NO: 8), uma TNALP canina (SEQ ID NO: 9), uma TNALP suína (SEQ ID NO: 10), uma TNALP de murino (SEQ ID NO: 11), TNALPs bovinas (SEQ ID NOs: 12-14) ou uma TNALP felina (SEQ ID NO: 15). sALPs também incluem formas solúveis, não associadas à membrana de PALP humano (por exemplo, os polipeptídeos incluindo ou constituídos por resíduos de aminoácidos 18-502 da SEQ ID NOs: 16 ou 17), GCALP (por exemplo, os polipeptídeos incluindo ou constituídos por resíduos de aminoácidos 18-502 da SEQ ID NO: 18) e IALP (por exemplo, polipeptídeos incluindo ou constituídos por resíduos de aminoácidos 18-502 da SEQ ID NO: 19) e variantes adicionais e os respectivos análogos que mantêm a atividade da fosfatase alcalina, por exemplo, a capacidade de hidrolisar o PPi. Uma sALP, particularmente, não possui o peptídeo sinal N-terminal (por exemplo, aa 1-17 das SEQ ID NOs: 2-6, 8, 11-13 ou 15 ou aa 1-25 da SEQ ID NO: 7).

[0046] Por "polipeptídeo de sALP" entende-se um polipeptídeo possuindo a estrutura A-sALP-B, em que sALP é como definido neste relatório descritivo e cada um de A e B está ausente ou é uma sequência de aminoácidos de pelo menos um aminoácido (por exemplo, qualquer fusão do polipeptídeo de sALP descrito neste relatório descritivo (por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante de polipeptídeo possuindo pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 1, por exemplo,

asfotase alfa).

[0047] Por "peptídeo sinal" entende-se um peptídeo curto (5-30 aminoácidos de comprimento) no N-terminal de um polipeptídeo que dirige um polipeptídeo para a via secretória (por exemplo, o espaço extracelular). O peptídeo sinal é tipicamente clivado durante a secreção do polipeptídeo. A sequência sinal pode dirigir o polipeptídeo para um compartimento ou organelo intracelular, por exemplo, o complexo de Golgi. Uma sequência sinal pode ser identificada por homologia, ou atividade biológica, com um peptídeo com a função conhecida de direcionar um polipeptídeo para uma região particular da célula. Alguém com competência comum na técnica pode identificar um peptídeo de sinal utilizando software prontamente disponível (por exemplo, Sequence Analysis Software Package do Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705, programas BLAST ou PILEUP/PRETTYBOX). Um peptídeo sinal pode ser um que, por exemplo, seja substancialmente idêntico aos resíduos de aminoácidos 1-17 das SEQ ID NOs: 2-6 ou resíduos de aminoácidos 1-25 da SEQ ID NO: 7.

[0048] Como utilizado neste relatório descritivo, quando um polipeptídeo ou sequência de ácido nucleico é referido como tendo “pelo menos X% de identidade de sequência” com uma sequência de referência, em que “X” é um número real, significa que pelo menos X por cento dos resíduos de aminoácidos ou nucleotídeos no polipeptídeo ou ácido nucleico são idênticos aos da sequência de referência quando as sequências estão otimamente alinhadas. Um

alinhamento ideal de sequências pode ser determinado de várias maneiras que estão dentro da especialidade na técnica, por exemplo, o algoritmo de alinhamento de Smith Waterman (Smith et al., *J. Mol. Biol.* 147:195-7, 1981) e BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215: 403-10, 1990). Estes e outros algoritmos de alinhamento são acessíveis pela utilização de softwares de computador disponíveis publicamente, tal como "Best Fit" (Smith e Waterman, *Advances in Applied Mathematics*, 482-489, 1981) estando incorporado no GeneMatcher Plus (Schwarz e Dayhoff, *Atlas of Protein Sequence and Structure*, Dayhoff, MO, Ed pág. 353-358, 1979), BLAST, BLAST-2, BLAST-P, BLAST-N, BLAST-X, WU-BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, CLUSTAL, Megalign (DNASTAR) ou outro software/hardware para alinhamento. Além disso, aqueles versados na técnica podem determinar parâmetros apropriados para medir o alinhamento, incluindo quaisquer algoritmos necessários para atingir o alinhamento ideal ao longo do comprimento das sequências sendo comparadas.

[0049] Os termos "paciente" e "indivíduo" se referem a um mamífero, incluindo, mas não se limitando a um mamífero humano ou não humano, tal como um bovino, equino, canino, ovino ou felino. De particular interesse são pacientes humanos.

[0050] "Administração parenteral", "administrada por via parenteral" e outras frases gramaticalmente equivalentes, como usadas neste relatório descritivo, referem-se a outros modos de administração que não enteral e tópica, geralmente por injeção, e incluem, sem limitação,

subcutânea, intradérmica, intravenosa, intranasal, intraocular, pulmonar, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular, intraorbitária, intracardíaca, intradérmica, intrapulmonar, intraperitoneal, transtraqueal, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoide, intraespinhal, epidural, intracerebral, intracraniana, intracarótida e intraesternal e infusão.

[0051] Como usado neste relatório descritivo "Teste de Caminhada de Seis Minutos" e "6MWT" referem-se a um teste padronizado para avaliar a capacidade de andar de um paciente (por exemplo, um adulto com HPP, como um adulto portador de HPP de início pediátrico), particularmente a habilidade do paciente de se levantar e assentar cada pé por vez. Ver "The American Thoracic Society statement: guidelines for the six-minute walk test (American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 166(1):111-7, 2002)", incorporado neste relatório descritivo por referência na sua totalidade. O 6MWT é determinado a partir da distância (por exemplo, em metros) que um paciente caminha sobre uma superfície plana e dura em um período de seis minutos. A distância do 6MWT pode então ser comparada à distância do 6MWT do paciente no início do estudo, à distância do 6MWT de um indivíduo não tratado (por exemplo, um indivíduo não tratado com aproximadamente a mesma idade, altura e/ou sexo) ou à distância do 6MWT de um indivíduo saudável (por exemplo, um indivíduo saudável com aproximadamente a mesma idade, altura e/ou sexo) e expresso como uma porcentagem para determinar o valor de 6MWT.

[0052] Por "quantidade terapeuticamente eficaz"

entende-se uma quantidade de um polipeptídeo (por exemplo, uma sALP, tal como SEQ ID NO: 1) ou molécula de ácido nucleico descrita neste relatório descritivo que seja suficiente para melhorar substancialmente, tratar, prevenir, atrasar, suprimir ou deter pelo menos um sintoma de HPP em adultos (por exemplo, níveis elevados de PPi, PLP e PEA no sangue e/ou urina, hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, locomoção vacilante, dor óssea, fratura óssea, deposição de cristal di-hidrato de pirofosfato de cálcio, artrite, artropatia por pirofosfato, condrocalcinose, periartrite calcificada e pseudofratura). Uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição descrita neste relatório descritivo pode depender da gravidade do distúrbio a ser tratado e da condição, peso e estado geral do paciente e pode ser determinada por alguém com competência comum na técnica com a consideração de tais fatores. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição descrita neste relatório descritivo pode ser administrada a um paciente numa dose única ou em doses múltiplas administradas ao longo de um período de tempo.

[0053] Por "tratar" ou "tratamento" entende-se a gestão médica de um paciente com a intenção de curar, melhorar, estabilizar, reduzir a probabilidade de, ou impedir a HPP em adultos e/ou administração de um paciente exibindo ou provavelmente sendo portador da HPP em adultos, por exemplo, pela administração de uma composição farmacêutica (por exemplo, uma sALP, tal como a SEQ ID NO: 1). Este termo inclui tratamento ativo, isto é, tratamento direcionado especificamente para a melhora ou associado à cura de uma

doença, condição patológica, distúrbio ou evento e também inclui tratamento causal, isto é, tratamento direcionado para a remoção da causa da doença associada, condição patológica, distúrbio ou evento. Além disso, este termo inclui tratamento paliativo, isto é, tratamento projetado para o alívio ou melhoria de pelo menos um sintoma, em vez da cura da doença, condição patológica, distúrbio ou evento; tratamento sintomático, isto é, tratamento dirigido para sintomas constitucionais da doença associada, condição patológica, distúrbio ou evento; tratamento preventivo, isto é, tratamento direcionado para minimizar ou inibir parcialmente ou completamente o desenvolvimento da doença associada, condição patológica, distúrbio ou evento, por exemplo, em um paciente que ainda não esteja doente, mas que seja suscetível a, ou risco de, uma doença particular, condição patológica, distúrbio ou evento; e tratamento de suporte, isto é, tratamento utilizado para suplementar outra terapia específica dirigida para a melhoria da doença associada, condição patológica, distúrbio ou evento.

[0054] Outras características e vantagens da presente divulgação se tornarão aparentes a partir da seguinte Descrição Detalhada, das figuras e das reivindicações.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0055] As Figuras 1A-1B são gráficos mostrando a mudança mediana nas concentrações de pirofosfato inorgânico (PPi; Fig. 1A) e de piridoxial 5' fosfato (PLP; Fig. 1B) em amostras plasmáticas de pacientes adultos com hipofosfatasia pediátrica (HPP) desde o início até seis meses de tratamento com asfotase alfa. Os dados são apresentados como mediana

(mínimo, máximo). [a]O valor de *P* compara o grupo tratado com asfotase alfa combinada (pacientes adultos com HPP recebendo dosagens de 0,3 mg/kg/dia e 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa) com o grupo controle não tratado. O número (n) de pacientes tratados e indivíduos de controle não tratados avaliados para concentrações plasmáticas de PPi e PLP é mostrado.

[0056] A Figura 2 é um gráfico que mostra a concentração média de PPi em amostras plasmáticas de pacientes adultos portadores de HPP de início pediátrico que foram administrados com asfotase alfa durante um período de tratamento de 6 anos. O limite normal superior e o limite inferior normal da concentração de PPi para indivíduos saudáveis com mais de 18 anos de idade são mostrados. O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. O período de tratamento durante o qual a asfotase alfa foi aumentada para uma dose de 6 mg/kg/semana através da alteração do protocolo é apresentado. [a]$P < 0,0001$ para a mudança na concentração plasmática mediana de PPi em relação aos valores basais aos seis meses.

[0057] A Figura 3 é um gráfico que mostra a concentração média de PLP em amostras plasmáticas de pacientes adultos portadores de HPP de início pediátrico que foram administrados com asfotase alfa durante um período de tratamento de 6 anos. O limite normal superior e o limite inferior normal da concentração de PLP para indivíduos saudáveis com mais de 18 anos de idade são mostrados. O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. O período de tratamento

durante o qual a asfotase alfa foi aumentada para uma dose de 6 mg/kg/semana através da alteração do protocolo é apresentado. [a]*P* < 0,0001 para a mudança na concentração plasmática mediana de PPi em relação aos valores basais aos seis meses.

[0058] A Figura 4 é um gráfico que mostra a distância mediana calculada em seis minutos (6MWT) de pacientes portadores de HPP com início pediátrico aos quais se administrou asfotase alfa durante um período de tratamento de 6 anos. Mediana, mínimo, máximo e n valores são mostrados para cada intervalo de tempo (valor basal, 6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e 6 anos). A área cinzenta representa o intervalo normal para a distância de 6MWT para pares saudáveis com idade e altura iguais. O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. O período de tratamento durante o qual a asfotase alfa foi aumentada para uma dose de 6 mg/kg/semana através da alteração do protocolo é apresentado. [a]Os pacientes portadores de HPP que receberam 0,3 mg/kg/dia e 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa antes da alteração do protocolo a 6 mg/kg/semana foram combinados durante todo o período de tratamento.

[0059] A Figura 5 é um gráfico que mostra a mediana do total do Teste de Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora, 2ª Edição (BOT-2) e os resultados dos testes de agilidade para pacientes adultos portadores de HPP de início pediátrico administrados com asfotase alfa durante um período de tratamento de 6 anos. Mediana, mínimo, máximo e n valores são mostrados para cada intervalo de tempo (valor

basal, 6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e 6 anos). O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. Para os valores basais, os pacientes portadores de HPP recebendo 0,3 mg/kg/dia e 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa antes da alteração do protocolo a 6 mg/kg/semana foram combinados durante todo o período de tratamento.

[0060] A Figura 6 é um gráfico que mostra a mediana das pontuações totais do teste de força de BOT-2 para pacientes adultos portadores de HPP com início pediátrico administrados com asfotase alfa durante um tratamento de 6 anos. Mediana, mínimo, máximo e n valores são mostrados para cada intervalo de tempo (valor basal, 6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e 6 anos). O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. Para os valores basais, os pacientes portadores de HPP recebendo 0,3 mg/kg/dia e 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa antes da alteração do protocolo a 6 mg/kg/semana foram combinados durante todo o período de tratamento.

[0061] A Figura 7 é um esquema mostrando o projeto de estudo para administração de asfotase alfa a adolescentes e adultos portadores de HPP ao longo de um período de cinco anos, incluindo uma fase inicial de tratamento com asfotase alfa (desde os valores basais) até seis meses e uma fase de extensão com asfotase alfa (de seis meses de tratamento a cinco ou mais anos de tratamento).A dose de asfotase alfa foi ajustada a cada 3 meses para alteração de peso; a dose máxima foi de 80 mg de asfotase alfa, a menos que o

investigador, após consulta do monitor médico, tenha aprovado uma dose superior a 80 mg. [b]A dose de asfotase alfa foi aumentada pela alteração do protocolo em todos os pacientes. Durante a fase de extensão, todos os pacientes inicialmente receberam doses diárias de asfotase alfa a 0,5 mg/kg/semana por aproximadamente 6 meses a 1 ano, que foi posteriormente alterado para 1 mg/kg em 6 dias/semana.

[0062] A Figura 8 é um esquema que mostra o número de pacientes adolescentes e adultos portadores de HPP nas diferentes fases do estudo (triagem, randomização, período de tratamento primário desde o início até aos seis meses de tratamento com asfotase alfa, período de extensão aberto de seis meses a um ano de tratamento com asfotase e período durante o qual a dosagem de asfotase alfa foi aumentada para 1 mg/kg/dia administrada 6 dias/semana até o quinto ano do estudo).

[0063] As Figuras 9A-B são gráficos mostrando a mudança mediana nas concentrações de piridoxal 5'-fosfato (PLP; Fig. 9A) e pirofosfato inorgânico (PPi;Fig. 9B) em amostras de plasma de pacientes adolescentes e adultos portadores de HPP desde os valores basais até seis meses de tratamento com asfotase alfa. Os dados são apresentados como mediana (mínimo, máximo). O valor de *P* compara o grupo tratado com asfotase alfa combinada (pacientes adultos e adolescentes com HPP recebendo dosagens de 0,3 mg/kg/dia e 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa) com o grupo controle não tratado. O número (n) de pacientes tratados e indivíduos de controle não tratados avaliados para concentrações plasmáticas de PPi e PLP é mostrado.

[0064] As Figuras 10A-10B são gráficos que mostram a concentração média de PLP (Fig. 10A) e PPi (Fig. 10B) em amostras de plasma de pacientes adultos e adolescentes portadores de HPP administrados com asfotase alfa durante um período de tratamento de cinco anos. O limite superior normal e o limite inferior normal das concentrações de PPi e PLP para indivíduos saudáveis também são mostrados. O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. O período de tratamento durante o qual a asfotase alfa foi aumentada para uma dose de 6 mg/kg/semana através da alteração do protocolo é apresentado.

[0065] As Figuras 11A-11B são gráficos mostrando a distância mediana percorrida no 6MWT (Fig. 11A) e o percentual da distância do 6MWT mediana prevista (Fig. 11B) dos pacientes adolescentes e adultos portadores de HPP administrados com asfotase alfa durante um tratamento por um período de 5 anos. Mediana, mínimo, máximo e n valores são mostrados para cada intervalo de tempo (valor basal, 6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos e 5 anos). A área cinzenta representa o intervalo normal para a distância de 6MWT para pares saudáveis com idade e altura iguais. O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. O período de tratamento durante o qual a asfotase alfa foi aumentada para uma dose de 6 mg/kg/semana através da alteração do protocolo é apresentado.

[0066] As Figuras 12A-12B são gráficos que mostram a correlação entre a distância percorrida durante o 6MWT na

triagem e no valor basal em adolescentes com HPP (Fig. 12A) e adultos com HPP de início pediátrico (Fig. 12B).

[0067] A Figura 13 é um gráfico que mostra a variação da linha de base na mediana total da velocidade de corrida BOT-2 e dos resultados dos testes de agilidade e da mediana total das pontuações de teste de força do BOT-2 para pacientes adolescentes e adultos portadores de HPP administrados com asfotase alfa durante um período de tratamento de 5 anos. Mediana, mínimo, máximo e n valores são mostrados para cada intervalo de tempo (valor basal, 6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos e 5 anos). O grupo de controle iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado combinado. Para os valores basais, os pacientes portadores de HPP recebendo 0,3 mg/kg/dia e 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa antes da alteração do protocolo a 6 mg/kg/semana foram combinados durante todo o período de tratamento.

[0068] A Figura 14 é um diagrama esquemático que mostra o esquema de dosagem de pacientes que recebem asfotase alfa em várias concentrações durante os ensaios clínicos da Fase 2a.

[0069] A Figura 15 é um gráfico que mostra as diferenças significativas observadas entre as alterações médias dos mínimos quadrados (LSM) no PPi desde os valores basais até a Semana 9 pré 3ª dose durante os ensaios clínicos da Fase 2a.

[0070] A Figura 16 é um gráfico que mostra as diferenças significativas observadas entre as alterações do LSM no PLP desde os valores basais até a Semana 9 pré 3ª dose durante

os ensaios clínicos da Fase 2a.

[0071] As Figuras 17A-17B são diagramas esquemáticos que mostram o esquema de dosagem de cada grupo de dosagem (Fig. 17A) e o esquema de avaliações farmacocinéticas, farmacodinâmicas e de imunogenicidade (Fig. 17B).

[0072] As Figuras 18A-18B são gráficos que mostram perfis farmacocinéticos individuais da atividade de asfotase alfa (U/L) em cada coorte de dosagem (0,5 mg/kg 3x/semana, 2 mg/kg 3x/semana e 2 mg/kg 3x/semana) após a dose inicial no dia 1 (Fig. 18A) e após o evento de doses múltiplas no dia 61 (Fig. 18B).

[0073] As Figuras 19A-19C são gráficos mostrando a média ± SD dos perfis farmacocinéticos da atividade de asfotase alfa (U/L) em cada coorte de dosagem todos os dias após a dose inicial no dia 1 (Fig. 20A), após os múltiplos eventos de dosagem entre os dias 15 -61 (Fig. 19B) e após o evento de dosagem múltipla no dia 61 (Fig. 19C).

[0074] As Figuras 20A-20B são gráficos que mostram a média ± SD da atividade de asfotase alfa normalizada (U/L) em cada coorte de dosagem todos os dias após a dose inicial no dia 1 (Fig. 20A) e após o evento de dose múltipla no dia 61 (Fig. 20B).

[0075] A Figura 21 é um gráfico que mostra a alteração do Dia 61 do valor basal de (CBL) PPi por quartis de exposição de asfotase alfa $C_{méd,ss}$. Os valores medianos dos valores CBL PPi são designados por uma linha no centro da caixa. Caixas indicam a faixa interquartil (IQR). Os bigodes representam 1,5*IQR. Contornos são marcados fora dos bigodes por círculos sólidos.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0076] Descobrimos que a asfotase alfa (SEQ ID NO: 1, STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc.) pode ser usada efetivamente para tratar a hipofosfatasia (HPP), seus sintomas e deficiências físicas associadas, em adultos portadores de HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como adultos com HPP de início pediátrico) ou adolescentes portadores de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos) por um período de tempo prolongado (por exemplo, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, pelo menos dez anos ou mais de dez anos, tal como durante a vida do paciente). Particularmente, a asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) pode ser administrada para tratar adultos ou adolescentes portadores de HPP exibindo deficiências físicas (por exemplo, fraqueza óssea ou muscular), diminuição da capacidade de caminhada em relação a um indivíduo sadio (por exemplo, um indivíduo sem HPP com aproximadamente a mesma idade, gênero e/ou altura), nível de fosfatase alcalina (ALP) diminuído em uma amostra (por exemplo, uma amostra de plasma), em relação a um indivíduo sadio (por exemplo, um indivíduo sem HPP de aproximadamente a mesma idade, mesmo sexo e/ou altura), diminuição da força muscular e de preensão em relação a um indivíduo sadio (por exemplo, um indivíduo sem HPP de aproximadamente a mesma idade, mesmo sexo e/ou altura), diminuição da incapacidade funcional nas extremidades inferiores em relação a um

indivíduo sadio (por exemplo, um indivíduo sem HPP de aproximadamente a mesma idade, mesmo sexo e/ou altura) ou aumento da dor em relação a um indivíduo sadio (por exemplo, um indivíduo sem HPP de aproximadamente a mesma idade, mesmo gênero e/ou altura). Além disso, o adulto ou adolescente portador de HPP pode ser um paciente não exposto que não tenha recebido um tratamento prévio com asfotase alfa (SEQ ID NO: 1).

[0077] São descritos métodos para administrar asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) a um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) que apresentam elevadas concentrações de pirofosfato inorgânico (PPi) ou piridoxal 5'-fosfato (PLP) em uma amostra plasmática do adulto ou adolescente portador de HPP, relativo a concentrações de PPi ou PLP em uma amostra plasmática de um adulto não tratado ou adolescente portador de HPP. Antes da administração da sALP, o paciente portador de HPP pode ser caracterizado como tendo uma concentração plasmática de PPi de até cerca de 6 µM e/ou uma concentração de PLP de até 1300 ng/ml. Além disso, métodos para administrar asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) a um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com aproximadamente 13 anos de idade a aproximadamente 17 anos de idade) que resultam em uma melhora na capacidade de andar de um adulto portador de HPP são descritos. Por exemplo, a

asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) pode ser administrada a um adulto ou adolescente portador de HPP com uma diminuição da capacidade de andar, de modo que, antes da administração da sALP, o paciente seja caracterizado como tendo uma distância percorrida em seis minutos de cerca de 350 metros ou menos. Por exemplo, o adulto com HPP exibe dependência diminuída em um dispositivo de mobilidade assistida, como um andador, uma cadeira de rodas, suspensórios, muletas e órteses, após a administração da sALP.

[0078] Métodos para administrar asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) a um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos de idade) tendo um Teste de Proficiência Motora Bruininks-Oseretsky 2ª Edição (BOT-2) de velocidade de corrida e de agilidade total ou pontuação de força indicativo de deficiências físicas (por exemplo, uma pontuação BOT-2 inferior a cerca de 7 em uma ou mais áreas de pontuação de BOT-2 de força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores) também são descritos. Por exemplo, a asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) pode ser administrada a um adulto portador de HPP com uma pontuação de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 inferior a cerca de 6. Além disso, a asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) pode ser administrada a um adulto portador de HPP com uma pontuação de força de BOT-2 inferior a cerca de 12.

[0079] Métodos para administrar asfotase alfa (SEQ ID

NO: 1) a um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos de idade) com uma pontuação de Dinamometria Portátil (HHD) indicativa de diminuição da força muscular e da preensão (por exemplo, uma pontuação de HHD menor que cerca de 50, como cerca de 10, 20, 30, 40 ou 50), uma Escala de Função de Extremidade Inferior (LEFS) indicativa de diminuição da incapacidade funcional nos membros inferiores (por exemplo, uma pontuação de LEFS de menos cerca de 40, como cerca de 10, 20, 30 ou 40) e/ou um Questionário de Inventário Resumido da Dor (BPI-SF) indicativo de dor (por exemplo, uma pontuação superior a cerca de 10, tal como cerca de 10, cerca de 15, cerca de 20, cerca de 25 ou cerca de 30 ou mais) são também descritos.

[0080] Em qualquer um destes métodos, a asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) pode ser administrada a um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) ou a um adolescente portador HPP por um período prolongado, por exemplo, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, pelo menos dez anos ou mais de dez anos, tal como durante a vida do paciente). Adicionalmente, dados os resultados descritos neste relatório descritivo utilizando asfotase alfa, outras sALPs podem ser utilizadas (tais como uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 1) para tratar um adulto portador de HPP (por

exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) por um período prolongado, por exemplo, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, pelo menos dez anos ou mais de dez anos, tal como durante a vida do paciente).

Métodos de Tratamento

[0081] São fornecidos neste relatório descritivo métodos para tratar um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade até cerca de 17 anos de idade). Adultos portadores de HPP (por exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) ou adolescentes portadores de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) podem ser tratados através da administração de uma sALP (como a TNALP, por exemplo, um polipeptídeo de fusão de sALP, tais como o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variação do polipeptídeo que tem pelo menos 95% de identidade de sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) através de uma faixa de idades, por exemplo, cerca de 18 a cerca de 20 anos de idade, cerca de 20 a cerca de 25 anos de idade, cerca de 25 a cerca de 30 anos de idade, cerca de 30 a cerca de 35 anos de idade, cerca de 35 a cerca de 40 anos de idade, cerca de 40 a cerca de 45 anos de idade, cerca de 45 a cerca de 50 anos de idade, cerca de 50 a cerca de 55

anos de idade, cerca de 60 a cerca de 65 anos de idade, cerca de 20 a cerca de 30 anos de idade, cerca de 30 a cerca de 40 anos de idade, cerca de 40 a cerca de 50 anos de idade, cerca de 50 a cerca de 60 anos de idade, cerca de 60 a cerca de 70 anos de idade, cerca de 20 a cerca de 65 anos de idade, cerca de 30 a cerca de 65 anos de idade ou mais de 65 anos de idade.

[0082] Adultos (por exemplo, um adulto portador de HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, como um adulto com HPP de início pediátrico) ou adolescentes (por exemplo, adolescentes portadores de HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos de idade) podem ser diagnosticados com HPP antes da administração de uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, um polipeptídeo de fusão de sALP, tal como o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica tendo pelo menos 95% de identidade à sequência de SEQ ID NO:1, por exemplo, asfotase alfa). Um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP pode apresentar, por exemplo, deficiências físicas e capacidade de andar prejudicada em relação a um adulto sem HPP.

[0083] Além disso, o adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto portador de HPP de início pediátrico) ou o adolescente portador de HPP (por exemplo, adolescente com HPP com aproximadamente 13 anos de idade com cerca de 17 anos de idade) pode ser um paciente não exposto que não tenha recebido anteriormente tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, um polipeptídeo de fusão de

sALP, tal como o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). O método envolve a administração de uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, um polipeptídeo de fusão de sALP, tal como o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) a um adulto portador de HPP ou a um adolescente portador de HPP, tal como a administração de uma sALP por um período de tratamento de pelo menos um ano (por exemplo, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, pelo menos dez anos, ou mais de dez anos, como para a vida do paciente).

[0084] Particularmente, uma sALP como a asfotase alfa pode ser administrada durante um período de tratamento a um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) previamente determinado como tendo uma concentração plasmática de PPi de até cerca de 6 µM (por exemplo, cerca de 3,5 µM, cerca de 4 µM, cerca de 4,5 µM, cerca de 5 µM ou cerca de 5,5 µM), uma concentração plasmática de PLP de até 1300 ng/ml (por exemplo, uma concentração plasmática de PLP de cerca de 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml,

900 ng/ml, 1000 ng/ml, 1100 ng/ml, 1200 ng/ml ou 1300 ng/ml), uma distância a pé em seis minutos de cerca de 350 metros ou menos (por exemplo, uma distância a pé em seis minutos de cerca de 50 metros, 75 metros, 100 metros, 125 metros, 150 metros, 175 metros, 200 metros, 225 metros, 250 metros, 275 metros ou 350 metros), uma pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 de menos de cerca 6,0, uma pontuação total de força BOT-2 de menos de cerca de 12, uma pontuação de HHD de menos de cerca de 80% da pontuação de HHD prevista (por exemplo, cerca de 30%, cerca de 35%, cerca de 40%, cerca de 45%, cerca de 50%, cerca de 55%, cerca de 60%, cerca de 65%, cerca de 70% ou cerca de 75% da pontuação de HHD prevista), uma pontuação de LEFS de menos de 40 (por exemplo, uma pontuação de LEFS de menos de 10, cerca de 20, cerca de 30 ou cerca de 40) e/ou uma pontuação de BPI-SF de menos de 12, (por exemplo, uma pontuação de BPI-SF de menos de cerca de 0, cerca de 1, cerca de 2, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5, cerca de 6, cerca de 7, cerca de 8, cerca de 9 ou cerca de 10). Além disso, a concentração plasmática de PPi, a concentração plasmática de PLP, a distância percorrida em seis minutos, a pontuação de força de BOT-2, a velocidade de corrida e pontuação de agilidade de BOT-2, a pontuação de HHD, a pontuação de LEFS e a pontuação de BPI-SF do adulto ou adolescente portador de HPP podem ser comparadas à concentração plasmática de PPi, à concentração plasmática de PLP, à distância percorrida em seis minutos, à pontuação de força de BOT-2, à velocidade de corrida e pontuação de agilidade de BOT-2, à pontuação de HHD, à pontuação de LEFS e à pontuação BPI-SF respectivamente no valor basal do

paciente para avaliar um efeito no adulto ou adolescente após o tratamento com a sALP.

[0085] Além disso, a concentração plasmática de PPi, a concentração plasmática de PLP, a distância percorrida em seis minutos, a pontuação de força de BOT-2, a velocidade de corrida e pontuação de agilidade de BOT-2, a pontuação de HHD, a pontuação de LEFS e a pontuação de BPI-SF do adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos de idade) podem ser comparadas à concentração plasmática de PPi, à concentração plasmática de PLP, à distância percorrida em seis minutos, à pontuação de força de BOT-2, à velocidade de corrida e pontuação de agilidade de BOT-2, à pontuação de HHD, à pontuação de LEFS e à pontuação de BPI-SF de um paciente saudável para determinar o efeito do tratamento no adulto ou adolescente administrado com uma sALP (por exemplo, asfotase alfa). Particularmente, a sALP pode ser administrada por um período de tratamento de pelo menos um ano (pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos pelo menos nove anos, pelo menos dez anos, ou mais de dez anos, como durante a vida do paciente). Alternativamente, os métodos podem incluir a determinação da concentração plasmática de PPi, da concentração plasmática de PLP, da distância percorrida em seis minutos, da pontuação de força de BOT-2, da velocidade de corrida e pontuação de

agilidade de BOT-2, da pontuação de HHD, da pontuação de LEFS e da pontuação de BPI-SF antes da administração de uma sALP, tal como asfotase alfa, como descrito neste relatório descritivo, para avaliar um efeito no adulto ou adolescente em tratamento com a sALP.

[0086] Além disso, cada uma das métricas descritas (por exemplo, concentração plasmática de PPi, concentração plasmática de PLP, distância percorrida em seis minutos, a pontuação de força de BOT-2, velocidade de corrida e pontuação de agilidade de BOT-2, pontuação de HHD, pontuação de LEFS e pontuação de BPI-SF) pode ser usada isoladamente ou em qualquer combinação para avaliar a eficácia do tratamento usando uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante do polipeptídeo, tendo pelo menos 95% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) em um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade), nos quais melhorias em relação a um determinado valor ou pontuação da métrica testada podem ser usados para demonstrar um efeito do tratamento no paciente portador de HPP usando a sALP.

Hipofosfatasia em Adultos e Adolescentes

[0087] Pacientes portadores de HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como adultos com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca

de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) podem ser tratados com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente com HPP; particularmente pelo menos seis semanas). Particularmente, a asfotase alfa (STRENSIQ®) pode ser administrada, como descrito neste relatório descritivo, para tratar a HPP de início pediátrico em um paciente adulto (por exemplo, um paciente não exposto). Por conseguinte, os métodos são úteis para aliviar um ou mais ou todos, qualquer um dos sintomas da HPP descritos neste relatório descritivo, particularmente quando a sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) é administrada por um período de tratamento

de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos de três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos, cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos de dez semanas, pelo menos de três meses, pelo menos de quatro meses, pelo menos de cinco meses, pelo menos de seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos de oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos de um ano, pelo menos de dois anos, pelo menos três anos pelo menos de quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos, oito anos). Particularmente, o período de tratamento é de pelo menos seis semanas.

[0088] Por exemplo, os métodos são úteis para o tratamento de sintomas de HPP em adultos, incluindo, mas não limitado a, níveis elevados de fosfoetanolamina no sangue e/ou na urina (PEA), hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, caminhada vacilante, dor óssea, fratura óssea (por exemplo, fratura por esmagamento vertebral, fratura subtrocantérica ou fratura metatarsal), deposição de cristal de pirofosfato de cálcio di-hidratado, artrite, artropatia por pirofosfato, condrocalcinose, periartrite calcária e pseudofratura. Os métodos também são úteis para tratar sintomas de HPP em adolescentes, incluindo, mas não limitado a níveis elevados de PPi, PEA ou PLP no sangue e/ou urina, osteomalacia, uma ou mais deformidades esqueléticas, hipotonia, fraqueza muscular, complicações reumatoides, artrite, pseudogota, caminhada vacilante, dificuldades ambulatoriais, dor óssea, dor, perda prematura dos dentes, hipomineralização, hipoplasia pulmonar,

insuficiência respiratória, convulsões, hipercalciúria, baixa estatura e atraso no crescimento.

[0089] Exemplos de métricas úteis para avaliação da necessidade ou eficácia do tratamento utilizando uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) incluem (1) concentrações plasmáticas de PPi e/ou PLP, (2) Teste de Caminhada de Seis Minutos (6MWT), (3) Teste de Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora 2ª Edição (BOT-2), (4) Dinamometria Portátil (HHD), (5) Escala de Função de Extremidade Inferior (LEFS) e (6) Questionário Resumido da Dor - Forma Curta (BPI-SF), que são descritos em mais detalhes abaixo.

Concentrações Plasmáticas de Pirofosfato Inorgânico (PPi) e Piridoxal 5'-Fosfato (PLP)

[0090] Os pacientes portadores de HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, como adultos com HPP de início pediátrico, ou adolescentes com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos de idade) podem ser identificados para tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pela determinação de concentrações de PPi e/ou PLP uma amostra, tal como uma amostra de plasma ou urina, do paciente. Qualquer método conhecido por aqueles versados na técnica pode ser utilizado

para quantificar as concentrações de PPi e/ou PLP em uma amostra de plasma ou alternativamente em uma amostra de urina, como descrito em detalhe em Whyte et al., 1995 (*J. Clin. Invest.* 95 (4): 1440-1445), incorporada neste relatório descritivo por referência na sua totalidade. Os métodos para quantificar as concentrações de PPi em uma amostra de plasma ou urina são também descritos em Cheung et al., 1977 (*Anal. Biochem.* 83: 61-63), Cook et al., 1978 (*Anal. Biochem.* 91: 557-565) e Johnson et al, 1968 (*Anal. Biochem.* 26: 137-145), que são incorporadas neste relatório descritivo por referência na sua totalidade. Particularmente, as concentrações de PPi e PLP em uma amostra plasmática podem ser usadas para avaliar a atividade de ALP para o paciente (por exemplo, um adulto portador de HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade).

[0091] Em comparação com indivíduos saudáveis (por exemplo, indivíduos saudáveis com aproximadamente a mesma idade, mesmo sexo e/ou mesma altura), os pacientes portadores de HPP tipicamente exibem concentrações plasmáticas elevadas de PPi e PLP, como uma concentração de PPi de até cerca de 6 µM (por exemplo, cerca de 3,5 µM, cerca de 4 µM, cerca de 4,5 µM, cerca de 5 µM ou cerca de 5,5 µM) e/ou uma concentração de PLP de até cerca de 1300 ng/ml (por exemplo, uma concentração plasmática de PLP de cerca de 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml, 900 ng/ml, 1000 ng/ml, 1100 ng/ml, 1200 ng/ml ou 1300 ng/ml). O limite normal inferior para as concentrações

plasmáticas de PPi de adultos saudáveis de cerca de 1 µM, enquanto o limite normal superior é de cerca de 5,9 µM. O limite inferior normal para concentrações plasmáticas de PLP de adultos saudáveis é inferior a cerca de 10 ng/ml, enquanto o limite superior normal é de cerca de 60 ng/ml. O limite normal inferior para concentrações plasmáticas de PPi de adolescentes saudáveis é inferior a cerca de 0,75 µM, enquanto o limite normal superior de cerca de 4,78 µM. O limite normal inferior para as concentrações plasmáticas de PLP em adolescentes saudáveis é inferior a cerca de 5,74 ng/ml, enquanto o limite superior normal é de cerca de 61,15 ng/ml.

[0092] Pacientes portadores de HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como adultos com HPP de início pediátrico) ou um adolescente portador de HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) com altas concentrações plasmáticas de PPi e/ou PLP podem ser tratados com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, administrando um sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses,

pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente com HPP; particularmente pelo menos seis semanas). Por exemplo, um paciente portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com aproximadamente 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com aproximadamente 13 anos de idade a aproximadamente 17 anos de idade) com uma concentração de PPi até cerca de 6 μM pode ser tratado com uma sALP durante o período de tratamento. Da mesma forma, um paciente portador de HPP com uma concentração de PLP de até cerca de 1300 ng/ml pode ser tratado com uma sALP durante o período de tratamento.

[0093] Os métodos resultam em uma diminuição estatisticamente significativa nas concentrações de PPi e/ou PLP em uma amostra (por exemplo, uma amostra de plasma) do paciente. Por exemplo, o tratamento com uma sALP resulta em uma diminuição das concentrações de PPi em uma amostra (por exemplo, uma amostra plasmática) do paciente de cerca de 1μM, cerca de 1,5 μM, cerca de 2 μM, cerca de 2,5 μM ou cerca de 3 μM ou 25% ou maior (por exemplo, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% ou mais de 60%) em relação às concentrações de PPi em uma amostra (por exemplo, uma amostra de plasma) de um paciente portador de HPP não tratada (por exemplo, um indivíduo com HPP de início pediátrico com cerca de 18 anos de idade ou mais). Assim, o paciente exibe uma concentração

plasmática de PPi de, por exemplo, cerca de 2 μM a cerca de 5 μM, cerca de 3 μM a cerca de 5 μM, cerca de 2 μM a cerca de 4 μM ou cerca de 2 μM a cerca de 3 μM após a administração da sALP.

[0094] Do mesmo modo, o tratamento com uma sALP resulta em uma diminuição das concentrações de PLP em uma amostra (por exemplo, uma amostra de plasma) do paciente de cerca de 100 ng/ml, 125 ng/ml, 150 ng/ml, 175 ng/ml, 200 ng/ml, 225 ng/ml ou 250 ng/ml ou 50% ou mais (por exemplo, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ou superior a 95%) em relação às concentrações de PLP em uma amostra (por exemplo, uma amostra de plasma) de um paciente portador de HPP não tratada (por exemplo, um indivíduo com HPP de início pediátrico com aproximadamente 18 anos de idade ou mais). Assim, o paciente exibe uma concentração plasmática de PLP de, por exemplo, cerca de 2 ng/ml a cerca de 150 ng/ml, cerca de 4 ng/ml a cerca de 100 ng/ml, cerca de 10 ng/ml a cerca de 75 ng/ml ou cerca de 1 ng/ml a cerca de 50 ng/ml após a administração da sALP.

[0095] A diminuição das concentrações plasmáticas de PPi e/ou PLP do paciente portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com aproximadamente 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser sustentada durante a administração do sALP. Por exemplo, a concentração plasmática de PPi diminui em cerca de 25% e permanece em ± 10% da concentração plasmática de PPi diminuída durante o tratamento com a sALP e/ou a concentração plasmática de PLP diminui em cerca de

50% e permanece em ± 10% da diminuição concentração plasmática de PLP durante o tratamento com a sALP

[0096] Alternativamente, quando a administração de uma sALP não resulta em uma diminuição nas concentrações de PPi em uma amostra plasmática do paciente portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) em cerca de 25% ou mais, a dosagem e/ou frequência da administração de sALP pode ser alterada para determinar a quantidade eficaz de sALP para o paciente portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico). Do mesmo modo, quando a administração de uma sALP não resulta em uma diminuição das concentrações de PLP em uma amostra plasmática do paciente em cerca de 50% ou mais, a dosagem e/ou frequência da administração de sALP pode ser alterada para determinar a quantidade eficaz da sALP para o paciente portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a aproximadamente 17 anos de idade). Por exemplo, a dosagem da sALP pode ser aumentada de, por exemplo, cerca de 2,1 mg/kg/semana ou cerca de 3,5 mg/kg/semana a cerca de 6 mg/kg/semana ou cerca de 9 mg/kg/semana.

Teste de Caminhada de Seis Minutos (6MWT)

[0097] Adultos portadores de HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, como adultos

com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos até cerca de 17 anos de idade) podem ser identificados para tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) utilizando o 6MWT. Particularmente, o 6MWT pode ser usado para avaliar a capacidade de locomoção em um adulto portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) para gerar um valor de 6MWT para o adulto ou adolescente.

[0098] O 6MWT pode ser realizado em ambientes internos ou externos usando um corredor plano, reto e fechado (por exemplo, de cerca de 30 metros de comprimento) com uma superfície dura. Um cronômetro ou outro temporizador pode ser usado para rastrear o tempo e um contador mecânico ou outro dispositivo pode ser usado para determinar a distância (por exemplo, em metros) que o paciente portador de HPP (por exemplo, um adulto com HPP com aproximadamente 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) caminha. Por exemplo, o comprimento do corredor pode ser marcado a cada três metros para determinar o número de metros percorridos pelo indivíduo com uma doença de fraqueza muscular, com o ponto de retorno a 30 metros e

a linha de partida também marcada. A distância percorrida pelo paciente em seis minutos pode então ser comparada com o número previsto de metros percorridos, por exemplo, por um indivíduo não tratado com aproximadamente a mesma idade, o mesmo gênero e/ou a mesma altura e expresso como um valor percentual para gerar o valor de 6MWT do paciente. O valor de 6MWT do paciente (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos de idade ou mais, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a aproximadamente 17 anos de idade) pode ser comparado ao valor de 6MWT no valor basal do paciente. Além disso, o valor de 6MWT do adulto ou adolescente com HPP pode ser comparado ao valor de 6MWT de um paciente saudável.

[0099] Pacientes portadores de HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como adultos com HPP de início pediátrico ou adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) com um 6MWT de menos de cerca de 80% do valor de 6MWT previsto podem ser tratados com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, com administração de um sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses,

pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente com HPP; particularmente pelo menos seis semanas). Por exemplo, um paciente portador de HPP com um 6MWT de menos de cerca de 80% do valor previsto do 6MWT (por exemplo, cerca de 50%, cerca de 55%, cerca de 60%, cerca de 65%, cerca de 70% ou cerca de 75% do valor previsto do 6MWT) pode ser tratado com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos de três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos de cinco semanas, pelo menos de seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos de oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos de dez semanas, pelo menos de três meses, pelo menos de quatro meses, pelo menos de cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos de oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos de dois anos, pelo menos de três anos, pelo menos de quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos ou pelo menos dez anos ou o tempo de vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas).

[0100] Os métodos podem resultar em uma melhora no valor

de 6MWT de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). Por exemplo, tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), tal como tratamento com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas), pode resultar em um aumento no valor de 6MWT até cerca de 80% ou mais do valor estimado de 6MWT e do paciente (por exemplo, cerca de 82%, cerca de 84%, cerca de 86%, cerca de 88%, cerca de 90%, cerca de 92%, cerca de 94%, cerca de 96%, cerca de 98% ou mais do valor preditivo de 6MWT).

[0101] O aumento do valor de 6MWT do paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais

de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser mantido ao longo da administração da sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas). Por exemplo, o valor de 6MWT aumenta até mais de cerca de 80% do valor previsto de 6MWT do paciente e permanece em ± 10% do valor de 6MWT aumentado durante o tratamento com a sALP (por exemplo, asfotase alfa).

[0102] Da mesma forma, a melhoria na capacidade de locomoção do paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto, com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de

idade) pode ser mantido ao longo da administração da sALP, por exemplo, por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas). Por exemplo, o paciente com HPP exibe dependência reduzida de um dispositivo de mobilidade assistida, tal como um andador, uma cadeira de rodas, braçadeiras, muletas ou órteses, durante o tratamento com a sALP.

[0103] Alternativamente, quando a administração de uma sALP não resultar em um aumento no valor de 6MWT até mais de 80% do valor previsto de 6MWT (por exemplo, de um indivíduo com HPP não tratado de aproximadamente a mesma idade, mesmo sexo e/ou altura), a dosagem e/ou frequência da administração da sALP pode ser alterada para determinar a quantidade eficaz de sALP para o paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). Por exemplo, a dosagem da sALP (tal como TNALP, por exemplo o

polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser aumentada de, por exemplo, cerca de 2,1 mg/kg/semana ou cerca de 3,5 mg/kg/semana a cerca de 6 mg/kg/semana ou cerca de 9 mg/kg/semana.

[0104] Teste de Proficiência Motora de Bruininks-Oseretsky 2ª Edição (BOT-2)

[0105] Adultos com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou adolescentes com HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos de idade) podem ser identificados para tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) usando os testes de força do BOT-2 e de velocidade de corrida e agilidade do BOT-2. Em particular, os testes de velocidade de corrida e agilidade do BOT-2 e de força do BOT-2 podem ser usados para avaliar deficiências físicas e restrições de mobilidade em um adulto com HPP para gerar uma pontuação total de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 e/ou pontuação total de força no BOT-2 para o adulto.

[0106] O BOT-2 inclui uma série de testes para avaliar deficiências físicas de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de

17 anos de idade), o que pode ser realizado com, por exemplo, um kit incluindo os testes. O BOT-2 fornece pontuações no BOT-2 compostas nas seguintes áreas: força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores. Por exemplo, o adulto ou o adolescente com HPP podem fazer abdominais sit-up, abdominais canivete ("v-ups"), salto horizontal, agachamento-parede e/ou flexões para determinar a pontuação de força no BOT-2; o adulto ou o adolescente com HPP pode pisar sobre uma trave olímpica e/ou executar uma corrida de ir e vir ("shuttle run"), um salto lateral bipodal ou um salto lateral unipodal para determinar a pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2; o adulto ou o adolescente com HPP pode recortar um círculo e/ou ligar pontos para determinar a pontuação de precisão motora fina no BOT-2; o adulto ou adolescente com HPP pode copiar uma estrela e/ou copiar um quadrado para determinar a pontuação de integração motora fina no BOT-2; o adulto ou adolescente com HPP pode transferir moedas de um centavo, separar cartões, e/ou encadear blocos para determinar a pontuação de destreza manual; o adulto ou o adolescente com HPP pode bater em seu pé e dedo e/ou fazer polichinelos para determinar a pontuação de coordenação bilateral no BOT-2; o adulto ou o adolescente com HPP pode andar em linha reta e/ou ficar em uma perna só sobre uma trave olímpica para determinar a pontuação de equilíbrio no BOT-2; e o adulto ou adolescente com HPP pode lançar uma bola em um alvo e/ou pegar uma bola jogada para determinar a pontuação de coordenação dos membros

superiores no BOT-2. A pontuação no BOT-2 é um total aditivo de cada área avaliada. Além disso, a pontuação no BOT-2 usada para avaliar a proficiência física do paciente pode ser a pontuação aditiva bruta ou uma pontuação normativa.

[0107] Um adulto com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) poderia realizar testes em uma ou mais das áreas descritas (força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores) para gerar uma pontuação no BOT-2 indicativa de deficiências físicas no adulto ou adolescente. Em cada área do BOT-2 (força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores), um adulto ou adolescente com HPP poderia realizar um ou mais testes para determinar a pontuação no BOT-2 do adulto ou adolescente, por exemplo, o adulto ou adolescente poderia realizar uma ou mais abdominais sit-up, abdominais canivete, saltos horizontais, agachamentos-parede e flexões para determinar a pontuação de força no BOT-2. Se desejado, apenas um único teste (por exemplo, um teste selecionado do grupo de abdominais sit-up, abdominais canivete, salto horizontal, agachamento-parede e flexões) pode ser realizado para determinar a pontuação no BOT-2 (por exemplo, uma pontuação de força no BOT-2) de um adulto ou adolescente com HPP.

[0108] Cada uma das pontuações no BOT-2 (força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores) do paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser comparada com a pontuação no BOT-2 de pacientes sem HPP (por exemplo, um adulto sem HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) para, por exemplo, determinar o desvio padrão da pontuação no BOT-2. Cada uma das pontuações no BOT-2 (por exemplo, força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores) do paciente com HPP pode ser comparada com a pontuação no BOT-2 de outros pacientes com HPP (por exemplo, pacientes com HPP com aproximadamente a mesma idade, altura e/ou sexo) para, por exemplo, determinar a pontuação no BOT-2 para o paciente com HPP.

[0109] As pontuações no BOT-2 (por exemplo, pontuações de força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores) variam de cerca de 0 a igual ou inferior a cerca de 25, em que uma pontuação superior a cerca de 10 é considerada representativa de um indivíduo saudável (por exemplo, paciente sem HPP). Pacientes com uma pontuação no BOT-2 (por

exemplo, pontuações de força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e pontuações de coordenação dos membros superiores) inferior a cerca de 10 podem ser tratados com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), tal como administrando uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas).

[0110] Por exemplo, um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) com uma pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 inferior a 10 (por exemplo, cerca de 0, cerca de 1, cerca de 2, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5

cerca de 6, cerca de 7, cerca de 8, cerca de 9, ou cerca de 10) pode ser tratado com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas). Da mesma forma, um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) com uma pontuação de força no BOT-2 inferior a 12 (por exemplo, cerca de 0, cerca de 1, cerca de 2, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5, cerca de 6, cerca de 7, cerca de 8, cerca de 9, cerca de 10, cerca de 11, cerca de 12, cerca de 13, ou cerca de 14) pode então ser tratado com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de

identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou o tempo de vida do paciente; em particular, pelo menos, seis semanas).

[0111] Os métodos resultam em uma melhoria na pontuação no BOT-2 (por exemplo, pontuação de força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e/ou coordenação dos membros superiores) de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). Por exemplo, o tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), tal como o tratamento com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo

menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos ou pela resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas), pode resultar em um aumento na pontuação de força no BOT-2 até cerca de 10 a cerca de 20 ou maior (por exemplo, cerca de 9, cerca de 10, cerca de 11, cerca de 12, cerca de 13, cerca de 14, cerca de 15, cerca de 16, cerca de 17, cerca de 18, cerca de 19, cerca de 20, cerca de 21, cerca de 22, cerca de 23, cerca de 24 ou cerca de 25). Além disso, o tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), tal como tratamento com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses,

pelo menos um ano, pelo menos pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas), pode resultar em um aumento na pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 até cerca de 9 acerca de 20 ou maior (por exemplo, cerca de 9, cerca de 10, cerca de 11, cerca de 12, cerca de 13, cerca de 14, cerca de 15, cerca de 16, cerca de 17, cerca de 18, cerca de 19, cerca de 20, cerca de 21, cerca de 22, cerca de 23, cerca de 24 ou cerca de 25).

[0112] O aumento na pontuação no BOT-2 (por exemplo, pontuação de força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores) pode ser mantido ao longo da administração da sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo

menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas). Da mesma forma, a redução das deficiências físicas pode ser mantida ao longo da administração da sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão sALP de SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência para a sequência de SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; em particular, pelo menos, seis semanas).

[0113] As pontuações no BOT-2 (pontuações de força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores) de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com

HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) podem ser usadas individualmente ou combinadas para avaliar a eficácia do tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), em que melhorias relativas à pontuação de um determinado teste demonstram que a sALP é eficaz no tratamento de deficiências físicas associadas à HPP. Por exemplo, quando se administra uma sALP a um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) resulta em um aumento na pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 até cerca de 9 ou maior, em que o paciente anteriormente tinha uma pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 inferior a cerca de 7, então a sALP é considerada eficaz, por exemplo, no tratamento de deficiências físicas associadas à HPP. Alternativamente, um aumento de pelo menos dois pontos ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 pontos) em relação à pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 antes do tratamento indica eficácia (por exemplo, quando associado a uma alta pontuação mantida por mais de 1 ano de tratamento).

[0114] Além disso, dentro de cada área do BOT-2 (força, velocidade de corrida e agilidade, precisão motora fina, integração motora fina, destreza manual, coordenação

bilateral, equilíbrio e coordenação dos membros superiores), um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) poderiam realizar um ou mais testes para determinar a pontuação no BOT-2 do paciente. Por exemplo, o adulto ou adolescente com HPP poderia realizar um ou mais dentre abdominais sit-up, abdominais canivete, salto horizontal, agachamento-parede e flexões para determinar a pontuação de força no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP. O adulto ou adolescente com HPP poderia realizar um ou mais dentre trave olímpica, uma corrida de ir e vir ("shuttle run"), um salto lateral bipodal ou um salto lateral unipodal para determinar a pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP. O adulto ou adolescente com HPP pode recortar um círculo e/ou ligar pontos para determinar a pontuação de precisão motora fina no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP. O adulto ou adolescente com HPP pode copiar uma estrela e/ou copiar um quadrado para determinar a pontuação de integração motora fina no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP. O adulto ou adolescente com HPP poderia realizar uma ou mais dentre transferências de moedas de um centavo, separar cartões e encadear blocos para determinar a pontuação de destreza manual no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP. O adulto ou adolescente com HPP pode tocar seu pé e dedo e/ou fazer

polichinelos para determinar a pontuação de coordenação bilateral no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP. O adulto ou adolescente com HPP pode andar em linha reta e/ou ficar em uma perna só sobre uma trava olímpica para determinar a pontuação de equilíbrio no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP. O adulto ou adolescente com HPP pode lançar uma bola em um alvo e/ou pegar uma bola jogada para determinar a pontuação de coordenação dos membros superiores no BOT-2 e avaliar a eficácia de tratamento da administração de sALP.

[0115] Alternativamente, quando a administração de uma sALP não resultar em um aumento na pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 até mais de cerca de 9 (por exemplo, um aumento de pelo menos 2 a 10 pontos (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 pontos) acima da pontuação de velocidade de corrida e agilidade no BOT-2 antes do tratamento com a sALP), a dosagem e/ou frequência de administração de sALP pode ser alterada para determinar uma quantidade eficaz de sALP para o paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). Por exemplo, a dosagem da sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser aumentada de, por exemplo, cerca de 2,1 mg/kg/semana ou cerca de 3,5 mg/kg/semana a cerca de 6 mg/kg/semana ou cerca de 9

mg/kg/semana.

Dinamometria Manual (HHD)

[0116] A força de pega e muscular de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 17 anos de idade) podem ser avaliadas usando Dinamometria Manual (HHD). Por exemplo, a flexão e extensão do joelho e também a flexão, extensão e abdução do quadril de um paciente com HPP podem ser medidas usando, por exemplo, um dinamômetro MICROFET2™, enquanto a força de pega do paciente com HPP pode ser medida usando, por exemplo, um JAMAR® Grip Dynamometer. Particularmente, o administrador mantém o dinamômetro estacionário e o indivíduo exerce uma força máxima contra o dinamômetro. Dados de força de pico são coletados em libras, depois convertidos em Newtons (N). Os valores de torque são calculados usando o comprimento do membro em N-metros. O valor de torque pode então ser comparado ao valor de, por exemplo, um indivíduo normal com aproximadamente a mesma idade, o mesmo sexo e/ou a mesma altura e expresso como um valor percentual para gerar a pontuação de HHD do indivíduo.

[0117] Um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) com uma pontuação de HHD menor que cerca de 80% da pontuação de HHD prevista (por exemplo, em relação a um indivíduo normal com aproximadamente a mesma idade, o mesmo sexo e/ou a mesma

altura) pode ser tratado com uma sALP (como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). Por exemplo, um paciente com HPP com uma HHD inferior a cerca de 80% da pontuação de HHD prevista pode ser tratado com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do indivíduo; particularmente pelo menos seis semanas).

[0118] Os métodos podem resultar em uma melhora na pontuação de HHD de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). Por exemplo, tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO:

1, por exemplo, asfotase alfa), tal como tratamento com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas), pode resultar em um aumento na pontuação de HHD de cerca de 5% ou mais da pontuação de HHD prevista para o paciente (por exemplo, um aumento de cerca de 5%, cerca de 10%, cerca de 15%, cerca de 20%, cerca de 25%, cerca de 30%, cerca de 35%, cerca de 40%, cerca de 45%, ou cerca de 50%).

[0119] O aumento na pontuação de HHD do paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser mantido ao longo da administração da sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, por um período de tratamento de

pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente com HPP; particularmente pelo menos seis semanas). Por exemplo, a pontuação de HHD aumenta em cerca de 5% ou mais da pontuação de HHD prevista e permanece em ± 10% da pontuação de HHD aumentada durante o tratamento com a sALP. Alternativamente, quando a administração de uma sALP não resultar em um aumento na pontuação de HHD de cerca de 5% ou mais da pontuação prevista de HHD (por exemplo, de um paciente com HPP com aproximadamente a mesma idade, mesmo sexo e/ou altura), a dosagem e/ou frequência da administração de sALP pode ser alterada para determinar uma quantidade eficaz de sALP para o paciente com HPP. Por exemplo, a dosagem da sALP pode ser aumentada de, por exemplo, cerca de 2,1 mg/kg/semana ou cerca de 3,5 mg/kg/semana a cerca de 6 mg/kg/semana ou cerca de 9 mg/kg/semana.

Escala Funcional de Extremidade Inferior (LEFS)

[0120] A diminuição da incapacidade funcional nas extremidades inferiores de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal

como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser avaliada usando a Escala Funcional de Extremidade Inferior (LEFS). A LEFS pode ser usada para avaliar a incapacidade funcional de um ou ambos os membros inferiores de um paciente com HPP, incluindo a capacidade de monitorar o paciente ao longo do tempo e avaliar a eficácia do tratamento com asfotase alfa. Um fisioterapeuta licenciado pode aplicar a LEFS em um paciente com HPP (por exemplo, um paciente com HPP com cerca de 13 anos ou mais de idade) em um formato de entrevista.

[0121] Um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) com uma pontuação na LEFS inferior a cerca de 40 (por exemplo, uma pontuação na LEFS de cerca de 10, cerca de 15, cerca de 20, cerca de 25, cerca de 30, cerca de 35 ou cerca de 40) pode ser tratado com uma sALP (como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). Por exemplo, um paciente com HPP com uma pontuação na LEFS inferior a cerca de 40 (por exemplo, uma pontuação na LEFS de cerca de 10, cerca de 15, cerca de 20, cerca de 25, cerca de 30, cerca de 35, ou cerca de 40) pode ser tratado com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas,

pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas).

[0122] Os métodos podem resultar em uma melhora na pontuação na LEFS de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). Por exemplo, tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), tal como tratamento com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro

anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas), pode resultar em um aumento na pontuação na LEFS de cerca de 3 ou mais (por exemplo, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5, cerca de 6, cerca de 7, cerca de 8, cerca de 9, ou cerca de 10).

[0123] O aumento na pontuação na LEFS do paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser mantido ao longo da administração da sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente com HPP; particularmente pelo menos seis

semanas). Por exemplo, a pontuação na LEFS pode aumentar em cerca de 3 ou mais (por exemplo, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5, cerca de 6, cerca de 7, cerca de 8, cerca de 9 ou cerca de 10) e permanece em ± 10% da pontuação na LEFS aumentada durante o tratamento com a sALP. Alternativamente, quando a administração de uma sALP não resulta em um aumento na pontuação na LEFS de cerca de 3 ou mais (por exemplo, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5, cerca de 6, cerca de 7, cerca de 8, cerca de 9, ou cerca de 10), a dosagem e/ou frequência da sALP pode ser alterada a fim de determinar uma quantidade eficaz de sALP para o paciente com HPP. Por exemplo, a dosagem da sALP pode ser aumentada de, por exemplo, cerca de 2,1 mg/kg/semana ou cerca de 3,5 mg/kg/semana a cerca de 6 mg/kg/semana ou cerca de 9 mg/kg/semana.

Questionário de Inventário Resumido da Dor-Versão Curta (BPI-SF)

[0124] A dor de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser avaliada usando o Questionário de Inventário Resumido da Dor-Versão Curta (BPI-SF). O BPI-SF é um questionário concebido para avaliar a gravidade da dor e o impacto da dor nas funções diárias. O BPI-SF é composto por 11 itens que utilizam uma escala de classificação numérica para avaliar a intensidade da dor (4 itens) e a interferência da dor (7 itens) nas 24 horas anteriores à aplicação do questionário. O questionário BPI-SF fornece

informações sobre a intensidade da dor e grau em que a dor interfere nas funções diárias do paciente com HPP (por exemplo, um paciente com HPP com cerca de 13 anos ou mais de idade) em uma escala numérica de 0 (sem dor) a 10 (dor intensa ou interferência significativa causada pela dor); pontuações mais baixas indicam melhores resultados de qualidade de vida e redução da dor. Por exemplo, as pontuações no BPI-SF dos adolescentes e adultos com HPP são uma combinação de 11 avaliações de dor.

[0125] Um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) com uma pontuação no BPI-SF superior a cerca de 10 (por exemplo, uma pontuação no BPI-SF de cerca de 10, cerca de 15, cerca de 20, cerca de 25, cerca de 30 ou mais) pode ser tratado com uma sALP (como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). Por exemplo, um paciente com HPP com uma pontuação no BPI-SF superior a cerca de 10 (por exemplo, uma pontuação no BPI-SF de cerca de 10, cerca de 15, cerca de 20, cerca de 25, cerca de 30 ou mais) pode ser tratado com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos

quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas).

[0126] Os métodos podem resultar em uma melhora na pontuação no BPI-SF de um paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). Por exemplo, o tratamento com uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), tal como o tratamento com uma sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou

pelo menos dez anos ou pela resto da vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas), pode resultar em uma redução na pontuação no BPI-SF de cerca de -2 ou maior (por exemplo, cerca de -2, cerca de -3, cerca de -4, cerca de -5, cerca de -6, ou cerca de -7 ou mais).

[0127] A redução na pontuação no BPI-SF do paciente com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) pode ser mantido ao longo da administração da sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica, com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa), por exemplo, por um período de tratamento de pelo menos duas semanas (por exemplo, pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou pelo resto da vida do paciente com HPP; particularmente pelo menos seis semanas). Por exemplo, a pontuação no BPI-SF reduz em cerca de -2 ou mais (por exemplo, cerca de -2, cerca de -3, cerca

de -4, cerca de -5, cerca de -6 ou cerca de -7 ou mais) e permanece em ± 10% da pontuação no BPI-SF reduzida durante o tratamento com a sALP.

[0128] Alternativamente, quando a administração de uma sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) não resultar em uma redução na pontuação no BPI-SF de cerca de -2 ou mais (por exemplo, cerca de -2, cerca de -3, cerca de -4, cerca de -5, cerca de -6 ou cerca de -7 ou mais), a dosagem e/ou frequência da sALP pode ser alterada para determinar uma quantidade eficaz de sALP para o paciente com HPP. Por exemplo, a dosagem da sALP pode ser aumentada de, por exemplo, cerca de 2,1 mg/kg/semana ou cerca de 3,5 mg/kg/semana a cerca de 6 mg/kg/semana ou cerca de 9 mg/kg/semana.

Fosfatase Alcalina

[0129] A asfotase alfa é um polipeptídeo de fusão de TNALP humana (hTNALP; SEQ ID NO: 1) formulado para o tratamento de HPP. Em particular, a asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) pode ser usada de forma eficaz para tratar a hipofosfatasia (HPP), seus sintomas e deficiências físicas associadas a ela em um adulto com HPP ((por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade) por um longo período de tempo (por exemplo, pelo menos seis meses, pelo menos um ano, pelo menos dois

anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, pelo menos dez anos, ou mais de dez anos, tal como pelo resto da vida do paciente).

[0130] Dados os resultados descritos neste relatório descritivo, os métodos de tratamento não estão limitados à administração de uma fosfatase alcalina (ALP) particular ou de uma sequência de ácido nucleico que codifica uma ALP. As fosfatases alcalinas abrangem um grupo de enzimas que catalisam a clivagem de uma fração de fosfato (por exemplo, hidrólise de pirofosfato, PP_i). Existem quatro isoenzimas conhecidas de fosfatase alcalina (ALP) de mamífero: fosfatase alcalina não específica de tecido (TNALP; descrita mais abaixo), fosfatase alcalina da placenta (PLALP) (por exemplo, Nos. de Acesso P05187, NP_112603 e NP_001623), fosfatase alcalina de células germinativas (GALP) (por exemplo, No. de Acesso P10696), e fosfatase alcalina intestinal (IALP) (por exemplo, Nos. de Acesso P09923 e NP_001622). Além das ALPs exemplificativas discutidas acima, qualquer polipeptídeo com a estrutura do sítio catalítico e/ou atividade enzimática de ALP igual ou semelhante pode ser utilizado (por exemplo, como uma sALP ou um polipeptídeo de fusão de sALP conforme definido neste relatório descritivo) para tratamento de pacientes com HPP, tais como adultos com HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tais como adultos com HPP de início pediátrico) ou adolescentes com HPP (por exemplo, adolescentes com HPP de cerca de 13 a cerca de 17 anos de

idade). Os conjugados de distribuição óssea, incluindo sALP, são ainda descritos nas Publicações Internacionais Nos: WO 2005/103263 e WO 2008/138131.

[0131] As TNALPs que podem ser utilizadas de acordo com os métodos descritos neste relatório descritivo incluem, por exemplo, TNALP humana (Nos. de Acesso NP_000469, AAI10910, AAH90861, AAH66116, AAH21289 e AAI26166); TNALP de macaco-rhesus (No. de Acesso XP_01109717); TNALP de rato (No. de Acesso NP_037191); TNALP de cão (No. de Acesso AAF64516); TNALP de porco (No. de Acesso AAN64273), camundongo (No. de acesso NP_031457), TNALP de vaca (Nos. de Acesso NP_789828, NP_776412, AAM 8209 e AAC33858), e TNALP de gato (No. de Acesso NP_001036028). Em particular, a TNALP pode ser uma TNALP humana recombinante (por exemplo, SEQ ID NO: 1, asfotase alfa; ver Patentes US Nos. 7,763,712 e 7,960,529, incorporadas neste relatório descritivo como referência na sua totalidade) utilizadas para o tratamento de pacientes com HPP, tais como adultos com HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tais como adultos com HPP de início pediátrico) ou adolescentes com HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). A TNALP também pode ser uma que exiba pelo menos cerca de 95% de identidade de sequência com o polipeptídeo ou sequência de ácido nucleico das TNALPs acima mencionadas.

Fosfatases Alcalinas Solúveis

[0132] As ALPs que podem ser utilizadas nos métodos descritos neste relatório descritivo incluem formas solúveis (por exemplo, extracelulares ou não ligadas a membranas) de

qualquer das fosfatases alcalinas descritas neste relatório descritivo. A sALP da invenção pode ser, por exemplo, uma forma solúvel de fosfatase alcalina não específica de tecido humano (TNALP humana (hTNALP)). A presente divulgação não está limitada a uma sALP específica e pode incluir qualquer polipeptídeo de sALP que seja fisiologicamente ativo para, por exemplo, fosfoetanolamina (PEA), pirofosfato inorgânico (PPi) e piridoxal 5'-fosfato (PLP). Em particular, uma sALP é aquela que é cataliticamente competente para melhorar a mineralização óssea. Os métodos incluem ainda ácidos nucleicos que codificam as sALPs descritas neste relatório descritivo que podem ser utilizadas para tratar as condições descritas neste relatório descritivo, por exemplo, HPP, tais como adultos com HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tais como adultos com HPP de início pediátrico) ou adolescentes com HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade).

[0133] A TNALP é uma proteína ligada à membrana ancorada por uma porção glicolipídica no terminal C (Swiss-Prot, P05186). Esta âncora glicolipídica (GPI) é adicionada pós-translacionalmente após a remoção de uma extremidade hidrofóbica do terminal C, que serve tanto como uma âncora de membrana temporária e como um sinal para a adição do GPI. Enquanto a âncora GPI está localizada na membrana celular, as porções restantes do TNALP são extracelulares. Em particular, TNALP (por exemplo, TNALP humana (hTNALP)) pode ser projetado para substituir o primeiro aminoácido da sequência hidrofóbica do terminal C (uma alanina) com um

códon de parada, produzindo assim uma hTNALP projetada que contém todos os resíduos de aminoácidos do nativo ancorado a forma de TNALP e carece de âncora de membrana GPI. Um versado na técnica apreciará que a posição da âncora de membrana GPI variará em diferentes ALPs e pode incluir, por exemplo, os últimos 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 45, 50, ou mais resíduos de aminoácidos no terminal C do polipeptídeo. O sTNALP recombinante pode incluir, por exemplo, os aminoácidos 1 a 502 (18 a 502 quando secretados), aminoácidos 1 a 501 (18 a 501 quando secretados), aminoácidos 1 a 504 (18 a 504 quando secretados), aminoácidos 1 a 505 (18-505 quando secretado), ou aminoácidos 1 a 502. Assim, a extremidade do terminal C da ALP nativa pode ser truncada por certos aminoácidos sem afetar a atividade da ALP.

[0134] Além da âncora GPI do terminal C, o TNALP também possui uma sequência de peptídeo de sinal do terminal N. O peptídeo de sinal do terminal N está presente na proteína sintetizada quando é sintetizada, mas clivado da TNALP após translocação para o ER. As sALPs da invenção incluem tanto as formas segregadas (isto é, sem o sinal do terminal N) como as não secretadas (isto é, com o sinal do terminal N). Um versado na técnica apreciará que a posição do peptídeo de sinal do terminal N irá variar em diferentes fosfatases alcalinas e pode incluir, por exemplo, os primeiros 5, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 30, ou mais resíduos de aminoácidos no terminal N do polipeptídeo. Um versado na técnica pode prever a posição de um sítio de clivagem da sequência de sinal, por exemplo, por

um algoritmo de computador apropriado tal como o descrito em Bendtsen et al. (*J. Mol. Biol.* 340(4):783-795, 2004) e disponível na Web em www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/.

[0135] Os métodos também podem ser realizados usando sequências de consenso de sALP derivadas do domínio extracelular de isoenzimas de ALP (por exemplo, TNALP, PALP, GCALP, IALP, etc.). Assim, de forma semelhante à sTNALP discutida acima, a presente descrição também fornece outras isoenzimas de ALP humanas solúveis, isto é, sem o sinal peptídico, preferencialmente compreendendo o domínio extracelular das ALPs. As sALPs da invenção também incluem sequências polipeptídicas que satisfazem uma sequência de consenso derivada do domínio extracelular de ALP de isozimas de ALP humanas e de ortólogos de TNALP de mamífero (humano, camundongo, rato, vaca, gato e cachorro) ou um consenso derivado do domínio de ALP extracelular de ortólogos de TNALP apenas em mamíferos (humano, rato, camundongo, vaca, gato e cão). As sALPs da invenção também incluem aquelas que satisfazem sequências de consenso similares derivadas de várias combinações destes ortólogos de TNALP ou isozimas de ALP humanas. Tais sequências de consenso são apresentadas, por exemplo, no relatório descritivo WO 2008/138131.

[0136] As sALPs dos presentes métodos podem incluir não apenas a sequência de tipo selvagem das sALPs acima descritas, mas qualquer polipeptídeo com pelo menos 50% (por exemplo, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais) de identidade de sequência com estas fosfatases alcalinas (por exemplo, SEQ ID NOs: 1-24; por exemplo o

polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). Exemplos de mutações que podem ser introduzidas numa sequência de ALP são descritas na Publicação US No. 2013/0323244, incorporadas por referência na sua totalidade. Uma sALP pode opcionalmente ser glicosilada em qualquer um ou mais resíduos de aminoácidos apropriados. Além disso, uma sALP pode ter pelo menos 50% (por exemplo, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou mais) de identidade de sequência com qualquer uma das sALPs descritas neste relatório descritivo (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). Uma sALP pode ter 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais adições, deleções ou substituições em relação a qualquer uma das sALPs descritas neste relatório descritivo (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa).

Polipeptídeos de Fusão de sALP

[0137] Quaisquer das sALPs e ligantes descritos neste relatório descritivo podem ser combinados num polipeptídeo de sALP, por exemplo, um polipeptídeo de sALP de A-sALP-B, em que cada um dentre A e B está ausente ou é uma sequência de aminoácidos de pelo menos um aminoácido (tal como TNALP,

por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). Quando presente, A e/ou B podem ser qualquer ligante descrito neste relatório descritivo. Em alguns polipeptídeos sALP, A está ausente, B está ausente ou A e B estão ausentes. Os polipeptídeos de sALP da invenção podem opcionalmente incluir uma região Fc para proporcionar um polipeptídeo de fusão de sALP, como aqui descrito. O polipeptídeo de sALP pode opcionalmente incluir uma fração de direcionamento de osso, como aqui descrito. Em alguns polipeptídeos de sALP, pode ser incluído um ligante, por exemplo, um ligante flexível, entre a fração de direcionamento para o osso e a sALP, tal como uma sequência de dipeptídeo (por exemplo, leucina-lisina ou ácido aspártico-isoleucina). Outras regiões Fc, ligantes e frações de direcionamento ósseo exemplares são descritas abaixo.

[0138] Qualquer uma das sALPs, ligantes e regiões Fc descritas neste relatório descritivo podem ser combinados num polipeptídeo de fusão, por exemplo, um polipeptídeo de fusão recombinante, que inclui a estrutura Z-sALP-Y-espaçador-X-W_n-V, Z-W_n-X -espaçador-Y-sALP-V, Z-sALP-Y-W_n-X-espaçador-V e Z-W_n-X-sALP-Y- espaçador-V (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de sALP de SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa). Em particular, a estrutura pode ser Z-sALP-Y-espaçador-X-W_n-V ou Z-W_n-X-espaçador-Y-sALP-V. A sALP pode ser o comprimento total ou fragmentos funcionais de ALPs,

tais como o domínio extracelular solúvel da ALP, conforme é descrito neste relatório descritivo (por exemplo, TNALP, PALP, GCALP e IALP). Qualquer um dentre X, Y, Z e V e/ou o espaçador pode estar ausente ou ser uma sequência de aminoácidos de pelo menos um aminoácido. W_n pode ser uma fração de direcionamento óssea, por exemplo, com uma série de resíduos consecutivos de Asp ou Glu, em que n = 1 a 50, por exemplo, n = 3-30, por exemplo 5-15, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 ou 50. A fração de direcionamento óssea, se presente, pode ser posicionada em qualquer ponto do polipeptídeo de fusão, por exemplo, na extremidade do terminal N ou do terminal C e/ou na região do ligante. Por exemplo, a fração de direcionamento óssea está na extremidade do terminal C. Os polipeptídeos de sALP e os polipeptídeos de fusão também podem não incluir uma fração de direcionamento óssea.

[0139] Os polipeptídeos de fusão de sALP da presente invenção podem ser da estrutura hTNALP-Fc-D_{10}. Em particular, os polipeptídeos de fusão de sALP podem incluir uma sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa.

[0140] Espaçadores úteis incluem, mas não estão limitados a polipeptídeos compreendendo uma Fc, e polipeptídeos hidrofílicos e flexíveis capazes de aliviar as forças repulsivas causadas pela presença do peptídeo terminal altamente carregado negativamente. (por exemplo,

W_n). Por exemplo, uma sALP pode ser um polipeptídeo de fusão incluindo uma região Fc de uma imunoglobulina no domínio do terminal N ou do terminal C. Uma molécula de imunoglobulina tem uma estrutura bem conhecida na técnica. Inclui duas cadeias leves (~23 kD cada) e duas cadeias pesadas (~50-70 kD cada) unidas por ligações dissulfureto inter-cadeias. As imunoglobulinas são prontamente clivadas proteoliticamente (por exemplo, por clivagem com papaína) em Fab (contendo a cadeia leve e os domínios VH e CH1 da cadeia pesada) e Fc (contendo os domínios CH2 e CH3 da cadeia pesada, juntamente com sequências adjacentes). Fragmentos Fc úteis como aqui descritos incluem o fragmento Fc de qualquer molécula de imunoglobulina, incluindo IgG, IgM, IgA, IgD ou IgE, e as suas várias subclasses (por exemplo, IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2), de qualquer mamífero (por exemplo, humano). Por exemplo, o fragmento Fc é humano IgG-1. Os fragmentos Fc da invenção podem incluir, por exemplo, os domínios CH2 e CH3 da cadeia pesada e qualquer porção da região de dobradiça. A região Fc pode opcionalmente ser glicosilada em qualquer um ou mais resíduos de aminoácidos conhecidos pelos versados na técnica. Em particular, o fragmento Fc do polipeptídeo de fusão tem a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 20, ou tem pelo menos 50% (por exemplo, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais) de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 20. Regiões Fc manipuladas, por exemplo, de ocorrência não natural, podem ser utilizadas nos métodos da invenção, por exemplo, conforme descrito na Pub. de Pedido

Internacional No. WO2005/007809, que é incorporada neste relatório descritivo por referência. Um fragmento Fc conforme descrito neste relatório descritivo pode ter 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, ou mais adições, deleções ou substituições em relação a qualquer dos fragmentos Fc descritos neste relatório descritivo.

[0141] Os polipeptídeos de fusão de sALP descritos neste relatório descritivo (tais como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem incluir uma região de ligante peptídico entre o fragmento Fc. Além disso, uma região de ligante peptídico pode ser incluída entre o fragmento Fc e a fração de direcionamento óssea opcional. A região de ligação pode ser de qualquer sequência e comprimento que permita que a sALP permaneça biologicamente ativa, por exemplo, não impedida estereoquimicamente. Comprimentos de ligantes exemplares estão entre 1 e 200 resíduos de aminoácidos, por exemplo, 1-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-45, 46-50, 51-55, 56-60, 61-65, 66-70, 71-75, 76-80, 81-85, 86-90, 91-95, 96-100, 101-110, 111- 120, 121-130, 131-140, 141-150, 151-160, 161-170, 171-180, 181-190 ou 191-200 resíduos de aminoácido. Por exemplo, os ligantes incluem ou consistem em porções flexíveis, por exemplo, regiões sem estrutura secundária ou terciária fixa significativa. Ligantes flexíveis exemplares são ligantes ricos em glicina, por exemplo, contendo pelo menos 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%,

85%, 90%, 95%, ou mesmo 100% de resíduos de glicina. Os ligantes também podem conter, por exemplo, resíduos de serina. Em alguns casos, a sequência de aminoácidos dos ligantes consiste apenas em resíduos de glicina e serina. Um ligante pode opcionalmente ser glicosilado em qualquer um ou mais resíduos de aminoácidos apropriados. Além disso, um ligante conforme descrito neste relatório descritivo pode incluir qualquer outra sequência ou fração, ligada covalentemente ou não covalentemente. O ligante também pode estar ausente, em cujo caso, o fragmento Fc e o sALP são fundidos diretamente, sem resíduos intervenientes. Certos polipeptídeos de fusão de Fc-sALP ou sALP-Fc podem ser vistos, de acordo com a presente divulgação, como 1) sem nenhum ligante, como 2) com um ligante que corresponde a uma porção da sALP. Por exemplo, Fc fundido diretamente a hsTNALP (1-502) pode ser visto, por exemplo, como não tendo ligante, em que o hsTNALP é aminoácidos 1-502, ou como tendo um ligante de 17 aminoácidos, em que o hsTNALP (18-502).

[0142] Outros resíduos de aminoácidos podem ser introduzidos no polipeptídeo de acordo com a estratégia de clonagem utilizada para produzir os polipeptídeos de fusão. Por exemplo, resíduos de aminoácidos adicionais não fornecem um sinal de ancoragem GPI adicional de modo a manter o polipeptídeo numa forma solúvel. Além disso, quaisquer resíduos de aminoácidos adicionais, quando incorporados no polipeptídeo da invenção, não fornecem um sítio de clivagem para endoproteases da célula hospedeira. A probabilidade de uma sequência projetada ser clivada pelas endoproteases da célula hospedeira pode ser prevista como descrito, por

exemplo, por Ikezawa (*Biol. Pharm.Bull.* 25:409-417, 2002).

[0143] As sALPs e os polipeptídeos de fusão de sALP da invenção (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser associados a dímeros ou tetrâmeros. Por exemplo, dois monômeros de sALP-Fc podem ser covalentemente ligados através de duas ligações dissulfureto localizadas nas regiões de dobradiça dos fragmentos Fc. Além disso, o polipeptídeo de fusão ou o polipeptídeo da invenção (por exemplo, um polipeptídeo de sALP ou polipeptídeo de fusão) pode ser glicosilado ou PEGuilado.

Produção de Ácidos Nucleicos e Polipeptídeos

[0144] Os ácidos nucleicos que codificam sALPs e polipeptídeos de fusão de sALP (tais como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser produzidos por qualquer método conhecido na técnica. Tipicamente, um ácido nucleico que codifica o polipeptídeo de fusão desejado é gerado utilizando métodos de clonagem molecular e é geralmente colocado dentro de um vetor, tal como um plasmídeo ou vírus. O vetor é utilizado para transformar o ácido nucleico numa célula hospedeira apropriada para a expressão do polipeptídeo de fusão. Métodos representativos são divulgados, por exemplo, em Maniatis et al. (Cold Springs Harbor Laboratory, 1989). Muitos tipos de células podem ser utilizados como células

hospedeiras apropriadas, embora as células de mamífero sejam preferenciais porque são capazes de conferir modificações pós-traducionais apropriadas. As células hospedeiras podem incluir, por exemplo, células de Ovário de Hamster Chinês (CHO), célula L, célula C127, célula 3T3, célula BHK, célula COS-7 ou qualquer outra célula hospedeira adequada conhecida na técnica. Por exemplo, a célula hospedeira é uma célula de Ovário de Hamster chinês (CHO) (por exemplo, uma célula CHO-DG44).

[0145] As sALPs e os polipeptídeos de fusão de sALP (tais como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser produzidos sob quaisquer condições adequadas para efetuar a expressão do polipeptídeo de sALP na célula hospedeira. Tais condições incluem seleção apropriada de um meio preparado com componentes como um tampão, bicarbonato e/ou HEPES, íons como cloreto, fosfato, cálcio, sódio, potássio, magnésio, ferro, fontes de carbono como açúcares simples, aminoácidos, potencialmente lipídios, nucleotídeos, vitaminas e fatores de crescimento como a insulina; meios comuns disponíveis comercialmente como alfa-MEM, DMEM, Ham-F12 e IMDM suplementados com 2-4 mM de L-glutamina e 5% de soro bovino fetal; meios comerciais livres de proteínas animais disponíveis comercialmente como Hyclone™ SFM4CHO, Sigma CHO DHFR, Cambrex POWER™ CHO CD suplementado com 2-4 mM de L-glutamina. Estes meios são desejavelmente preparados sem timidina, hipoxantina e L-glicina para manter a pressão

seletiva, permitindo a expressão estável do produto proteico.

Composições e formulações farmacêuticas

[0146] Uma composição que pode ser utilizada nos métodos descritos neste relatório descritivo (por exemplo, incluindo uma sALP ou um polipeptídeo de fusão de sALP, tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser administrada por uma variedade de métodos conhecidos na técnica. Tal como será apreciado por aqueles versados na técnica, a via e/ou modo de administração variarão dependendo dos resultados desejados. A via de administração pode depender de uma variedade de fatores, tais como o ambiente e os objetivos terapêuticos. Em particular, os polipeptídeos de fusão e polipeptídeos descritos neste relatório descritivo podem ser administrados por qualquer via conhecida na técnica, por exemplo, subcutânea (por exemplo, por injeção subcutânea), intravenosa, oral, nasal, intramuscular, sublingual, intratecal ou intradérmica. A título de exemplo, as composições farmacêuticas da invenção podem estar sob a forma de um líquido, solução, suspensão, pílula, cápsula, comprimido, gelcap, pó, gel, unguento, creme, nebulosas, névoa, vapor atomizado, aerossol ou fitossomo.

Dosagem

[0147] Qualquer quantidade de uma composição farmacêutica (por exemplo, incluindo uma sALP ou um polipeptídeo de fusão de sALP, tal como TNALP, por exemplo

o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser administrada a adultos com HPP (por exemplo, adultos com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tais como adultos com HPP de início pediátrico) ou adolescentes com HPP (por exemplo, adolescentes com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). As dosagens dependerão de muitos fatores, incluindo o modo de administração e a idade do paciente. Por exemplo, os polipeptídeos de sALP (tais como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) descritos neste relatório descritivo podem ser administrados a um paciente com HPP, tal como um adulto com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade), em doses individuais, variando, por exemplo, de 0,01 mg/kg a 500 mg/kg do paciente (por exemplo, de 0,05 mg/kg a 500 mg/kg, de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg, de 5 mg/kg a 500 mg/kg, de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg, de 10 mg/kg a 100 mg/kg, de 0,1 mg/kg a 50 mg/kg, 0,5 mg/kg a 25 mg/kg, 1,0 mg/kg a 10 mg/kg, de 1,5 mg/kg a 5 mg/kg, ou de 2,0 mg/kg a 3,0 mg/kg) ou de 1 µg/kg a 1.000 µg/kg (por exemplo, de 5 µg/kg a 1.000 µg/kg, de 1 µg/kg a 750 µg/kg, de 5 µg/kg a 750 µg/kg, de 10 µg/kg a 750 µg/kg, de 1 µg/kg a 500 µg/kg, de 5 µg/kg a 500 µg/kg, de 10 µg/kg a 500 µg/kg, de 1 µg/kg

a 100 µg/kg, de 5 µg/kg a 100 µg/kg, de 10 µg/kg a 100 µg/kg, de 1 µg/kg a 50 µg/kg, de 5 µg/kg a 50 µg/kg ou de 10 µg/kg a 50 µg/kg do paciente).

[0148] Doses exemplares de uma sALP incluem, por exemplo, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250 ou 500 mg/kg; ou 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 900 ou 1.000 µg/kg. Em particular, composições (por exemplo, incluindo uma sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa)) de acordo com a presente descrição podem ser administradas a pacientes em doses variando de cerca de 0,001 mg/kg/dia a cerca de 500 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 mg/kg/dia a cerca de 100 mg/kg/dia, ou de cerca de 0,01 mg/kg/dia a cerca de 20 mg/kg/dia. Por exemplo, as composições de sALP (tais como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser administradas a pacientes numa dosagem semanal que varia, por exemplo, de cerca de 0,5 mg/kg/semana a cerca de 140 mg/kg/semana, por exemplo, de cerca de 0,8 mg/kg/semana a cerca de 50 mg/kg/semana, ou de cerca de 1 mg/kg/semana a cerca de 10 mg/kg/semana (por exemplo, cerca de 6 ou cerca de 9 mg/kg/semana). Em particular, a sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência

com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser administrada numa dosagem de 2 mg/kg três vezes por semana (dose total 6 mg/kg/semana), 1 mg/kg seis vezes por semana (dose total 6 mg/kg/semana), 3 mg/kg três vezes por semana (dose total 9 mg/kg/semana), 0,5 mg/kg três vezes por semana (dose total de 1,5 mg/kg/semana) ou 9,3 mg/kg três vezes por semana (dose total 28 mg/kg/semana). A dose será adaptada pelo médico de acordo com os fatores convencionais, como o nível de propagação da doença e os diferentes parâmetros do paciente com HPP, tal como um adulto com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade).

[0149] Dosagens de composições incluindo sALPs e polipeptídeos de fusão de sALP (tais como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser fornecidas em regimes de dose única ou múltipla. As doses podem ser administradas, por exemplo, de hora em hora, de duas em duas horas, diariamente, de dois em dois dias, duas vezes por semana, três vezes por semana, quatro vezes por semana, cinco vezes por semana, seis vezes por semana, semanalmente, quinzenalmente, mensalmente, de dois em dois meses ou anualmente. Alternativamente, as doses podem ser administradas, por exemplo, duas vezes, três vezes, quatro vezes, cinco vezes, seis vezes, sete vezes, oito

vezes, nove vezes, 10 vezes, 11 vezes ou 12 vezes por dia. Em particular, o regime de dosagem é uma vez por semana. A duração do regime de dosagem pode ser, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ou 30 dia(s), semana(s) ou mês(es), ou mesmo pelo resto da vida do paciente com HPP, tal como um adulto com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade). A quantidade, frequência e duração da dosagem será adaptada pelo médico de acordo com os fatores convencionais, tais como o nível de propagação da doença e os diferentes parâmetros do paciente com HPP, tal como um adulto com HPP (por exemplo, um adulto com HPP com cerca de 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade).

[0150] Por exemplo, uma sALP ou um polipeptídeo de fusão de sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser formulado como uma solução injetável, que é uma solução aquosa límpida, incolor a ligeiramente amarelada, pH 7,4. A sALP ou polipeptídeo de sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por

exemplo, asfotase alfa) pode ser formulado a uma concentração de 12 mg/0,3 mL, 18 mg/0,45 mL, 28 mg/0,7 mL, 40 mg/1 mL ou 80 mg/0,8 mL. Em particular, a composição pode ser formulada como uma solução injetável de 40 mg/ml, na qual cada ml da solução contém 40 mg de sALP ou polipeptídeo de sALP (por exemplo, cada frasco contém 0,3 ml de solução e 12 mg de sALP (40 mg/ml), cada frasco contém 0,45 ml de solução e 18 mg de sALP (40 mg/ml), cada frasco contém 0,7 ml de solução e 28 mg de sALP (40 mg/ml) ou cada frasco contém 1,0 ml de solução e 40 mg de asfotase alfa (40 mg/ml)). Uma sALP ou polipeptídeo de sALP (tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser formulado como uma solução injetável a uma concentração de 100 mg/ml, na qual cada 1 ml de solução contém 100 mg de sALP ou polipeptídeo de sALP (por exemplo, cada frasco contém 0,8 ml de solução e 80 mg de asfotase alfa (100 mg/ml)). O volume da sALP injetada no paciente pode ser, por exemplo, 0,15 ml, 0,18 ml, 0,20 ml, 0,23 ml, 0,25 ml, 0,28 ml, 0,30 ml, 0,33 ml, 0,35 ml, 0,38 ml, 0,40 ml, 0,43 ml, 0,45 ml, 0,48 ml, 0,50 ml, 0,63 ml, 0,75 ml, 0,88 ml ou 1,00 ml.

[0151] Por exemplo, a dosagem recomendada de uma sALP ou polipeptídeo de fusão de sALP ((tal como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) é de 2 mg/kg de peso corporal administrado por via subcutânea

três vezes por semana, ou um regime de dosagem de 1 mg/kg de peso corporal administrado por via subcutânea seis vezes por semana. Informações adicionais de dosagem são fornecidas abaixo (Tabela 1). Em particular, um paciente de 40 kg administrado com uma dosagem de 6 mg/kg/semana receberia uma injeção de 80 mg da sALP em 0,8 ml três vezes por semana ou 40 mg da sALP em 1,00 ml seis vezes por semana, enquanto um paciente de 50 kg administrado com uma dosagem de 6 mg/kg/semana receberia uma injeção de 50 mg da sALP em 0,05 ml seis vezes por semana.

Tabela 1. DOSAGEM DE ASFOTASE ALFA

Peso Corporal (kg)	Se injetar 3x por semana			Se injetar 6x por semana		
	Dose a ser injetada	Volume a ser injetado	Tipo de frasco usado para injeção	Dose a ser injetada	Volume a ser injetado	Tipo de frasco usado para injeção
3	6 mg	0.15 ml	0.3 ml			
4	8 mg	0.20 ml	0.3 ml			
5	10 mg	0.25 ml	0.3 ml			
6	12 mg	0.30 ml	0.3 ml	6 mg	0.15 ml	0.3 ml
7	14 mg	0.35 ml	0.45 ml	7 mg	0.18 ml	0.3 ml
8	16 mg	0.40 ml	0.45 ml	8 mg	0.20 ml	0.3 ml
9	18 mg	0.45 ml	0.45 ml	9 mg	0.23 ml	0.3 ml
10	20 mg	0.50 ml	0.7 ml	10 mg	0.25 ml	0.3 ml
11	22 mg	0.55 ml	0.7 ml	11 mg	0.28 ml	0.3 ml
12	24 mg	0.60 ml	0.7 ml	12 mg	0.30 ml	0.3 ml
13	26 mg	0.65 ml	0.7 ml	13 mg	0.33 ml	0.45 ml
14	28 mg	0.70 ml	0.7 ml	14 mg	0.35 ml	0.45 ml
15	30 mg	0.75 ml	1 ml	15 mg	0.38 ml	0.45 ml
16	32 mg	0.80 ml	1 ml	16 mg	0.40 ml	0.45 ml
17	34 mg	0.85 ml	1 ml	17 mg	0.43 ml	0.45 ml
18	36 mg	0.90 ml	1 ml	18 mg	0.45 ml	0.45 ml
19	38 mg	0.95 ml	1 ml	19 mg	0.48 ml	0.7 ml
20	40 mg	1.00 ml	1 ml	20 mg	0.50 ml	0.7 ml
25	50 mg	0.50 ml	0.8 ml	25 mg	0.63 ml	0.7 ml
30	60 mg	0.60 ml	0.8 ml	30 mg	0.75 ml	1 ml
35	70 mg	0.70 ml	0.8 ml	35 mg	0.88 ml	1 ml
40	80 mg	0.80 ml	0.8 ml	40 mg	1.00 ml	1 ml
50				50 mg	0.50 ml	0.8 ml
60				60 mg	0.60 ml	0.8 ml
70				70 mg	0.70 ml	0.8 ml
80				80 mg	0.80 ml	0.8 ml
90				90 mg	0.90 ml	0.8 ml (x2)
100				100 mg	1.00 ml	0.8 ml (x2)

Formulações

[0152] As composições incluindo sALPs e polipeptídeos de fusão de sALP (tais como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser formuladas de acordo com métodos padrão. A formulação

farmacêutica é uma técnica bem estabelecida, e é adicionalmente descrita em, por exemplo, Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª Edição, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN: 0683306472); Ansel et al. (1999) *Pharmaceutical Dosage Forms e Drug Delivery Systems*, 7ª Edição, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN: 0683305727); e Kibbe (2000) *Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association*, 3ª Edição (ISBN: 091733096X). Por exemplo, uma composição de sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser formulada, por exemplo, como uma solução tamponada a uma concentração adequada e adequada para armazenamento a 2-8°C (por exemplo, 4°C). Uma composição pode também ser formulada para armazenamento a uma temperatura abaixo de 0°C (por exemplo, -20°C ou -80°C). Uma composição pode ainda ser formulada para armazenamento por até 2 anos (por exemplo, um mês, dois meses, três meses, quatro meses, cinco meses, seis meses, sete meses, oito meses, nove meses, 10 meses, 11 meses, 1 ano, 1½ anos ou 2 anos) a 2-8 ° C (por exemplo, 4 ° C). Assim, as composições descritas neste relatório descritivo podem permanecer estáveis em armazenamento durante pelo menos 1 ano a 2-8°C (por exemplo, 4°C).

[0153] As composições incluindo sALPs e polipeptídeos de fusão de sALP (tais como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da

SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser formuladas de várias formas. Essas formas incluem, por exemplo, formas de dosagem líquidas, semissólidas e sólidas, tais como soluções líquidas (por exemplo, soluções injetáveis e infusíveis), dispersões ou suspensões, comprimidos, pílulas, pós, lipossomas e supositórios. A forma preferencial pode depender, em parte, do modo de administração e da aplicação terapêutica pretendida.

[0154] Por exemplo, composições destinadas a distribuição sistêmica ou local podem estar sob a forma de soluções injetáveis ou infusíveis. Consequentemente, as composições (tais como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser formuladas para administração por via parenteral (por exemplo, injeção subcutânea, intravenosa, intraperitoneal ou intramuscular).

[0155] As composições incluem sALPs e polipeptídeos de fusão de sALP (tais como TNALP, por exemplo o polipeptídeo de fusão de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem ser formuladas como uma solução, microemulsão, dispersão, lipossoma ou outra estrutura ordenada adequada para armazenamento estável em alta concentração. As soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas incorporando a composição descrita neste relatório descritivo na quantidade necessária em um solvente apropriado com um ou uma combinação dos ingredientes enumerados acima, conforme necessário,

seguido pela esterilização por filtração. Geralmente, as dispersões são preparadas por meio da incorporação da composição descrita aqui em um excipiente estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes necessários daqueles acima enumerados. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos para preparação incluem secagem sob vácuo e liofilização que produzem um pó de uma composição aqui descrita mais qualquer ingrediente adicional desejado (ver abaixo) a partir de uma solução previamente esterilizada por filtração. A fluidez apropriada de uma solução pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento como lecitina, pela manutenção do tamanho de partícula necessário no caso da dispersão e pelo uso de surfactantes. A absorção prolongada das composições injetáveis pode ser provocada pela inclusão, na composição, de um agente que retarda a absorção, por exemplo, sais de monoestearato e gelatina.

[0156] As composições descritas neste relatório descritivo também podem ser formuladas em composições de imunolipossomas. Tais formulações podem ser preparadas por métodos conhecidos na técnica tais como, por exemplo, os métodos descritos em Epstein et al. (1985) *Proc Natl Acad Sei USA* 82: 3688; Hwang et al. (1980) *Proc Natl Acad Sei EUA* 77: 4030; e as Patentes US Nos. 4,485,045 e 4,544,545. Os lipossomas com tempo de circulação aumentado são divulgados na Patente US No. 5,013,556.

[0157] Composições incluindo sALPs e polipeptídeos de fusão de sALP (tais como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP de SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com

pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) podem também ser formuladas com um carreador que proteja a composição (por exemplo, um polipeptídeo de sALP ou polipeptídeo de fusão de sALP) contra liberação rápida, tal como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes e sistemas de distribuição microencapsulados. Polímeros biodegradáveis e biocompatíveis podem ser usados, tais como etileno vinil acetato, polianidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres e ácido polilático. Vários métodos para a preparação de tais formulações e dispositivos são conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, JR Robinson (1978) *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, Inc., Nova York.

[0158] Quando as composições tiverem que ser usadas em combinação com um segundo agente ativo, as composições podem ser co-formuladas com o segundo agente, ou as composições podem ser formuladas separadamente da formulação do segundo agente. Por exemplo, as respectivas composições farmacêuticas podem ser misturadas, por exemplo, imediatamente antes da administração, e administradas em conjunto ou podem ser administradas separadamente, por exemplo, ao mesmo tempo ou em momentos diferentes.

Carreadores/veículos

[0159] Preparações contendo uma sALP ou polipeptídeo de fusão de sALP (tal como TNALP, por exemplo, o polipeptídeo de sALP da SEQ ID NO: 1 ou uma variante polipeptídica com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 1, por exemplo, asfotase alfa) pode ser fornecido

a pacientes com HPP, como um adulto com HPP (por exemplo, um adulto com HPP de cerca 18 anos ou mais de idade, tal como um adulto com HPP de início pediátrico) ou um adolescente com HPP (por exemplo, um adolescente com HPP com cerca de 13 anos de idade a cerca de 17 anos de idade), em combinação com solventes, suspensões ou emulsões aquosas ou não aquosas estéreis farmaceuticamente aceitáveis. Exemplos de solventes não aquosos são propilenoglicol, polietilenoglicol, óleo vegetal, óleo de peixe e ésteres orgânicos injetáveis. Os carreadores aquosos incluem água, soluções água-álcool, emulsões ou suspensões, incluindo veículos parenterais médicos salinos e tamponados, incluindo solução de cloreto de sódio, solução de dextrose de Ringer, dextrose mais solução de cloreto de sódio, solução de Ringer contendo lactose ou óleos fixos. Por exemplo, o carreador farmaceuticamente aceitável pode incluir cloreto de sódio e/ou fosfato de sódio, em que a composição inclui, por exemplo, cerca de 150 mM de cloreto de sódio e/ou cerca de 25 mM de fosfato de sódio, pH 7,4.

[0160] Os veículos intravenosos podem incluir repositores de fluido e nutrientes, repositores de eletrólitos, tais como aqueles baseados na dextrose de Ringer e similares. Sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser incluídos, por exemplo, sais ácidos de minerais, tais como cloridratos, bromidratos, fosfatos, sulfatos e similares; e os sais de ácidos orgânicos, tais como acetatos, propionatos, malonatos, benzoatos e similares. Adicionalmente, substâncias auxiliares, tais como agentes umectantes ou emulsionantes, substâncias tamponantes de pH e similares,

podem estar presentes em tais veículos. Uma discussão completa de carreadores farmaceuticamente aceitáveis está disponível em *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Pub. Co., N.J. 1991).

[0161] Os seguintes exemplos destinam-se a ilustrar, em vez de limitar, a divulgação. Estes estudos incluem a administração de asfotase alfa (SEQ ID NO: 1) a adultos com HPP, tais como adultos com HPP de início pediátrico com cerca de 18 anos ou mais de idade, ou adolescentes com HPP, uma análise dos sintomas de HPP nestes pacientes após a administração de asfotase alfa e deficiências físicas associadas à doença por um longo período de tempo.

Exemplo 1. Tratamento de pacientes com hipofosfatasia de início pediátrico (HPP) com Asfotase Alfa

[0162] Adolescentes e adultos com hipofosfatasia (HPP) de cerca de 12 anos a cerca de 66 anos de idade participaram do estudo para determinar a eficácia, segurança e tolerabilidade do tratamento com uma fosfatase alcalina solúvel (sALP) (asfotase alfa; SEQ ID NO: 1). Uma análise de subpopulação de 12 adultos com hipofosfatasia (HPP) de início pediátrico com cerca de 18 anos a cerca de 66 anos de idade foi realizada para investigar melhorias bioquímicas e funcionais do tratamento com asfotase alfa. Durante um estudo de fase inicial durante 6 meses, 9 adultos com HPP receberam tratamento com asfotase alfa (o grupo de tratamento) e 3 adultos com HPP não receberam tratamento com asfotase alfa (o grupo de controle). A idade mediana do início dos sintomas de HPP no grupo de controle foi de 3 anos de idade, com um mínimo de 0,8 anos de idade e máximo de 4 anos de idade,

enquanto a mediana de início dos sintomas de HPP no grupo de tratamento foi de 2 anos de idade, com um mínimo de 0,1 anos de idade e um máximo de 4 anos de idade (Tabela 2, grupos de tratamento de dosagem (2,1 mg/kg/semana e 3,5 mg/kg/semana) foram combinados para todos os resultados). Os dados são expressos como mediana (mín., máx.), salvo indicação em contrário). Um total de 2 dos adultos de controle eram do sexo feminino (67%) e 7 dos adultos tratados eram do sexo feminino (78%).

Tabela 2. Características de linha de base para pacientes com HPP de início pediátrico antes do tratamento com asfotase alfa.

Característica	**Trabalho inicial de grupo**		**Geral (N=12)**
	Controle (n=3)	**Tratamento combinado (n=9)**	
Idade durante a inscrição, anos	21 (13, 58)	55 (14, 66)	53 (13, 66)
Idade durante a inscrição, anos	54 (26, 58)	56 (45, 66)	55 (26, 66)
Categoria de idade durante a inscrição, n	3 (100)	9 (100)	12 (100)

(%) Adulto (idade ≥18 anos)			
Idade durante o início dos sintomas, anos (mín., máx.)	3 (0,8, 4)	2 (0,1, 13)	2,5 (0,1, 13)
Categoria de idade durante o início dos sintomas, n (%) <18 anos de idade	3 (100)	9 (100)	12 (100)
Feminino, n (%)	2 (67)	7 (78)	9 (75)

[0163] Os pacientes com HPP selecionados para tratamento com asfotase alfa apresentaram níveis séricos de ALP abaixo da faixa normal ajustada por idade, concentrações plasmáticas de piridoxal 5'-fosfato (PLP) de pelo menos o dobro do limite superior normal e evidência de osteopenia ou osteomalácia em radiografias esqueléticas e/ou biópsias ósseas. Pacientes foram excluídos do estudo ao apresentar níveis séricos de cálcio ou fosfato abaixo da faixa normal, níveis séricos de vitamina D inferiores a 20 ng/mL, níveis de creatinina sérica ou hormônio da paratireoide acima do limite superior do normal, ou uma condição médica ou outras circunstâncias atenuantes que poderiam interferir significativamente na adesão do paciente ao protocolo do estudo.

[0164] Durante a fase inicial do tratamento com asfotase alfa durante 6 meses, 4 adultos receberam asfotase alfa na dose de 0,3 mg/kg/dia (2,1 mg/kg/semana) e 5 adultos receberam asfotase alfa na dose de 0,5 mg/kg/dia (3,5 mg/kg/semana) por via subcutânea. Os 3 pacientes do grupo de controle inicial não receberam tratamento com asfotase alfa. Após o estudo de fase inicial, tanto o tratamento quanto os pacientes do grupo de controle (12 pacientes no total) receberam tratamento com asfotase alfa. A asfotase alfa foi administrada por via subcutânea numa dose inicial de 0,5 mg/kg/dia (3,5 mg/kg/semana), que aumentou após 1 ano para 1 mg/kg/dia administrada por via subcutânea uma vez por dia durante 6 dias (6 mg/kg/semana). A dosagem de asfotase alfa foi mantida em 6 mg/kg/semana durante o restante da fase de extensão.

[0165] As métricas utilizadas durante a fase de extensão para avaliar o tratamento de adultos com HPP de início pediátrico com asfotase alfa incluíram: 1) alterações nas concentrações de pirofosfato inorgânico (PPi) e piridoxal 5'-fosfato (PLP) em amostras de plasma de pacientes para avaliar a atividade de ALP; 2) Valores do teste de caminhada de seis minutos (6MWT) para avaliar a capacidade de locomoção; e 3) Pontuações no Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, 2ª edição (BOT-2) para avaliar a função física.

Exemplo 2. Diminuição média estatisticamente significativa das concentrações plasmáticas de pirofosfato inorgânico (PPi) e piridoxal 5'-fosfato (PLP) após administração de asfotase alfa

[0166] A atividade de ALP em amostras de plasma recolhidas a partir de adultos com HPP foi avaliada quantificando as concentrações dos substratos de ALP, PPi e PLP, conforme descrito em Whyte et al., 1995 (*J. Clin. Invest.* 95(4): 1440-1445), incorporado neste relatório descritivo por referência na sua totalidade. A concentração mediana de PPi e PLP em amostras de plasma dos adultos de controle e adultos tratados com asfotase alfa foi elevada na linha de base do intervalo normal (Tabela 3). Da mesma forma, os valores de atividade da ALP foram relativamente baixos para o grupo de controle (21,0 U/L) e para o grupo tratamento (18,0 U/L) em comparação com o limite inferior da normalidade (LLN), ajustado para idade e sexo, dos valores de atividade da ALP (31 U/L para 18 a menos de 50 anos de idade ou 35 U/L para 50 a menos de 70 anos de idade).

Tabela 3. Medidas da atividade da fosfatase alcalina (ALP) e concentração plasmática de pirofosfato inorgânico (PPi) e piridoxal 5'-fosfato (PLP) para adultos com HPP de início pediátrico antes do tratamento com asfotase alfa. Todos os dados expressos como mediana (mínimo, máximo), salvo indicação em contrário. [a] *Grupos de tratamento iniciais são combinados para análise.* [b] *Adultos de controle e tratamento combinados, já que todos os adultos recebem tratamento durante a fase de extensão. LLN, limite inferior da normalidade.*

	Trabalho inicial de grupo		
Característica	**Controle não tratado**	**Tratamento combinado**	**Geral (N=12)[b]**

	(n=3)	(n=9)[a]	
ALP, U/L LLN (ajustado para idade e sexo) 18 a <50 anos: 31 (M), 31 (F) ≥50 a <70 anos: 35 (M), 35 (F)	21,0 (18,0, 26,0)	18,0 (18,0, 35,0)	18,0 (18,0, 35,0)
PPi, µM Intervalo normal 13-18a: <0,75-4,78 >18a: 1,00-5,82	5,9 (5,2, 6,6)	5,5 (2,2, 8,2)	5,7 (2,2, 8,2)
PLP, ng/mL Intervalo normal: 5-18a: 5,7-61,2 >18a: 2,8-26,7	199,0 (196,0, 474,0)	267,0 (28,8, 1270,0)	233,0 (28,8, 1270,0)

[0167] A concentração plasmática mediana de PPi foi de 5,9 µM (concentração plasmática mínima de PPi de 5,2 µM; concentração plasmática máxima de PPi de 6,6 µM) para o grupo de controle na linha de base e 5,5 µM (concentração plasmática mínima de PPi de 2,2 µM; concentração plasmática máxima de PPi de 8,2 µM) para o grupo de tratamento na linha de base (Tabela 3). As concentrações plasmáticas de PPi diminuíram após 6 meses de tratamento com asfotase alfa, conforme indicado por uma mudança mediana estatisticamente significativa desde a linha de base de -3,0 para pacientes

tratados com asfotase alfa em comparação a uma mudança de -0,3 para o grupo de controle não tratado (Fig. 1A). O valor P para a mudança mediana na concentração de PPi desde o início foi de 0,0364 com base em um teste de soma de postos de Wilcoxon exato comparando o grupo de tratamento ao grupo de controle. A análise das concentrações plasmáticas de PPi após 6 meses de tratamento com asfotase alfa para os dois grupos de dosagem diferentes mostrou que houve uma mudança mediana desde os valores iniciais de -2,870 para doentes tratados com 0,3 mg/kg/dia de asfotase alfa e -2,990 para pacientes tratados com 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa (Tabela 4, valor P baseado no teste de soma de postos de Wilcoxon exato comparando cada grupo de tratamento ao grupo de controle; estimativa e intervalo de confiança exato provêm do método de Hodges-Lehmann-Sen para deslocamento de localização na distribuição entre o grupo de tratamento e o grupo de controle).

Tabela 4. Análise estatística da concentração de PPi para adultos com HPP de início pediátrico após tratamento com asfotase alfa por 6 meses

Estatística	Grupo Controle (n=3)	Asfotase Alfa 0,3 mg/kg/dia (n=4)	Asfotase Alfa 0,5 mg/kg/dia (n=5)	Asfotase Alfa Combinados (n=9)
n	3	4	5	9

Estatística	Grupo Controle (n=3)	Asfotase Alfa 0,3 mg/kg/dia (n=4)	Asfotase Alfa 0,5 mg/kg/dia (n=5)	Asfotase Alfa Combinados (n=9)
Média (SD)	-0,060 (1,0193)	-2,790 (1,4903)	-2,258 (1,4739)	-2,494 (1,4134)
95% de CI	(-2,592, 2,472)	(-5,161, -0,419)	(-4,088, -0,428)	(-3,581, -1,408)
Mediana	-0,340	-2,870	-2,990	-2,990
Mín., Máx.	-0,91, 1,07	-4,40, -1,02	-3,18, 0,32	-4,40, 0,32
Valor P		0,0571	0,1429	0,0364
Estimativa		-2,925	-2,770	-2,640
95% de CI[b]		(NA, NA)	(-4,250, 1,230)	(-4,250, -0,110)

[0168] A concentração plasmática mediana de PLP foi de 199,0 ng/ml (concentração plasmática mínima de PLP de 196,0 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 474,0 ng/ml) para o grupo de controle na linha de base e 267,0 ng/ml (concentração plasmática mínima de PLP de 28,8 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 1270,0 ng/ml) para o grupo de tratamento na linha de base (Tabela 3). As concentrações plasmáticas de PLP diminuíram após 6 meses de tratamento com asfotase alfa, conforme indicado por uma mudança mediana estatisticamente significativa desde a linha de base de -254,5 para pacientes tratados com asfotase alfa em comparação a uma mudança de -140,0 para o grupo de controle não tratado (Fig. 1B). O valor P para a mudança mediana na concentração de PLP desde a linha de base foi de 0,0364 com base em um teste de soma de postos de Wilcoxon exato comparando o grupo de tratamento ao grupo de controle. A análise das concentrações plasmáticas de PLP após 6 meses de tratamento com asfotase alfa para os dois grupos de dosagem diferentes mostrou que houve uma mudança mediana desde a linha de base de -298,60 para pacientes tratados com 0,3 mg/kg/dia de asfotase alfa e -254,50 para pacientes tratados com 0,5 mg/kg/dia de asfotase alfa (Tabela 5, valor P baseado no teste de soma de postos de Wilcoxon exato comparando cada grupo de tratamento ao grupo de controle; estimativa e intervalo de confiança exato provêm do método de Hodges-Lehmann-Sen para deslocamento de localização na distribuição entre o grupo de tratamento e o grupo de controle).

Tabela 5. Análise estatística da concentração de PLP para

adultos com HPP de início pediátrico após tratamento com asfotase alfa por 6 meses

Estatística	Grupo Controle (N=3)	Asfotase Alfa 0,3 mg/kg/dia (N=4)	Asfotase Alfa 0,5 mg/kg/dia (N=5)	Asfotase Alfa Combinados (N=9)
n	3	4	5	9
Média (SD)	123,60 (231,037)	-301,30 (186,482)	-383,72 (492,195)	-347,09 (368,857)
95% de CI	(-50,33, 697,53)	(-598,03, -4,57)	(-994,86, 227,42)	(-630,62, -63,56)
Mediana	140,00	-298,60	-254,50	-254,50
Mín., Máx.	-115,2, 346,0	-486,4, -121,6	-1236,2, -17,2	-1236,2, -17,2
Valor P		0,0571	0,1429	0,0364
Estimativa		-419,40	-394,50	-394,50
95% de CI		(NA, NA)	(-1582,20, 98,00)	(-1121,00, -6,40)

[a] Valor P baseado no teste de soma de postos de Wilcoxon exato, comparando cada grupo de tratamento ao grupo de controle. [b] Estimativa e intervalo de confiança exato provêm do método de Hodges-Lehmann-Sen para deslocamento de localização na distribuição entre o grupo de tratamento e o

grupo de controle.

[0169] Para todas as medidas subsequentes, as concentrações plasmáticas de PPi e PLP foram combinadas para o grupo de tratamento e controle em cada ponto de tempo respectivo (6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e 6 anos de tratamento com asfotase alfa), já que o grupo de controle recebeu tratamento com asfotase alfa após a fase inicial de 6 meses. A diminuição das concentrações plasmáticas de PPi foi mantida durante toda a fase de extensão do tratamento com asfotase alfa (Fig. 2). A concentração plasmática mediana de PPi diminuiu de 5,53 µM (concentração plasmática mínima de PPi de 2,15 µM; concentração máxima de PPi plasmático de 8,20 µM) para 3,30 µM (concentração plasmática mínima de PPi de 0,75 µM; concentração plasmática PPi máxima de 5,02 µM) após 6 meses de tratamento com asfotase alfa. A concentração mediana de PPi foi de 3,74 µM em 1 ano (concentração plasmática mínima de PPi de 1,62 µM; concentração plasmática máxima de PPi de 5,40 µM); a concentração mediana de PPi foi de 2,49 µM em 2 anos (concentração plasmática mínima de PPi de 1,32 µM; concentração plasmática máxima de PPi de 10,90 µM); a concentração mediana de PPi foi de 2,09 µM em 3 anos (concentração plasmática mínima de PPi de 1,24 µM; concentração plasmática máxima de PPi de 2,94 µM); a concentração mediana de PPi foi de 2,49 µM em 4 anos (concentração plasmática mínima de PPi de 1,09 µM; concentração plasmática máxima de PPi de 4,52 µM); a concentração mediana de PPi foi de 2,2 µM em 5 anos (concentração plasmática mínima de PPi de 0,92 µM;

concentração plasmática máxima de PPi de 5,36 µM); e a concentração mediana de PPi foi de 2,60 µM em 5 anos (concentração plasmática mínima de PPi de 1,95 µM; concentração plasmática máxima de PPi de 4,84 µM). O tamanho da amostra foi de 9 adultos com HPP de início pediátrico em 6 meses, 12 adultos com HPP de início pediátrico de 1 ano até 5 anos, e 3 adultos com HPP de início pediátrico em 6 anos.

[0170] Da mesma forma, a diminuição das concentrações plasmáticas de PLP foi mantida durante toda a fase de extensão do tratamento com asfotase alfa (Fig. 3). A concentração plasmática mediana de PLP diminuiu de 267,0 ng/ml (concentração plasmática mínima de PLP de 28,8 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 1270,0 ng/ml) para 21,6 ng/ml (concentração plasmática mínima de PLP de 2,5 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 141,0 ng/ml) após 6 meses de tratamento com asfotase alfa. A concentração mediana de PLP foi de 65,1 ng/ml em 1 ano (concentração plasmática mínima de PLP de 15,9 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 367,0 ng/ml); a concentração mediana de PLP foi de 20,1 ng/ml em 2 anos (concentração plasmática mínima de PLP de 2,7 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 45,7 ng/ml); a concentração mediana de PLP foi de 14,0 ng/ml em 3 anos (concentração plasmática mínima de PLP de 2,5 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 36,2 ng/ml); a concentração mediana de PLP foi de 12,0 ng/ml em 4 anos (concentração plasmática mínima de PLP de 2,5 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 38,4 ng/ml); a concentração

mediana de PLP foi de 7,8 ng/ml em 5 anos (concentração plasmática mínima de PLP de 2,5 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 29,5 ng/ml); e a concentração mediana de PLP foi de 6,0 ng/ml em 6 anos (concentração plasmática mínima de PLP de 4,7 ng/ml; concentração plasmática máxima de PLP de 15,1 ng/ml). O tamanho da amostra foi de 9 adultos com HPP de início pediátrico em 6 meses e 1 ano, 12 adultos com HPP de início pediátrico de 2 ano até 5 anos, e 3 adultos com HPP de início pediátrico em seis anos.

Exemplo 3. Melhorias na função física e na capacidade de locomoção de pacientes com HPP de início pediátrico adulto avaliados pelo teste de caminhada de seis minutos (6MWT)

[0171] A função física e a capacidade de locomoção dos pacientes pediátricos com HPP foram avaliadas com o Teste de Caminhada de Seis Minutos (6MWT). Os pacientes tratados com asfotase alfa melhoraram de uma distância média de 315,0 metros em 6 minutos na linha de base (distância mínima de 223,0, distância máxima de 540,0) para uma distância média de 421,5 metros em 6 minutos após 1 ano de tratamento com asfotase alfa (distância mínima de 204,0, distância máxima de 640,0). Em contraste, o grupo de controle não tratado não melhorou de uma distância média de caminhada de 401,0 metros em 6 minutos na linha de base (distância mínima de 6,0, distância máxima de 440,0) para uma distância média de caminhada de 355,0 metros em 6 minutos após 6 meses de tratamento com asfotase alfa (distância mínima de 13,0, distância máxima de 420,0).

[0172] A alteração média em relação à linha de base

após 1 ano de tratamento com asfotase alfa foi uma distância de 88,0 metros percorrida em 6 minutos, enquanto a mudança mediana em relação à linha de base no grupo de controle foi de -20,0 metros em 6 minutos após 6 meses sem tratamento (Tabela 6). Esta alteração inclui os 3 pacientes no grupo de controle que não conseguiram andar os 6 minutos completos na linha de base. A alteração média da linha de base de 6MWT para o grupo tratado foi de 17,6% com um aumento de 62,8% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 42,4%, valor máximo previsto de 6MWT 101,3%) na linha de base para 85,0% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 31,1%, valor máximo previsto de 6MWT de 121,3%) após 1 ano de tratamento com asfotase alfa. Em contraste, a alteração média da linha de base de 6MWT para o grupo de controle não tratado foi de -6,2 com diminuição de 85,8% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 79,1%, valor máximo previsto de 6MWT de 92,4%) na linha de base até 79,6% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 70,4%, valor máximo previsto do 6MWT de 88,7%) após 1 ano de tratamento com asfotase alfa. Além disso, a alteração em relação à linha de base do valor previsto de 6MWT em 6 meses entre os controles e os pacientes com HPP de início pediátrico tratados com asfotase alfa foi estatisticamente significativa (p = 0,04). Assim, pacientes com HPP após 1 ano de tratamento com asfotase exibiram uma melhora estatisticamente significativa na capacidade de andar, enquanto a capacidade de andar dos pacientes do grupo controle piorou ou não melhorou.

Tabela 6. A distância percorrida em seis minutos para adultos

com HPP de início pediátrico após tratamento com asfotase alfa por 6 meses

	Controle não tratado		**Tratamento combinado**	
	Metros (n = 3)	% Previsto (n = 2)	Metros[a] (n = 9)	% Previsto[b] (n = 8)
Linha de Base	401,0 (6,0, 440,0)	85,8 (79,1, 92,4)	315,0 (223,0, 540,0)	62,8 (42,4, 101,3)
Acompanhamento (controle: 6 meses; tratado: 1 ano)	355,0 (13,0, 420,0)	79,6 (70,4, 88,7)	421,5 (204,0, 640,0)	85,0 (31,1, 121,3)
Alteração média da linha de base	20,0 (-46,0, 7,0)	-6,2 (-8,7, -3,7)	88,0 (-123,0, 197,0)	17,6 (-23,1, 29,8)

[a]n = 12 com dados em 1 ano. [b]n = 10 com dados em 1 ano e n = 9 com dados para alteração da linha de base.

[0173] Para os valores de 6MWT após a linha de base, os valores de 6MWT foram combinados para o grupo de tratamento e controle em cada tempo (1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e 6 anos de tratamento com asfotase alfa), já que o grupo de controle recebido tratamento com asfotase alfa após a fase inicial de 6 meses. A mudança no 6MWT representou um aumento de 62,9% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 42,4%, valor máximo previsto de 6MWT 101,3%; n = 8) na linha de base para 80,8% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 46,0%, valor máximo

previsto de 6MWT de 109,0%; n = 8) após 6 meses de tratamento com asfotase alfa (Fig. 4). O aumento no valor de 6MWT foi sustentado durante o tratamento com asfotase alfa em 85% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 31,1%; valor máximo previsto de 6MWT de 121,3%; n = 10) após 1 ano; 91,8% do valor previsto do 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 63,3%; valor máximo previsto de 6MWT de 120,8%; n = 9) após 2 anos; 93,5% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 64,7%; valor máximo previsto de 6MWT de 121,6%; n = 8) após 3 anos; 91,7% do valor previsto do 6MWT (valor mínimo previsto de 6MWT de 59,0%; valor máximo previsto de 6MWT de 133,4%; n = 8) após 4 anos; e 85,1% do valor previsto de 6MWT (valor mínimo previsto do 6MWT de 61,5%; valor máximo previsto de 6MWT de 137,4%; n = 8) após 5 anos. Em resumo, o valor de 6MWT dos pacientes com HPP tratados com asfotase alfa melhorou de 76% do valor previsto de 6MWT na linha de base para 80,8% do valor previsto de 6MWT, que está dentro da faixa normal de indivíduos saudáveis da mesma idade e altura, por 6 meses. A melhoria no valor de 6MWT foi mantida ao longo de 4 anos de tratamento com asfotase alfa.

Exemplo 4. Melhorias na Função Física de Pacientes com HPP de Início Pediátrico Adultos Avaliados com o Teste de Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora, 2ª Edição (BOT-2)

[0174] A função física e os comprometimentos dos pacientes com HPP foram avaliados com teste de velocidade de corrida e de agilidade e teste de força do Teste Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora, 2ª Edição (BOT-2). Os

testes BOT-2 para avaliar a velocidade de corrida e agilidade dos pacientes com HPP incluíram a corrida de 50 pés, caminhadas laterais sobre a trave de equilíbrio e saltos laterais com uma e duas pernas. Os testes de BOT-2 para avaliar a força dos pacientes com HPP incluíram abdominais, v-ups, salto em distância em pé, agachamento contra parede e flexões. As pontuações totais de velocidade e agilidade do BOT-2 e as pontuações totais de força do BOT-2 foram, então, determinadas a partir da soma dos pontos concedidos por testes de BOT-2 para cada intervalo de tempo (linha de base, 6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e 6 anos). Para os pontos de BOT-2 após a linha de base, os pontos de BOT-2 foram combinados para o grupo de tratamento e controle em cada tempo (6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos, 5 anos e 6 anos de tratamento com asfotase alfa), já que o grupo de controle recebido tratamento com asfotase alfa após a fase inicial de 6 meses.

[0175] As pontuações totais de velocidade e agilidade do BOT-2 melhoraram após 6 meses de tratamento com asfotase alfa de uma pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 mediana de 6 (pontuação mínima de BOT-2 de 0; pontuação máxima de BOT-2 de 27; n = 9) na linha de base até 10,5 (pontuação mínima de BOT-2 de 5; pontuação máxima de BOT-2 de 27; n = 8) aos 6 meses (Fig. 5). A melhoria na pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 mediana foi mantida durante toda a fase de extensão do tratamento com asfotase alfa, com pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 mediana de 9,0 (escore mínimo de BOT-2 de 4; pontuação de 35, n = 11) em 1

ano; uma pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 mediana de 10,0 (pontuação mínima de BOT-2 de 3; pontuação máxima de 33; n = 11) aos 2 anos; uma pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 mediana de 10,0 (pontuação mínima de BOT-2 de 4; pontuação máxima de 30; n = 10) aos 3 anos; uma pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 mediana de 9 (pontuação mínima de BOT-2 de 4; pontuação máxima de 31; n = 11) aos 4 anos; e pontuação total de velocidade de corrida e agilidade de BOT-2 mediana de 8,0 (pontuação mínima de BOT-2 de 0; pontuação máxima de 35; n = 9) aos 5 anos. As pontuações totais de força BOT-2 melhoraram após 6 meses de tratamento com asfotase alfa de uma pontuação total de força de BOT-2 mediana de 12 (pontuação mínima de BOT-2 de 2; pontuação máxima de 30; n = 5) na linha de base até 14 (pontuação mínima BOT-2 de 8, pontuação máxima de 35, n = 5) aos 6 meses (Fig. 6).

Exemplo 5. Melhorias na Mineralização Óssea de Pacientes com HPP com Início Pediátrico Adultos após Administração de Asfotase Alfa

[0176] A absortometria de raios X de dupla energia (DXA) foi realizada na linha de base e 6 meses para pacientes controle não tratados e no início e 1 ano para pacientes tratados com asfotase alfa no colo do fêmur, coluna lombar e corpo inteiro. Em adultos com HPP de início pediátrico, os pacientes tratados apresentaram aumentos da linha de base na densidade mineral óssea da coluna lombar (BMD) após 6 meses de administração de asfotase alfa. Um aumento estatisticamente significativo na BMD da coluna lombar foi

observado após seis meses de tratamento com asfotase alfa (Tabela 7).

Tabela 7. Densidade mineral óssea da coluna lombar para adultos com HPP de início pediátrico na linha de base do estudo após o tratamento com asfotase alfa por 12 meses

	Grupo controle não tratado (n = 3)	**Tratamento Combinado (n = 9)**
Densidade Mineral Óssea da Coluna Lombar (g/cm^2)		
Linha de Base	1,0947 (0,39910)	1,1853 (0,22806)
Acompanhamento (6 meses)	1,1127 (0,37064)	1,2128 (0,21789)
Alteração média da linha de base	0,0180 (0,02858)	0,0262 (0,01861)
Intervalo de confiança de 95% para alteração média da linha de base	(-0,053, 0,089)	(0,011, 0,042)

[0177] As biópsias ósseas também foram realizadas na linha de base e 6 meses para pacientes controle não tratados e na linha de base e 1 ano para pacientes tratados com asfotase alfa para determinar o volume e a espessura do osteoide (Tabela 8) e o tempo de atraso de mineralização (Tabela 9). Reduções estatisticamente significativas no volume osteoide/volume ósseo (%) e espessura osteoide (µm) foram observadas após um ano de tratamento com asfotase alfa. Esse teste foi significativamente mais invasivo do que o teste DXA.

Tabela 8: Volume osteoide/volume ósseo e espessura osteoide em adultos com HPP de início pediátrico no início após o tratamento com asfotase alfa por 12 meses

	Grupo controle não tratado (n = 3)	**Tratamento combinado (n = 9)**
Volume osteoide/volume ósseo (%)		
Linha de Base	9,2 (4,1)	7,6 (4,2)
Acompanhamento (controle: 6 meses; tratado: 1 ano)	9,4 (3,9)	5,4 (4,5)
Alteração média da linha de base	0,2 (3,2)	-3,8(-0,5)
Intervalo de confiança de 95% para alteração média da linha de base	(-7,7, 8,1)	(-3,8, -0,5)
Espessura de osteoide (µm)		
Linha de Base	11,2 (0,6)	10,2 (5,1)
Acompanhamento (controle: 6 meses; tratado: 1 ano)	9,0 (1,4)	8,3 (4,8)
Alteração média da linha de base	-2,2 (2,0)	-1,8 (1,9)
Intervalo de confiança de 95% para alteração média da linha de base	(-7,1, 2,8)	(-3,3, -0,4)

[0178] Na linha de base, o tempo de atraso de mineralização foi prolongado para todos os pacientes com HPP, embora incluísse um alto grau de variabilidade entre pacientes. Tal variabilidade é esperada para esse tipo de medição e teste histomorfométrico. Após o tratamento com asfotase alfa durante 1 ano, o tempo de atraso de mineralização foi reduzido no grupo de tratamento com uma alteração média da linha de base de -696 dias em relação ao grupo de controle não tratado, com uma alteração média da linha de base de 65 dias aos 6 meses. Esses resultados mostram que a administração de asfotase alfa em pacientes com HPP de início pediátrico adultos promove a mineralização óssea.

Tabela 9: Tempo de atraso de mineralização para adultos com HPP de início pediátrico na linha de base após o tratamento com asfotase alfa por 12 meses

	Grupo controle não tratado (n = 3)	**Tratamento combinado (n = 9)**
Tempo de atraso de mineralização (dias)		
Linha de Base	456 (261), 2	964 (1212), 6
Acompanhamento (controle: 6 meses; tratado: 1 ano)	369 (264), 3	436 (486), 7
Alteração média da linha de base	65 (270), 2	-696 (1069), 6

Intervalo de confiança de 95% para alteração média da linha de base	(-1506,1460)	(-1818, 426)

Exemplo 6. Projeto de Estudo de Tratamento de Adolescentes e Adultos com HPP com Asfotase Alfa

[0179] Adolescentes e adultos com HPP com cerca de 13 anos a cerca de 65 anos de idade participaram de um estudo para determinar a eficácia, segurança e tolerabilidade do tratamento com um sALP (asfotase alfa; Fig. 7). Durante a fase inicial do tratamento com asfotase alfa durante 6 meses, um total de 19 doentes foram aleatorizados para receber asfotase alfa na dose de 0,3 mg/kg/dia (2,1 mg/kg/semana; n = 7) via administração subcutânea 0,5 mg/kg/dia (3,5 mg/kg/semana; n = 6) via administração subcutânea ou nenhum tratamento (n = 6) no grupo controle (Fig. 8). Após o estudo de fase inicial de 6 meses, tanto o tratamento quanto os pacientes do grupo controle receberam tratamento com asfotase alfa na dose de 0,5 mg/kg/dia (3,5 mg/kg/semana) por via subcutânea. Após os primeiros 6 meses da fase de extensão, a dose foi aumentada para 1 mg/kg/dia durante 6 dias/semana (6 mg/kg/semana) para todos os pacientes sob uma emenda ao protocolo. Os critérios de inclusão e exclusão do estudo estão descritos na Tabela 10. A demografia dos pacientes e as características iniciais para os adolescentes e adultos com HPP, incluindo a história relacionada à doença de HPP, estão resumidas na Tabela 11.

Tabela 10: Principais critérios de inclusão e exclusão para estudo de adolescentes e adultos com HPP tratados com

asfotase alfa

Critérios de inclusão essenciais	**Critérios de exclusão chaves**
• ≥13 a ≤65 anos de idade • Diagnóstico clínico pré-estabelecido de HPP, com início em qualquer idade com base em: - Fosfatase alcalina sérica baixa, ajustada para a idade do paciente - Alto piridoxal-5'-fosfato PLP (≥2 × limite superior do normal)[a] - Evidência de osteopenia ou osteomalacia na radiografia esquelética[b] • Osteomalacia na biópsia óssea (pontuação-Z de tempo de atraso de mineralização ≥ +2)[c]	• Baixo teor de cálcio ou fosfato sérico • Baixa 25 (OH) vitamina D sérica (<20 ng/mL)[d] • Alta creatinina sérica ou hormônio da paratireoide (PTH) ou tratamento com PTH dentro de 6 meses • Uso de bisfosfonatos dentro de 2 anos da entrada no estudo (por qualquer período de tempo) ou por >2 anos em qualquer período de estudo[e]

[a]Sem vitamina administrada B_6 por uma ≥ 1 semana antes da determinação dos níveis de PLP.

[b]Osteomalacia confirmada por biópsia óssea

[c]O tratamento não foi retido até a biópsia ser lida, mas todos os pacientes foram confirmados por biópsia como tendo osteomalácia.

[d]Os pacientes que falharem na triagem devido a níveis baixos podem ser reexaminados após a suplementação, a critério do investigador.

[e]Pacientes com utilização prévia de bifosfonatos permitida devem ter níveis de C-telopeptídeos séricos e N-telopeptídeos ou deoxipiridinolina na urina dentro dos limites normais ou elevados.

Tabela 11. Características demográficas e de base para adolescentes e adultos com HPP tratados com asfotase alfa

	Geral[a] (N = 19)	Trabalho de grupo do período de tratamento primário	
		Grupo de controle (n = 6)	Grupo de tratamento com asfotase alfa[b] (n = 13)
Demografia			
Idade na inscrição, ano, mediana (mín., máx.)	**53 (13, 66)**	21 (13, 58)	55 (14, 66)
Categoria de idade durante a inscrição Adolescente (idade 13-<18 anos) Adulto (idade ≥ 18 anos)	**6 (32)** **13 (68)**	3 (50) 3 (50)	3 (23) 10 (77)
Idade no início dos sintomas, ano,	**2,0(0, 36)**	0,9(0,2, 4)	2,0 (0, 36)

mediana (mín., máx.)			
Categoria de idade no início dos sintomas, n (%) <18 anos ≥18 anos	**18 (95)** **1 (5)[c]**	6 (100) 0 (0)	12 (92) 1 (8)[c]
Feminino, n (%)	**12 (63)**	2 (33)	10 (77)
Branco	**18 (95)**	5 (83)	13 (100)
Histórico médico específico de HPP			
Pacientes com fraturas, n (%) Número de fraturas, mediana (mín., máx.)	**18 (95)** **6,0 (1, 30)**	6 (100) 5,0 (1, 8)	12 (92) 9,5 (1, 30)
Severidade da dor óssea, n (%) Limitar a atividade Requer analgésicos	**18 (95)** **16 (84)**	5 (83) 5 (83)	13 (100) 11 (85)
Queixas musculares, n (%) Fraqueza Dor	**17 (90)** **14 (74)**	5 (83) 4 (67)	12 (92) 10 (77)
Reclamações nas juntas, n (%) Dor Inchaço	**17 (90)** **7 (37)**	5 (83) 2 (33)	12 (92) 5 (39)
Andar incomum, n (%)	**15 (79)**	4 (67)	11 (85)
Dispositivos de assistência para	**5 (26)**	2 (33)	3 (23)

deambulação, n (%)			
Craniossinostose, n (%)	**3 (16)**	0	3 (23)
Perda prematura de dentes decíduos, n (%)	**16 (84)**	5 (83)	11 (85)
Perda de dentes adultos, n (%) Dentes adultos restantes, mediana (mín., máx.)	**8 (42)** **24 (0, 30)**	1 (17) 26 (0, 28)	7 (54) 23 (0, 30)
Hipercalcemia, n (%)	**6 (32)**	3 (50)	3 (23)
Hiperfosfatemia, n (%)	**6 (32)**	2 (33)	4 (31)
Gota, n (%)	**5 (26)**	2 (33)	3 (23)
Pedras nos rins, n (%)	**4 (21)**	2 (33)	2 (15)

[a]Combinado, pois todos os pacientes recebem tratamento na fase de extensão.

[b]Grupos de tratamento com alfa de alfotase agrupados para análise.

[c] Um paciente inicialmente categorizado como portador de HPP adulto foi posteriormente determinado como tendo sinais e sintomas de HPP na infância.

ALP = fosfatase alcalina; HPP = hipofosfatasia.

[0180] Métricas utilizadas durante a fase de extensão para avaliar o tratamento de adolescentes HPP e adultos com asfotase alfa incluíram: 1) alterações nas concentrações de pirofosfato inorgânico (PPi) e piridoxal 5'-fosfato (PLP) em amostras de plasma de pacientes para avaliar a atividade de ALP; 2) Valores do teste de caminhada de seis minutos (6MWT) para avaliar a capacidade de locomoção; 3) Pontuações

Bruininks-Oseretsky Teste de Proficiência Motora, 2ª Edição (BOT-2) para avaliar a função física; 4) Dinamômetro de Mão (HHD) para avaliar a força; 5) Lower Functional Scale (LEFS) para avaliar a incapacidade; e 6) Inventário Breve de Dor - Forma Curta (BPI-SF) para avaliar a dor.

[0181] Análises de eficácia foram realizadas no conjunto completo de análise da população com intenção de tratar, que incluiu todos os pacientes randomizados; todos os pacientes receberam o tratamento para o qual foram randomizados. Comparações entre grupos foram feitas entre o grupo tratado com asfotase alfa e o grupo controle no período inicial de tratamento. As análises também foram realizadas pela duração da exposição à asfotase alfa até 5 anos; para os pacientes do grupo de controle, o tratamento com asfotase alfa começou 6 meses depois, no início da fase de extensão. Para as medidas de desfecho de alterações nas concentrações plasmáticas de PPi e PLP da linha de base até o sexto mês, as comparações entre o grupo tratado com asfotase alfa e o grupo controle foram feitos usando um teste de soma de postos de Wilcoxon para cada parâmetro usando um alfa de 2 lados de 0,05; os valores omissos foram imputados usando a última observação transportada. Para o 6MWT, o valor preditivo percentual (%), definido como a porcentagem da distância prevista normal percorrida com base na idade, sexo e altura, foi calculado se o paciente percorresse os 6 minutos completos no início do estudo.

Exemplo 7. Redução mediana das concentrações de PPi e PLP após administração de Asfotase Alfa a HPP Adultos e Adolescentes

[0182] A atividade de ALP em amostras de plasma recolhidas a partir de adolescentes e adultos com HPP foi avaliada quantificando as concentrações dos substratos de ALP, PPi e PLP, conforme descrito em Whyte et al., 1995 (*J. Clin. Invest.* 95(4): 1440-1445). Houve uma mudança maior em ambas as concentrações plasmáticas de PPi (-2,2 µm) e PLP (-254,5 ng/ml) de pacientes HPP adolescentes e adultos tratados com asfotase alfa em relação ao grupo controle após 6 meses (Fig. 9A e 9B, respectivamente). A diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa para as alterações na PLP plasmática (P = 0,0285), mas não para as alterações no plasma PPi (P = 0,0715). Análises de sensibilidade post-hoc, que excluíram um paciente no grupo controle com uma concentração de PPi de linha de base elevada (12,1 µM), mostraram uma redução estatisticamente significativa na concentração plasmática de PPi no mês 6 no grupo asfotase alfa comparado com o grupo controle (P = 0,0044). Diminuições na mediana em concentrações de PPi e PLP de plasma de pacientes com HPP adolescentes e adultos foram mantidas ao longo de cinco anos de tratamento com asfotase alfa (Fig. 10A e 10B, respectivamente).

Exemplo 8. Melhorias na função física e na capacidade de locomoção de pacientes com HPP adolescente e adultos avaliados pelo teste de caminhada de seis minutos (6MWT)

[0183] A função física e capacidade de locomoção dos adolescentes e adultos com HPP foi avaliada com o teste de Caminhada de Seis Minutos (6MWT). Para os valores de 6MWT após a linha de base, os valores de 6MWT foram combinados para o grupo de tratamento e controle em cada ponto no tempo

(1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos e 5 anos de tratamento com asfotase alfa) devido ao fato de que o grupo controle foi trocado e começou a receber tratamento com asfotase alfa após a fase inicial de 6 meses. O grupo de controle original iniciou o tratamento com asfotase alfa aos seis meses após o grupo tratado. A linha de base para todas as análises foi a última avaliação antes dos pacientes receberem a primeira dose de asfotase alfa. O valor de 6MWT previsto foi calculado apenas se o paciente percorresse os seis minutos completos. Três pacientes inicialmente designados para o grupo controle não foram incluídos no % de análise prevista, devido ao fato de que esses pacientes foram incapazes de caminhar os 6 minutos completos na linha de base devido a comprometimento físico e/ou cognitivo. Na medida de linha de base, 5 dos 19 pacientes estavam usando dispositivos de assistência ambulatorial (n = 3, grupo asfotase alfa; n = 2, grupo controle).

[0184] Os pacientes com HPP adolescentes e adultos tratados com asfotase alfa melhoraram de 355 metros (distância mínima de 10 metros; distância máxima de 620 metros) no início do tratamento para 450 metros (distância mínima de 280 metros; distância máxima de 707 metros) após seis meses de tratamento com asfotase alfa (Fig. 11A). Da mesma forma, a distância 6MWT prevista % mediana aumentou de 76% do previsto na linha de base (mínimo de 42%, máximo de 101%) para 85% (mínimo de 29%, máximo de 109%) após seis meses de tratamento com asfotase alfa (Fig. 11B). A melhora na distância de 6MWT caminhada e % de distância de 6MWT prevista foram mantidos durante cinco anos de tratamento com

asfotase alfa. Após dois anos de tratamento com asfotase alfa, todos os cinco pacientes que usaram dispositivos auxiliares de ambulatório melhoraram: um progrediu de cadeira de rodas para muletas, um de andador para bengala, um de andador com rodas para deambulação independente e dois de bengala para deambulação independente.

[0185] Uma análise post hoc também foi realizada para avaliar os resultados do 6MWT em adolescentes com HPP (n = 4) e adultos com HPP de início pediátrico (n = 9) antes e após o tratamento com asfotase alfa. A confiabilidade teste-reteste do 6MWT foi avaliada calculando-se o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as distâncias de 6MWT nos pontos no tempo de triagem em relação à linha de base e os valores de P bilateral foram calculados (teste exato hipótese nula: r = 0). A confiabilidade teste-reteste foi analisada separadamente para adolescentes de 13 a 17 anos de idade e adultos maiores de 18 anos. Os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre a distância caminhada nos pontos de tempo de triagem em relação à linha de base foram 0,81 (P = 0,1250) para pacientes adolescentes com HPP (Fig. 12A) e 0,94 (P = 0,0001) para pacientes com HPP de início pediátrico adultos (Fig. 12B). A diferença clinicamente importante mínima (MCID) para o 6MWT de pacientes adolescentes com HPP (n = 4) e adultos com HPP de início pediátrico (n = 9) foi calculada usando métodos baseados na distribuição aplicados a pontos no tempo de triagem e dados de 6MWT de linha de base. A análise post hoc atual usou as metodologias baseadas na distribuição do erro padrão de medição (SEM) e do desvio padrão 1/3 (SD) para estimar o MCID. As estimativas mais

conservadoras do MCID foram de 43 metros para adolescentes (método SEM; n = 4) e 31 metros para adultos (método SD; n = 9) com HPP de início pediátrico que completaram o 6MWT em pontos no tempo de triagem e linha de base.

Exemplo 9. Melhorias na Função Física de Pacientes com HPP Adolescente e Adultos Avaliados com o Teste de Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora, 2ª Edição (BOT-2)

[0186] A função física e os comprometimentos dos adolescentes e adultos com HPP foram avaliados com teste de velocidade de corrida e de agilidade e teste de força do Teste Bruininks-Oseretsky de Proficiência Motora, 2ª Edição (BOT-2). Os testes BOT-2 para avaliar a velocidade de corrida e agilidade dos pacientes com HPP incluíram a corrida de 50 pés, caminhadas laterais sobre a trave de equilíbrio e saltos laterais com uma e duas pernas. Os testes de BOT-2 para avaliar a força dos pacientes com HPP incluíram abdominais, v-ups, salto em distância em pé, agachamento contra parede e flexões. As pontuações totais de velocidade e agilidade do BOT-2 e as pontuações totais de força do BOT-2 foram, então, determinadas a partir da soma dos pontos concedidos por testes de BOT-2 para cada intervalo de tempo (linha de base, 6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos e 5 anos). Para os pontos de BOT-2 após a linha de base, os pontos de BOT-2 foram combinados para o grupo de tratamento e controle em cada tempo (6 meses, 1 ano, 2 anos, 3 anos, 4 anos e 5 anos de tratamento com asfotase alfa), devido ao fato de que o grupo de controle recebido tratamento com asfotase alfa após a fase inicial de 6 meses. A mediana da pontuação total de velocidade e agilidade de BOT-2 para adultos e adolescentes

com HPP foi de 6,5 (mínimo de 0 e máximo de 39) na linha de base e melhorou em 4,0 (mínimo de -5, máximo de 18) após 5 anos de tratamento com asfotase alfa (Fig. 13). A pontuação mediana do ponto de força total de BOT-2 foi de 13,5 (mínimo de 0, máximo de 33) no início do tratamento e melhorou de 3,5 (mínimo de -9 e máximo de 9) após cinco anos de tratamento com asfotase alfa (Fig. 13).

Exemplo 10. Melhorias na aderência e na força muscular de pacientes adolescentes e adultos com HPP avaliados com dinamometria manual (HHD)

[0187] A aderência e força muscular dos adolescentes e adultos HPP foi avaliada usando Dinamômetro de Mão (Hand Held Dynamometry, HHD). Os seguintes grupos musculares bilaterais foram testados pela administração de HHD: pega, flexores de joelho, extensores de joelho, flexores de quadril, extensores de quadril e abdutores de quadril. Força foi relatada em libras. As medidas foram avaliadas em libras (força), convertidas para Newtons (N) e o torque foi calculado em Newton metros (NM) usando o comprimento do membro. O torque foi usado para determinar as pontuações percentuais de HHD previstas com base na idade, sexo e peso em pacientes com menos de 16 anos de idade e a força foi usada para as pontuações percentuais de HHD previstas em adultos.

[0188] Os valores medianos para o percentual de abdução do quadril em HHD para pacientes adolescentes e adultos com HPP (n = 13) foram de 45,60% na linha de base do estudo (mínimo de 9,1%, máximo de 126,2%). A melhoria da força nos músculos proximais do quadril foi observada em pacientes com

HPP tratados com asfotase alfa após 24 semanas de tratamento com asfotase alfa. A variação média no percentual de valor previsto (lado dominante) da linha de base para a semana 24 foi de 11,10% (mínimo de -25,7%, máximo de 20,4%) no grupo tratado com asfotase alfa em comparação a 6,70% (mínimo de -7,1%, máximo de 12,0%) no grupo controle para abdução de quadril. A variação média no percentual de valor previsto (lado dominante) da linha de base para a semana 24 foi de 7,95% (mínimo de 12,6%, máximo de 19,5%) no grupo tratado com asfotase alfa, em comparação a 1,90% (mínimo de 15,0%, máximo de 11,2%) no grupo controle para extensão de quadril.

[0189] Os pacientes com HPP adolescentes e adultos tratados com asfotase alfa apresentaram melhora na abdução do quadril após tratamento com asfotase alfa em 48 semanas (variação de mediana de 11,00% do previsto (mínimo de -15,0, máximo de 30,5%)), 96 semanas (variação de mediana de 11,95% previsto (mínimo de -14,0%, máximo de 47,2%)), 144 semanas (variação de mediana de 17,05% prevista (mínimo de -6,7%, máximo de 55,5%)), 192 semanas (variação de mediana de 19,45% prevista (mínimo de -24,2%, máximo de 94,7%)) e 240 semanas (variação de mediana de 9,80% prevista (mínimo de -7,2%, máximo de 155,2%)). Os pacientes com HPP adolescentes e adultos tratados com asfotase alfa apresentaram melhora na extensão do quadril após tratamento com asfotase alfa em 24 semanas (variação de mediana de 6,20% prevista (mínimo de -12,6%, máximo de 19,5%)), 48 semanas (variação de mediana de 4,90% prevista (mínimo de 1,7%, máximo de 27,7%)), 96 semanas (variação de mediana de 6,75% prevista (mínimo de -24,1%, máximo de 31,2%)), 144 semanas (variação de mediana de 15,40%

prevista (mínimo de -15,6%, máximo de 45,2%)), 192 semanas (variação de mediana de 17,10% prevista (mínimo de -3,2%, máximo de 50,2%)), e 240 semanas (variação de mediana de 12,40% prevista (mínimo de -9,2%, máximo de 45,1%)). Os pacientes com HPP adolescentes e adultos tratados com asfotase alfa apresentaram melhora na abdução do quadril após 240 semanas de tratamento com asfotase alfa. Os pacientes com HPP adolescentes e adultos tiveram uma variação de mediana na extensão do joelho de 16,05% do previsto (mínimo de 7,1%, máximo de 40,7%)) e na flexão do joelho de 14,30% do previsto (mínimo de 2,1%, máximo de 68,0%).

Exemplo 11. Melhorias na Deficiência Funcional nas Extremidades Inferiores de Pacientes com HPP Adolescentes e Adultos Avaliados com Escala Funcional de Extremidade Inferior (LEFS)

[0190] A deficiência funcional nas extremidades inferiores dos adolescentes e adultos HPP foi avaliada usando a Escala Funcional de Extremidade Inferior (LEFS). Um fisioterapeuta licenciado administrou a avaliação de LEFS a pacientes com HPP em formato de entrevista. As pontuações totais da LEFS variam de 0 a 80, com maiores pontuações indicativas de melhor funcionamento dos membros inferiores. A média da linha de base e a pontuação de LEFS mediana foram muito menores no grupo controle do que no grupo combinado de asfotase alfa. Houve uma melhora na pontuação de LEFS do grupo de tratamento com asfotase alfa combinado em pacientes com HPP adolescentes e adultos em comparação ao grupo controle sem tratamento (Tabela 12). Uma melhoria clinicamente significativa (aumento de ≥9 pontos) da linha

de base até a semana 24 foi observada em 1 de 5 pacientes (20,0%) no grupo controle, em comparação a 4 de 13 (30,8%) pacientes com HPP tratados com asfotase alfa.

Tabela 12. Melhoria em Pontuações de Deficiência Funcional de Escala Funcional de Extremidade Inferior (LEFS) de Pacientes com HPP de Linha de Base na Semana 24 do Tratamento com Asfotase Alfa

Visita	**Parâmetro**	**Grupo Controle (N = 6)**	**Asfotase Alfa 0,3 mg/kg (N = 7)**	**Asfotase Alfa 0,5 mg/kg (N = 6)**	**Asfotase Alfa Combinada (N = 13/19)**
Linha de Base	n	5	7	6	13
	Média (SD)	35,8 (4,66)	40,0 (25,04)	41,7 (15,62)	40,8 (20,39)
	Mediana	35,0	28,0	36,0	35,0
	Mín., Máx.	30, 41	17, 78	29, 70	17, 78
Semana 24	n	4	7	6	13
	Média (SD)	42,0 (12,73)	52,3 (21,05)	44,8 (21,07)	48,8 (20,53)
	Mediana	37,5	58,0	47,5	53,0
	Mín., Máx.	33, 60	22, 78	22, 77	22, 78
Alterar da linha de base para a semana 24	n	4	7	6	13
	Média (SD)	5,5 (13,70)	12,3 (17,13)	3,2 (13,09)	8,1 (15,51)
	Mediana	2,0	5,0	5,5	5,0

Visita	**Parâmetro**	**Grupo Controle (N = 6)**	**Asfotase Alfa 0,3 mg/kg (N = 7)**	**Asfotase Alfa 0,5 mg/kg (N = 6)**	**Asfotase Alfa Combinada (N = 13/19)**
	Mín., Máx.	-7, 25	-2, 40	-15, 23	-15, 40
	valor p*	–	–	–	0,7248

* Valor P baseado no teste dos postos de Wilcoxon comparando o grupo de tratamento ao grupo controle.

[0191] Durante o tratamento com asfotase alfa, 14 de 18 doentes (77,8%) com dados de pontuação de LEFS de linha de base tiveram um aumento (melhora) na pontuação de LEFS total da linha de base até cinco anos de tratamento com asfotase alfa. Além disso, 8 de 18 pacientes no total (44,4%) demonstraram uma melhora clinicamente significativa (≥ 9 pontos) na pontuação de LEFS em sua avaliação final em comparação à pontuação de LEFS de linha de base. A alteração média da linha de base de referência para todos os 18 doentes até à última exposição global à asfotase alfa foi de 7,5 (desvio padrão de 13,33).

Exemplo 12. Dor em pacientes com HPP adolescentes e adultos avaliados com o Questionário de Inventário Resumido da Dor (BPI-SF)

[0192] A dor com HPP adolescentes e adultos foi avaliada usando o Questionário de Inventário Resumido da Dor (BPI-SF). As pontuações do BPI-SF dos adolescentes e adultos portadores de HPP são um composto de 11 avaliações de dor. Não houve aumento médio entre a linha de base e a semana 24

na pontuação de BPI-SF combinado dos adolescentes e adultos com HPP (Tabela 13). A mudança de média e mediana da linha de base até a semana 24 nas pontuações de BPI-SF foram semelhantes entre os adolescentes e adultos com HPP tratados com asfotase alfa e o grupo controle.

Tabela 13 Sem Alteração no Pontuações de Questionário de Inventário Resumido da Dor (BPI-SF) dos Pacientes com HPP da Linha de Base até a Semana 24 do Tratamento com Asfotase Alfa

Visita	**Parâmetro**	**Grupo Controle (N = 6)**	**Asfotase Alfa 0,3 mg/kg (N = 7)**	**Asfotase Alfa 0,5 mg/kg (N = 6)**	**Asfotase Alfa Combinada (N = 13/19)**
Linha de Base	n	6	7	6	13
	Média (SD)	12,3 (7,17)	10,3 (10,78)	17,8 (8,18)	13,8 (10,07)
	Mediana	12,0	8,0	20,0	15,0
	Mín., Máx.	5, 25	0, 30	3, 25	0, 30
Semana 24	n	4	7	6	13
	Média (SD)	10,3 (6,60)	6,0 (7,16)	15,2 (8,82)	10,2 (8,98)
	Mediana	10,0	3,0	16,0	7,0
	Mín., Máx.	3, 18	0, 21	4, 26	0, 26
Alterar da linha de base para a	n	4	7	6	13
	Média (SD)	-4,0 (6,00)	-4,3 (7,04)	-2,7 (6,38)	-3,5 (6,51)
	Mediana	-3,0	-3,0	-0,5	-2,0
	Mín.	-11, 1	-17, 3	-11, 4	-17, 4

Visita	**Parâmetro**	**Grupo Controle (N = 6)**	**Asfotase Alfa 0,3 mg/kg (N = 7)**	**Asfotase Alfa 0,5 mg/kg (N = 6)**	**Asfotase Alfa Combinada (N = 13/19)**
semana 24	, Máx.				
	valor p*	–	–	–	0,7315

* Valor P baseado no teste dos postos de Wilcoxon comparando o grupo de tratamento ao grupo controle.

[0193] Durante o tratamento com asfotase alfa durante cinco anos, os valores de BPI-SF para adolescentes e adultos com HPP e pacientes de controle foram consistentes aos observados durante o período inicial de tratamento de 24 semanas. Por 96 semanas (N = 19) e 144 semanas (N = 17) de tratamento com asfotase alfa, a melhoria mediana foi de -4,0 (intervalo: -13, 11) e -4,0 (intervalo: -24, 9) para os adolescentes e adultos com HPP tratados com asfotase alfa e pacientes controle, respectivamente. Em 192 semanas (N = 15) e 240 semanas (N = 16) de tratamento com asfotase alfa, a melhora de mediana foi de -3,0 (variação: -20, 8) e -3,5 (variação de -20, 5) para adolescentes e adultos com HPP e pacientes de controle, respectivamente. Assim, adolescentes e adultos com HPP não apresentaram aumento da dor após o tratamento com asfotase alfa por cerca de 5 anos.

Exemplo 13. Tolerabilidade ao Tratamento a Longo Prazo com Asfotase Alfa

[0194] Geralmente, o tratamento com asfotase alfa foi bem tolerado em adolescentes e adultos com HPP, com a maioria dos eventos adversos (AEs) consistindo em reações no local

da injeção (ISRs) e artralgia. Avaliações de segurança incluíram monitoramento contínuo de eventos adversos (AEs), incluindo ISRs e reações associadas à injeção (IARs). As ISRs foram localizadas no local da administração e ocorreram em qualquer momento após o início do tratamento com asfotase alfa. As IARs incluíam sinais, sintomas ou achados sistêmicos (por exemplo, urticária generalizada ou prurido, hipotensão ou desconforto respiratório) que ocorreram dentro de 3 horas após a administração de asfotase alfa.

[0195] Não ocorreram mortes durante o tratamento com asfotase alfa. Apenas um paciente se retirou devido a hipersensibilidade no local da injeção e reação anafilactoide (1 episódio cada). Todos os pacientes tiveram pelo menos um evento adverso emergente de tratamento (TEAE) durante o estudo; a maioria dos TEAEs foi leve (864/1145 (75%)) ou moderado (229/1145 (20%)) em intensidade. Os TEAEs de artralgia, eritema no local da injeção, dor em uma extremidade, dor nas costas, hematoma no local de injeção, dor óssea, descoloração do local da injeção, calcificações oftalmológicas, dor musculoesquelética, edema periférico, tontura, fratura no pé, reação no local de injeção, edema articular infecção do trato respiratório, dor de cabeça, dor no local da injeção, nasofaringite, tosse, queda, atrofia no local da injeção, prurido no local da injeção, dor no procedimento, sinusite, fadiga, inchaço no local da injeção, hipertrofia no local da injeção, náuseas, dor orofaríngea, osteoartrite, parestesia e a dor traumática foram relatados em mais de três pacientes com HPP (Tabela 14).

Tabela 14. O evento adverso emergente de tratamento (TEAEs)

ocorrendo em mais de três pacientes com HPP durante o tratamento com asfotase alfa

TEAE (termo preferido)	**Pacientes, n (%) N = 19**
Artralgia	13 (68)
Eritema no local da injeção	13 (68)
Dor na extremidade	12 (63)
Dor nas costas	10 (53)
Hematoma no local de injeção	10 (53)
Dor nos ossos	9 (47)
Descoloração no local da injeção	9 (47)
Calcificações oftalmológicas[a]	9 (47)
Dor musculoesquelética	8 (42)
Edema periférico	8 (42)
Tontura	7 (37)
Fratura no pé	7 (37)
Reação no local da injeção	7 (37)
Inchaço nas articulações	7 (37)
Infecção no trato respiratório superior	7 (37)
Dor de cabeça	6 (32)
Dor no local de injeção	6 (32)
Nasofaringite	6 (32)
Tosse	5 (26)
Queda	5 (26)
Atrofia do local de injeção	5 (26)
Prurido no local da injeção	5 (26)

Dor processual	5 (26)
Sinusite	5 (26)
Fadiga	4 (21)
Inchaço do local de injeção	4 (21)
Hipertrofia do local de injeção	4 (21)
Náusea	4 (21)
Dor orofaríngea	4 (21)
Osteoartrite	4 (21)
Parestesia	4 (21)
Dor pós-traumática	4 (21)

[a]TEAE inclui os termos preferidos "olho de depósito" e "depósito de conjuntiva".

[0196] As TEAEs mais comuns foram ISRs (385/1145 (34%)), que ocorreram em todos os pacientes; ISRs mais comuns (≥5% dos ISRs) foram eritema (121/385 (31%)), descoloração (66/385 (17%)), ISR não especificada (56/385 (15%)), hematoma (33/385 (9%)), dor (26/385 (7%)) e prurido (20/385 (5%)). Um total de dois pacientes experimentaram TEAES que foram categorizadas como IARs de hipersensibilidade (hipoestesia oral e calafrios em um paciente; reação anafilactoide em um paciente), todos considerados de intensidade moderada. Um total de 29 AEs sérios (SAEs) emergentes do tratamento foram relatados para 9 pacientes e 8 SAEs relatados para dois pacientes foram avaliados pelo investigador como relacionados à administração de asfotase alfa (hipoestesia oral, calafrios, dor nos membros e cefaleia em um paciente e reação de hipersensibilidade e reação anafilactoide em um paciente). No geral, a administração de

asfotase alfa foi bem tolerada nos adolescentes e adultos com HPP.

Exemplo 14. Resultados Farmacodinâmicos do Estudo de Fase 2a, Aleatorizados, Multicêntrico, Aberto, de Dosagem de Asfotase Alfa em Adultos com HPP Pediátrico

[0197] Em estudos em pacientes com idades entre os 6 e os 12 anos e em adolescentes e adultos com HPP, a asfotase alfa diminuiu os níveis circulantes de PPi e PLP e melhorou os resultados funcionais. A asfotase alfa foi aprovada nos Estados Unidos, Europa e Japão para o tratamento de HPP em pacientes de todas as idades com HPP de início pediátrico na dose recomendada de 2,0 mg/kg 3 vezes por semana ou 1,0 mg/kg 6 vezes por semana. Nos Estados Unidos, essa dose pode ser aumentada para 3,0 mg/kg 3 vezes por semana, quando o médico acreditar que a eficácia seja insuficiente.

[0198] A farmacodinâmica, a farmacocinética e a segurança/tolerabilidade da asfotase alfa foram avaliadas em adultos com HPP de início pediátrico em 3 doses em um intervalo de 6 vezes, suportando uma dose atualmente recomendada de 2,0 mg/kg, 3 vezes por semana. A farmacodinâmica e a segurança/tolerabilidade foram medidas.

[0199] Os pacientes elegíveis incluíram homens e mulheres não grávidas com idade ≥ 18 anos com HPP de início pediátrico e diagnóstico de HPP, conforme indicado por uma história documentada de anormalidades esqueléticas relacionadas a HPP e um ou mais dos seguintes: mutações documentadas do gene TNSALP (*ALPL*), atividade da fosfatase alcalina sérica abaixo da faixa normal ajustada por idade e PLP acima do limite superior da normalidade na triagem

(resultados históricos para PLP podem ser usados para determinar a elegibilidade do paciente; o critério para PLP plasmática não foi aplicável para pacientes recebendo piridoxina tratamento), PPi plasmático ≥3,9 µM no rastreio e sem tratamento com asfotase alfa nos 3 anos seguintes à entrada no estudo.

[0200] O projeto e tratamento do estudo foi um estudo de dose-resposta, aberto, com duração de 13 semanas, Fase 2a, multicêntrico, randomizado e aberto. Após a triagem, um período de pré-tratamento inicial permitiu amostragem para análise de substrato. Os pacientes foram então randomizados 1:1:1 para uma dose única de asfotase alfa (0,5, 2,0 ou 3,0 mg/kg) administrada por via subcutânea (SC) durante a semana 1. Os pacientes não receberam asfotase alfa durante a semana 2. A asfotase alfa foi, então, administrada da Semana 3 à Semana 9 numa dose de 0,5, 2,0 ou 3,0 mg/kg SC 3 vezes por semana (equivalente a 1,5, 6,0 ou 9,0 mg/kg/semana) (Fig. 14).

[0201] As medidas de resultado farmacodinâmico foram alterações no PPi plasmático (primário) e PLP (secundário) da linha de base até pré-3ª dose (vale) na Semana 9, onde a linha de base foi definida como a média de todas as avaliações antes da primeira injeção SC com asfotase alfa. Amostras de sangue para medição de plasma PPi e PLP foram coletadas durante a triagem, pré-tratamento, semana 1, semana 9 e semana 13 na clínica. Amostras de sangue para as Semanas 2-8 e Semanas 10-12 podem ser coletadas na clínica ou em casa. Outros desfechos secundários incluíram segurança/tolerabilidade e parâmetros farmacocinéticos. Os

resultados farmacodinâmicos e de segurança/tolerabilidade são relatados.

[0202] As principais hipóteses testaram se as diferenças na mudança da linha de base no plasma PPi entre as coortes diferiram de zero na pré-3ª dose na Semana 9. Para controlar a multiplicidade, um procedimento de teste de sequência fixa foi usado para determinar primeiro a diferença entre as coortes de 3,0 e 0,5 mg/kg e, apenas se isso fosse estatisticamente significativo, para determinar a diferença entre as coortes de 2,0 e 0,5 mg/kg. Um erro de tipo I de 5% bilateral foi usado ao realizar o teste de significância (P<0,05). O desfecho primário foi atingido se a hipótese nula foi rejeitada para ambas as comparações ao nível de teste de significância de 0,05 (P<0,05 para ambos). A análise primária foi realizada usando um modelo misto de medidas repetidas com base em Máxima Verossimilhança Restrita (REML) para estimar a mudança da linha de base para a semana 9 (pré-3ª dose; dia 61). Esse modelo usado resulta de amostras pré-dose obtidas na Semana 4 (Dia 22), Semana 5 (Dia 29), Semana 7 (Dia 43), Semana 8 (Dia 50), Semana 9 (Dia 57) e Semana 9 (Dia 61). O ponto no tempo pré-dose da Semana 3 (Dia 15) não foi incluído, uma vez que foi recolhido após um período de eliminação de 2 semanas após a dose única e esperava-se que produzisse valores semelhantes aos da Linha de Base. Seguindo o protocolo, as avaliações farmacodinâmicas não foram coletadas na semana 6. A análise incluiu covariáveis para o efeito categórico fixo de visita, coorte de tratamento, PPi de Linha de base, sexo, grupo de peso de linha de base (≥ mediana vs. < mediana) e designação do lote de drogas do

estudo. Uma estrutura de covariância não estruturada foi usada para modelar os erros intra-paciente e a aproximação de Kenward-Roger foi usada para estimar os graus de denominador de liberdade.

[0203] Dos 35 pacientes selecionados, 27 foram incluídos e completaram o estudo. As características demográficas e de base da doença estão resumidas na Tabela 15. Entre as coortes de 3 doses, a idade mediana foi de 45,0 anos (intervalo: 18-77) e a maioria dos pacientes era branca (96%) e feminina (59%).

Tabela 15. Características de HPP Demográficas e de Linha de Base

	Coorte de 0,5 mg/kg de AA (n = 8)	**Coorte de 2,0 mg/kg de AA (n = 10)**	**Coorte de 3,0 mg/kg de AA (n = 9)**	**AA de total (N = 27)**
Idade na inscrição, ano, mediana (intervalo)	44,5 (18-64)	42,5 (24-77)	55,0 (24-69)	45,0 (18-77)
Sexo, n (%)	3 (38)	4 (40)	4 (44)	11 (41)
Masculino	5 (63)	6 (60)	5 (56)	16 (59)
Etnia, n (%)				
Branco	7 (88)	10 (100)	9 (100)	26 (96)
Múltiplo	1 (13)	0	0	1 (4)
Altura, cm, média (SD)	161 (14)	163 (7)	163 (9)	163 (10)

Peso, kg, média (SD)	89 (24)	73 (13)	85 (19)	82 (20)
Forma de HPP, n (%)[a]				
Perinatal ou infantil	0	1 (10)	1 (11)	2 (7)
Infância	3 (38)	5 (50)	4 (44)	12 (44)
Perinatal, infantil ou infância	5 (63)	4 (40)	4 (44)	13 (48)
Sequência de mutação do gene ALPL, n (%)[b]	7 (88)	9 (90)	9 (100)	25 (93)
Categoria de mutação genética, n (%)				
Homozigótico	0	1 (10)	0	1 (4)
Heterozigótico	2 (25)	3 (30)	4 (44)	9 (33)
Heterozigoto composto	5 (63)	5 (50)	5 (56)	15 (56)
Não disponível	1 (13)	1 (10)	0	2 (7)
História de alta PLP usada para diagnóstico de HPP na triagem, n (%)	7 (88)	9 (90)	8 (89)	24 (89)

PPi de Linha de base, µM, média (SD)[c]	5,4 (1,6)	5,3 (1,2)	5,0 (0,9)	5,2 (1,2)
PLP de Linha de base, ng/mL, média (SD)[d]	309,5 (349,2)	382,1 (385,9)	229,5 (321,4)	309,7 (347,0)
ALP de Linha de base, U/L, média (SD)[e]	20,1 (4,2)	20,4 (6,6)	25,6 (20,5)	22,0 (12,5)

[a]Com base na coleta categórica da idade ao primeiro sinal/sintoma.

[b] Análise de mutação genética realizada como parte do estudo em um laboratório central.

[c]Intervalo normal para PPi: 0,75-4,78 µM para pacientes com idade de 13-18 anos e 1,00-5,82 para pacientes com idade de >18 anos.

[d]Intervalo normal para PLP: 5,74-61,15 ng/mL para pacientes com idade de 6-18 anos e 2,81-26,70 ng/mL para pacientes com idade de >18 anos.

[e]Intervalo normal para ALP: 60-270 U/L para pacientes macho com idade de 16-19 anos, 40-120 U/L para pacientes machos com idade de >19 anos, e 40-120 U/L para pacientes fêmea >15 anos. Para análise, os valores abaixo de LLOQ de 18 U/L foram definidos para 18 U/L.

AA = asfotase alfa; ALP = fosfatase alcalina; HPP = hipofosfatasia; TNSALP = fosfatase alcalina não específica de tecido; PLP = piridoxal 5'-fosfato; PPi = pirofosfato inorgânico; SD = desvio padrão.

[0204] Observaram-se diferenças significativas entre as

alterações da média dos quadrados mínimos (LSM) no PPi de linha de base até pré-3ª dose na Semana 9 (Tabela 16 e Fig. 15). Também foram observadas diferenças significativas entre as alterações de LSM em PLP da linha de base até pré-3ª dose na Semana 9 (Tabela 16 e Fig. 16).

Tabela 16. Mudança média em PPi e PLP da linha de base para a pré-3ª na semana 9

	Coorte de 0,5 mg/kg de AA (n = 8)[a]	**Coorte de 2,0 mg/kg de AA (n = 10)[a]**	**Coorte de 3,0 mg/kg de AA (n = 9)[a]**
PPi, µM			
Linha de base, média (SD)	5,4 (1,6)	5,3 (1,2)	5,0 (0,9)
Pré-3ª dose na Semana 9, média (SD)[b]	3,1 (0,7)	1,9 (0,6)	1,1 (0,3)[c]
LSM, mudar da linha de base (SE)[d]	-2,6 (0,2)	-3,8 (0,2)	-4,5 (0,2)
PLP, ng/mL			
Linha de base, média (SD)	309,5 (349,2)	382,1 (385,9)	229,5 (321,4)
Pré-3ª dose na Semana 9, média (SD)[b]	40,7 (45,8)	13,0 (9,5)	4,8 (4,4)

LSM, mudar da linha de base (SE)[d]	-304,0 (0,4)	-333,4 (8,1)	-338,0 (8,5)

[a]Doses administradas 3 vezes por semana durante o período de múltipla dosagem.

[b]Amostra de pré-3ª na Semana 9 foi coletada no Dia 61.

[c]Um paciente não teve nenhum resultado

[d]A partir da análise primária do modelo misto de medidas repetidas de máxima verossimilhança restrita.

AA = asfotase alfa; CI = intervalo de confiança; LSM = média dos quadrados mínimos; PLP = piridoxal 5'-fosfato; PPi = pirofosfato inorgânico; SD = desvio padrão; SE = erro padrão.

[0205] Com relação à segurança e tolerabilidade, os eventos adversos emergentes de tratamento (TEAEs) observados em ≥5 pacientes em geral são apresentados na Tabela 17. Por exemplo, as reações no local de injeção (137 eventos em 21 pacientes) foram mais comuns nos coortes de 2,0 e 3,0 mg/kg. Lipodistrofia foi observada (2 eventos em 1 paciente no coorte de 2,0 mg/kg). Calcificações ectópicas (4 eventos em 4 pacientes; 2 cada nos coortes de 2,0 e 3,0 mg/kg) foram observados no rim (2 pacientes; 1 em cada 2,0 e 3,0 mg/kg coortes), olho (1 paciente no 2,0 mg/kg de coorte) e fígado (1 paciente na coorte de 3,0 mg/kg). Reações de hipersensibilidade também foram observadas (4 eventos em 1 paciente no coorte de 2,0 mg/kg). No geral, 99% (480/485) dos TEAEs foram de intensidade leve ou moderada. Não foram relatados a TEAEs sérios e nenhum paciente retirou-se do

estudo devido a TEAEs.

Tabela 17. Eventos Adversos Emergentes do Tratamento em ≥5 Pacientes

	Coorte de 0,5 mg/kg de AA (n = 8)[a]		**Coorte de 2,0 mg/kg de AA (n = 10)[a]**		**Coorte de 3,0 mg/kg de AA (n = 9)[a]**		**Geral (N = 27)**	
TEAE	**Eventos, n**	**Pacientes, n (%)**	**Eventos, n**	**Pacientes, n (%)**	**Eventos, n**	**Pacientes, n (%)**	**Eventos, n**	**Pacientes, n (%)**
Dor na extremidade	7	4 (50)	1	5 (50)	0	4 (44)	8	13 (48)
Artralgia	3	2 (25)	2	4 (40)	5	5 (56)	0	11 (41)
Dor de cabeça	0	3 (38)		3 (30)		5 (56)	6	11 (41)
Fadiga		3 (38)	1	4 (40)		3 (33)	5	10 (37)
Eritema no local da injeção		2 (25)		3 (30)		4 (44)	2	9 (33)

Reação no local da injeção		1 (13)	1	3 (30)	8	4 (44)	3	8 (30)
Dor nas costas	3	4 (50)		1 (10)		2 (22)	9	7 (26)
Dor nos ossos		2 (25)		3 (30)		2 (22)		7 (26)
Eritema		2 (25)		3 (30)		1 (11)	3	6 (22)
Dor no local de injeção		2 (25)		1 (10)		3 (33)		6 (22)
Náusea		2 (25)		1 (10)		2 (22)		5 (19)
Infecção respiratória superior		1 (13)		3 (30)		1 (11)		5 (19)

[a]Doses administradas 3 vezes por semana durante o

período de múltipla dosagem.

AA = asfotase alfa.

Os pacientes adultos com HPP de início pediátrico tratados com asfotase alfa ou acima da dose recomendada (2,0 ou 3,0 mg/kg) apresentaram reduções estatisticamente significativas da linha de base em seus valores de PPi e PLP de pré-3ª dose na Semana 9 em comparação aos pacientes tratados com a dose recomendada inferior (0,5 mg/kg). As reações no local de injeção foram mais frequentes com o aumento da dose. Caso contrário, a asfotase alfa foi bem tolerada em todas as doses.

Exemplo 15. Análise Farmacocinética e Farmacocinética-Farmacodinâmica da População de Asfotase Alfa em Pacientes Adultos com Hipofosfatasia de Início Pediátrico do Estudo de AA-HPP-208

[0206] Calculou-se os parâmetros farmacocinéticos (PK) de asfotase alfa usando análises não compartimentadas (NCA) para descrever a farmacocinética de asfotase alfa em pacientes adultos com HPP de início pediátrico. Estimou-se que os parâmetros de PK de população, incluindo os valores típicos e variabilidades aleatórias interindividuais e residuais, e identificou-se fatores covariáveis específicos do indivíduo (por exemplo, peso) que são preditivos da variabilidade aleatória inexplicável na análise farmacocinética populacional. Descreveu-se a relação farmacocinético-farmacodinâmica da população (PKPD) entre a exposição à asfotase alfa e a resposta de PPi. Adicionalmente, estimou-se os parâmetros populacionais de PK-PPi, incluindo valores típicos e variabilidades

aleatórias interindividuais e residuais. Além disso, simulou-se a relação exposição-resposta (ER) entre PK-PPi em pacientes adultos com asfotase alfa com HPP de início pediátrico para suportar uma dose recomendada de 6 mg/kg/semana. Por fim, descreveu a relação da PKPD da população entre a exposição à asfotase alfa e a resposta ao piridoxal-50-fosfato (PLP) em pacientes que não receberam tratamento com suplementos contendo vitamina B6. Isso inclui a descrição da dose de PK-PLP ou ER e estimativa de valores típicos e variabilidades aleatórias interindividuais e residuais.

[0207] O estudo da Fase 2a (Protocolo AA-HPP-208) foi um delineamento de grupos paralelos e aleatorizados de três regimes de múltiplas dosagens escalonados de asfotase alfa em 27 pacientes com HPP durante aproximadamente 13 semanas (FIGS. 17A-17B). O estudo consistiu em um período de triagem, um período de dose única (3 semanas) e um período de tratamento de múltiplas doses (10 semanas). O estudo consistiu em uma dose única de 0,5, 2,0 ou 3,0 mg/kg de asfotase alfa seguida de doses múltiplas das mesmas quantidades 3x/semana, começando após 2 semanas. Vinte e sete indivíduos (aproximadamente 9 por coorte) foram incluídos no estudo e amostragem rica em PK, PPi e PLP foi realizada após dose única e múltipla com amostragem esparsa durante a fase de acumulação.

[0208] Perfis individuais e médios de PK foram obtidos para todas as três coortes. Os perfis individuais de PK indicaram acumulação de asfotase alfa a partir de eventos de dosagem única no dia 1 (FIG. 18A) depois de eventos de

dosagem múltipla no dia 61 (FIG. 18B). Os perfis de farmacocinética média e ±SD de dose única e dose múltipla mostraram que a asfotase alfa exibia PK linear com exposição aumentada dentro do intervalo de dose testado de 0,5 a 3 mg/kg (FIGS. 19A e 19C). O estado estacionário foi atingido por volta do dia 29 (ou após 4 semanas de dosagem repetida) em que a concentração mínima de asfotase alfa atingiu um nível constante em todos os três regimes de dosagem (FIG. 19B). Os perfis de PK de ± SD médio normalizados com dose mostraram que a asfotase alfa de PK aumentou aproximadamente proporcionalmente à dose (ou dentro de 2 vezes o intervalo de proporcionalidade) de 0,5 mg/kg a 3,0 mg/kg (FIGS. 20A-20B).

[0209] Os dados de PK de população incluindo observações de concentração, histórias de dosagem, tempos de eventos e fatores covariáveis (idade, altura, peso, sexo e raça) foram reunidos e formatados para análise. Os valores de parâmetro de PK foram estimados usando o módulo de NCA em PhoenixWinNonlin v 7.0 (Certara, Princeton NJ, EUA). O conjunto de dados para NCA foi derivado do conjunto de dados NONMEM®population PKPD. Os parâmetros farmacocinéticos derivados dos resultados de concentração foram utilizados para avaliar a proporcionalidade da dose de asfotase alfa. Análises de PKPD de população para critérios de avaliação de medidas repetidas foram realizadas através de modelagem de efeitos mistos não lineares com uma instalação qualificada do software de modelagem de efeitos mistos não lineares (NONMEM®), Versão 7.3 (ICON Development Solutions, Hanover, MD).

[0210] Os trabalhos de modelagem anteriores sugeriram que a asfotase alfa segue uma disposição multicompartimental, de modo que a modelagem inicial seja conduzida usando um modelo de dois compartimentos com absorção de primeira ordem parametrizada em termos de depuração (CL), volume central de distribuição (V_2), volume periférico de distribuição (V_3), depuração intercompartamental (Q), biodisponibilidade absoluta (F), constante de taxa de absorção (k_a) e tempo de retardamento da absorção subcutânea (ALAG) (ADVAN13), com distribuições de efeito aleatório apropriadas. A seleção do modelo foi orientada por vários critérios de adequação de ajuste, incluindo diagramas de dispersão diagnóstica, convergência com pelo menos 2 dígitos significativos, plausibilidade das estimativas dos parâmetros, precisão das estimativas dos parâmetros, correlação entre os erros de estimativa dos parâmetros do modelo < 0,95 e a AIC, dado o valor mínimo da função objetivo e o número de parâmetros estimados. As estimativas dos parâmetros do modelo final foram relatadas com uma medida de incerteza de estimativa incluindo os erros padrão assintóticos (obtidos da etapa de NONMEM® $ COVARIANCE).

[0211] O trabalho de modelagem prévia com asfotase alfa também orientou a modelagem de covariáveis. Um modelo completo foi construído com cuidado para evitar a correlação ou colinearidade nos preditores. Os parâmetros do modelo foram estimados e a avaliação de quaisquer tendências remanescentes foi conduzida pela inspeção gráfica de todos os efeitos de covariável. As inferências sobre a relevância

clínica dos parâmetros foram baseadas nas estimativas dos parâmetros resultantes do modelo completo e nas medidas de precisão das estimativas. Os parâmetros de PK individuais também foram estimados e a concentração média durante o intervalo de dosagem no estado estacionário ($C_{média,ss}$) foi calculada. Uma etapa de avaliação do modelo de verificação preditiva foi realizada para avaliar o desempenho do modelo final e dos parâmetros.

[0212] Para as análises de dados de PK-PPi, a resposta de PPi de plasma em termos de alteração da linha de base foi traçada e resumida através dos quartis de exposição. As frequências de concentrações de PPi de Dia 61 de Estudo pré-dose abaixo do limite inferior de PPi normal (1,33 μM) (LLN) foram tabuladas por intervalo interquartil de $C_{média,ss}$ e coorte de tratamento. Os valores individuais de asfotase alfa $C_{média,ss}$ variando de 253 - 6800 U/L foram calculados e utilizados para avaliar graficamente e quantitativamente essa relação de ER.

[0213] O conjunto de dados de PKPD de asfotase alfa foi constituído por 27 pacientes que contribuíram com um total de 1140 concentrações séricas de asfotase alfa e 1293 concentrações plasmáticas de PPi ao longo de todo o período do estudo. Houve 198 observações abaixo do limite de quantificação, que compuseram mais de 17% do número total de observações de alfa-asfotase sérica. A população do estudo consistiu em 11 machos e 16 fêmeas com idades variando de 18 a 77 anos e pesos variando de 48,2 a 121,3 kg. A maioria dos pacientes era branco (96,3%). Altura, sexo, idade e raça foram incluídos no conjunto de dados e são resumidos em

formato de tabela para completude, mas não foram considerados como covariáveis potenciais nos modelos populacionais. As informações de LOT da droga utilizadas nas análises incluiu a atividade de lote, o teor total de ácido siálico (TSAC) e o tamanho de lote.

[0214] A análise de NCA revelou que a meia-vida relativamente longa e a frequência de dosagem resultaram em acumulação acentuada em todos os níveis de dose. A variabilidade interindividual extensa foi observada nos perfis de concentração versus tempo dentro de cada coorte, embora todos os perfis parecessem exibir um declínio monoexponencial, quando vistos em um gráfico semi-log. As estimativas de exposição (concentração máxima no intervalo de dosagem ($C_{máx}$), área sob a curva concentração-tempo do tempo zero ao tempo da última concentração observada num intervalo de dosagem ($AUC_{último}$) e área sob a curva concentração-tempo do tempo zero ao infinito (AUC_{inf}) aumentou com o aumento da dose e entre a administração de dose única e múltiplas. Devido a concentrações limitadas acima do limite inferior de detecção na coorte de 0,5 mg/kg, AUC_{inf}, depuração aparente após administração subcutânea (CL/F), volume aparente de distribuição após administração subcutânea (V_z/F) e semivida terminal ($t_{1/2}$) não foram avaliáveis. As estimativas médias geométricas de CL/F e V_z/F foram 18,8 L/dia e 99,1 L para a coorte de 2,0 mg/kg e 22,1 L/dia e 150 L para a coorte de 3,0 mg/kg, respectivamente. As estimativas de $t_{1/2}$ apresentaram valores médios geométricos variando de 3,66 a 5,54 dias^{-1}. O tempo mediano de concentração máxima nas estimativas do intervalo de

dosagem ($T_{máx}$) variou de 1,91 a 3,0 e 0,747 a 1,16 dias nas coortes de dose única e múltipla, respectivamente. A proporcionalidade da dose na asfotase alfa PK foi avaliada utilizando a forma logarítmica do modelo de potência ajustada aos valores de $C_{máx}$ única e múltiplas doses e valores AUC_{inf} e $AUC_{último}$ única dose.

[0215] Os resultados foram inconclusivos para todos os casos, com exceção de $C_{máx}$ de dose única, quando a não proporcionalidade for concluída. Para o parâmetro $C_{máx}$ de dose única, a razão de dose limite para rejeitar a proporcionalidade foi de 7,85. As razões de dose proporcional máxima para esses parâmetros variaram de 1,37 a 1,69, em comparação com a proporção de dose máxima de 18,2 no conjunto de dados.

[0216] Nosso trabalho anterior de modelagem sugeriu que a asfotase alfa segue uma disposição multicompartimental, de modo que a modelagem inicial seja conduzida usando um modelo de dois compartimentos com absorção de primeira ordem, com distribuições de efeito aleatório apropriadas. O modelo de covariável total da análise anterior incluiu os efeitos pré-especificados de peso alometricamente escalonado, TSAC e anticorpos neutralizantes antidrogas (NAb) na CL; peso em escala alométrica em V_2, V_3 e Q, e tamanho de lote de lote de fabricação como uma covariável em F e k_a uma vez que vários tamanhos de lote foram incluídos. Os lotes de manufatura para a análise atual incluíram apenas o tamanho de lote de 20K, portanto, a atividade de substância de droga observada para cada lote também foi incluída no modelo como um fator direto de dose, mas este não foi um efeito de

covariável estimado. As estimativas típicas (IC 95%) dos parâmetros do modelo PK para os efeitos da covariável de referência (70 kg, 1,7 mol/mol, ausência de anticorpos antidrogas, tamanho do lote 20K) foram 17,9 (13,7, 23,4) L/dia, 36,6 (0,876, 1530) L, 95,7 (18,5, 496) L, 3490 (6,47, 1,88e+06) L/dia e 1,10 (0,603, 2,02) dia^{-1}, para *CL/F*, volume central de distribuição aparente (subcutâneo) (V_2/F), volume de distribuição periférico aparente (subcutâneo) (V_3/F), depuração intercompartamental aparente (subcutânea) (*Q/F*) e constante de taxa de absorção de dose única (*kaSD*), respectivamente. Esses resultados foram consistentes com aqueles de NCA e um pouco consistentes com os das análises anteriores.

[0217] Os efeitos dos fatores covariáveis na PK de asfotase alfa também foram investigados. O impacto esperado de covariáveis em *CL/F*, V_2/F, V_3/F e *Q/F* foi ilustrado pelo cálculo de $C_{média,ss}$ em valores atribuídos a cada previsor que se distinguiram do efeito nulo. Entre os valores extremos para o peso corporal (48,2 e 121,3 kg), TSAC (1,4 e 1,6 mol/mol) e na presença ou ausência de anticorpo antidroga, a mediana prevista $C_{média,ss}$ variou entre 1750 U/L e 2769 U/L, quando o valor para a normalização de TSAC foi 1,7. A variabilidade aleatória inexplicada (% de CV) foi reduzida para *CL/F* (43,9% de coeficiente de variação (CV%)), no modelo final, quando comparada com a estimativa de variância do modelo base *CL/F* (48,8 CV%). A relevância clínica dessa constatação é que não se espera que o ajuste da dose para covariáveis conhecidas resulte em uma redução significativa na variabilidade da resposta.

[0218] O modelo de PK da população final forneceu uma boa descrição dos dados de PK. Os critérios de adequação revelaram que o modelo final era consistente com os dados observados e que nenhum viés sistemático permaneceu. Os resultados da avaliação do modelo forneceram evidências de que os componentes de efeitos fixos e aleatórios do modelo final também refletiam os dados observados.

[0219] A resposta de PPi no plasma tendeu a ser maior com o aumento da exposição à asfotase alfa, embora tenha sido observada uma sobreposição extensa na resposta nos quartis de exposição. A frequência dessa resposta de PPi pareceu estabilizar em 66,7% em concentrações acima da mediana da asfotase alfa $C_{média,ss}$ de 2030 U/L, indicando que o aumento da mediana de *Cavg,ss* acima de 2030 U/L parece não ter mais impacto sobre o aumento de frequência de resposta de PPi.

[0220] Os parâmetros de PK de asfotase alfa foram calculados usando NCA e estão resumidos na Tabela 18. A meia-vida relativamente longa e a frequência de dosagem resultaram em acumulação acentuada em todos os níveis de dose, no entanto, AUC_{inf}, *CL/F*, V_z/F, e $t_{1/2}$ não foram avaliáveis na coorte de 0,5mg/kg, devido às concentrações limitadas acima do limite inferior de detecção.

Tabela 18. Resumo dos parâmetros de PK de NCA

Parâmetro	**Asfotase alfa 0,5 mg/kg (N = 8)**		**Asfotase alfa 2,0 mg/kg (N = 10)**		**Asfotase alfa 3,0 mg/kg (N = 9)**	
	Dia 1	**Dia 61**	**Dia 1**	**Dia 61**	**Dia 1**	**Dia 61**
$C_{máx}$ (U/L)	218 (24,1)	743 (63,6)	617 (51,8)	1900 (53,6)	915 (35,3)	3600 (43,7)
$t_{máx}$ (dia)	1,91 (0,485, 3,00)	0,747 (0,00, 2,46)	2,34 (1,49, 5,04)	1,16 (0,00, 2,49)	3,00 (1,50, 6,04)	0,990 (0,254, 1,33)
$AUC_{último}$ (U × dia/L)	588 (77,0)	NE	3310 (60,6)	NE	5620 (63,3)	NE
AUC_{inf} (U × dia/L)	NE	NE	5350 (45,6)	NE	9030 (40,3)	NE
$t_{1/2}$ (dia)	NE	5,12 (10,2)	3,66 (16,4)	4,62 (28,0)	4,69 (17,9)	5,54 (18,3)
λ_z (dia^{-1})	NE	0,135 (10,2)	0,189 (16,4)	0,150 (28,0)	0,148 (17,9)	0,125 (18,3)
CL/F (U/L)	NE	NE	18,8 (37,2)	NE	22,1 (41,2)	NE
V_z/F (L)	NE	NE	99,1 (25,9)	NE	150 (36,2)	NE
CaR	NE	4,15 (35,3)	NE	3,14 (65,5)	NE	4,68 (33,6)

A média geométrica e o % de CV geométrico foram fornecidos para todos os parâmetros, exceto o $t_{máx}$, onde a mediana e o intervalo foram fornecidos.

λ_z = constante de taxa de disposição terminal; AUC_{inf} = área sob a curva de concentração-tempo do tempo zero ao infinito; $AUC_{último}$ = área sob a curva concentração-tempo, do tempo zero ao tempo da última concentração observada em um intervalo de dosagem; CL/F = depuração aparente após dosagem subcutânea; $C_{máx}$ = concentração máxima no intervalo de dosagem; CaR = razão de concentração 48 horas após a primeira dose para a concentração pré-dose no dia 61 após doses múltiplas; NE = não disponível; $t_{1/2}$ = meia vida de terminal; $t_{máx}$ = tempo de concentração máxima no intervalo de dosagem; V_z/F = volume aparente de distribuição após administração subcutânea.

[0221] Os gráficos compostos e médios dos dados de tempo de concentração de alfa-asfotase alfa mostraram aumento da exposição com doses crescentes, embora uma grande parte das concentrações na coorte de 0,5 mg/kg tivesse dados que estavam abaixo do limite de quantificação (BLQ) após a dosagem do Dia 1. Variabilidade interpaciente extensa foi observada nos perfis de concentração versus tempo dentro de cada coorte, embora todos os perfis parecessem apresentar um declínio mono-exponencial quando vistos em um gráfico semi-log.

[0222] As estimativas da exposição ($C_{máx}$, $AUC_{último}$ e AUC_{inf}) aumentaram com o aumento da dose e entre a administração de dose única e múltipla. Devido a concentrações limitadas acima do limite inferior de detecção na coorte de 0,5 mg/kg, AUC_{inf}, CL/F, V_z/F e $t_{½}$ não foram avaliáveis. As estimativas médias geométricas de CL/F e V_z/F foram 18,8 L/dia e 99,1 L para a coorte de 2,0 mg/kg e 22 1

L/dia e 150 L para a coorte de 3,0 mg/kg, respectivamente. As estimativas de $t_{½}$ tiveram valores médios geométricos variando de 3,66 a 5,54 dias. As estimativas de $t_{máx}$ mediana variou de 1,91 a 3,0 dias e de 0,747 a 1,16 dias nas coortes de dose única e múltipla, respectivamente.

[0223] Dado o tempo irregular entre doses consecutivas (ou seja, 3 vezes por semana, a dose resulta em 2 intervalos de 2 dias e 1 intervalo de 3 dias num período de 7 dias), a razão de acumulação não pôde ser diretamente avaliada com métodos padrão. Uma aproximação da acumulação com uma dosagem de 3 vezes por semana foi avaliada calculando a proporção da concentração 48 horas após a administração da primeira dose à concentração de pré-dose no Dia 61 após múltiplas doses. As médias geométricas dessas proporções variaram de 3,14 a 4,68 nas três coortes. O modelo de PK da população modelo completa é mostrado na Tabela 19.

Tabela 19. Modelo completo: Modelo de Farmacocinética (PK) Populacional 30502

Parâmetro PK (Unidade)	**Parâmetro NONMEM**	**Estimativa**	**95% de CI***
CL/F (L/dia)	exp(θ_1)	17,9	(13,7, 23,4)
V2/F (L)	exp(θ_2)	36,6	(0,876, 1530)
V3/F (L)	exp(θ_3)	95,7	(18,5, 496)
Q/F (L/dia)	exp(θ_4)	3490	(6,47, 1,88e+06)

ka_{SD} (dia^{-1})	$\exp(\theta_5)$	1,10	(0,603, 2,02)
ALAG (dia)	$\exp(\theta_6)$	0,0771	(0/00939, 0,634)
ka_{MD} (dia^{-1})	$\exp(\theta_7)$	2,09	(1,14, 3,82)
CL/F~ExpoenteAlométrico	θ_8	0,776 FIX	
CL/F~ADA+/Nab-	$\exp(\theta_9)$	1,11 FIX	
CL/F~TSAC	θ_{10}	-1,08 FIX	
IIVvar*CL/F* ($\omega^2_{CL/F}$)	$\Omega_{1,1}(\eta_1)$	0,176 (CV % = 43,9)	(0,00, 0,472)
IIVcov*CL/F*,*V2/F* ($\omega_{CL/F}$, $\omega_{V2/F}$)	$\Omega_{2,1}$	0,0253	(-0,126, 0,176)
IIVvar*V2/F* ($\omega^2_{V2/F}$)	$\Omega_{2,2}(\eta_2)$	0,108 (CV % = 33,7)	(0,00, 1,13)
IIVcov*CL/F*,*V3/F* ($\omega_{CL/F}$, $\omega_{V3/F}$)	$\Omega_{3,1}$	0,229	(-0,00757, 0,465)
IIVcov*V2/F*,*V3/F* ($\omega_{V2/F}$, $\omega_{V3/F}$)	$\Omega_{3,2}$	-0,0295	(-0,502, 0,443)
IIVvar*V3/F* ($\omega^3_{V3/F}$	$\Omega_{3,3}(\eta_3)$	0,4	(0,00

)		05 (CV % = 70,6)	, 1,07)
IIVcov$CL/F, k_a$ ($\omega_{CL/F}, \omega_{ka}$)	$\Omega_{4,1}$	0,101	(-0,118, 0,320)
IIVcov$V_2/F, k_a$ ($\omega_{V2/F}, \omega_{ka}$)	$\Omega_{4,2}$	0,175	(-0,527, 0,876)
IIVcov$V_3/F, k_a$ ($\omega_{V3/F}, \omega_{ka}$)	$\Omega_{4,3}$	0,104	(-0,136, 0,344)
IIVvar k_a (ω^4_{ka})	$\Omega_{4,4}(\eta_4)$	0,372 (CV % = 67,1)	(0,00, 0,891)
$\Sigma_{1,1,\text{aditivo}}(\varepsilon_1)$	$\Sigma_{1,1,\text{aditivo}}(\varepsilon_1)$	0,0488 (SD = 0,2221)	(0,0435, 0,0541)

*95% de CI derivado de erros padrão obtidos da etapa NONMEM $ COVARIANCE

IIV = variabilidade interindividual, CV = coeficiente de variação, SD = desvio padrão

[0224] A população de PK da asfotase alfa foi descrita em pacientes adultos com HPP de início pediátrico por um modelo de dois compartimentos com absorção de primeira ordem e tempo de absorção. Estimativas típicas dos parâmetros da população (95% de CI) de 17,9 (13,7, 23,4) L/h, 36,6 (0,876, 1530) L, 95,7 (18,5, 496) L, 3490 (6,47, 1,88e +06) L/dia e 1,10 (0,603, 2,02) dia^{-1} foram estimados para *CL/F*, V_2/F,

V_3/F, Q/F e ka_{SD}, respectivamente. As estimativas de CL/F e V_z/F foram consistentes entre o NCA e as análises populacionais.

[0225] Os fatores covariáveis específicos para cada indivíduo que foram preditivos da variabilidade aleatória inexplicável na população incluíram efeitos de peso alometricamente escalonados em CL/F, V_2/F, V_3/F e Q/F e efeitos do status de anticorpos e TSAC em CL/F. Um efeito da administração de dose única versus dose múltipla também foi incluído no k_a.

[0226] A relação de PKPD da população entre a exposição à asfotase alfa e a resposta PPi foi tabulada por quantis de $C_{média,ss}$ examinados graficamente. A resposta de PPi no plasma tendeu a ser maior com o aumento da dose e da exposição a asfotase alfa, embora seja observada sobreposição extensa na resposta através dos quartis de exposição (FIG. 21 e Tabela 20).

Tabela 20. Resposta de PK-PPi: Exposição (U/L) de $C_{média,ss}$ vs. Mudança da resposta de linha de base de PPi (µM) no Dia do Estudo 61

Cavgbin (U/L)	**N**	**Média**	**Mediana**	**Mín.**	**Máx.**
[253.935]	7	-2,44	-2,94	-5,64	0,192
(9,35,2,03e+03]	7	-2,89	-2,35	-4,99	-0,938
(2,03e+03,2,63e+03]	6	-4,14	-4,62	-5,46	-1,85
(2,63e+03,6,8e+03	7	-	-	-	-

]		3,83	3,64	5,03	2,87

N = número de pacientes, Cavgbin = o intervalo interquartílico de *Cmédia,ss* no qual todos os dados de PPi basais foram alterados, *Cmédia,ss* = concentração média de asfotase alfa no estado estacionário calculada usando estimativas de bayes empíricas individuais de *CL = F* e assumindo a última doses (Unidades de atividade) administradas a cada doente foram administradas 3 vezes ao longo de um intervalo de dosagem de 7 dias.

[0227] A frequência da resposta de PPi pareceu estabilizar em 66,7% em concentrações acima da mediana da asfotase alfa $C_{média,ss}$ de 2030 U/L (Tabela 21).

Tabela 21. PPi<LLN Por $C_{média,ss}$ *Quartil: Frequência de PPi < Limite Inferior da Normal (1,33 µM) no Dia de Estudo 61 Por Exposição a Quartil*

Cavgbin (U/L)	**N**	**Frequência (%)**
[253,935]	7	0,0
(9,35,2,03e+03]	7	14,3
(2,03e+03,2,63e+03]	6	66,7
(2,63e+03,6,8e+03]	7	66,7

N = número de pacientes, Cavgbin = o intervalo interquartílico de *Cmédia,ss* no qual todos os dados de PPi basais foram alterados, *Cmédia,ss* = concentração média de asfotase alfa no estado estacionário calculada usando estimativas de bayes empíricas individuais de *CL = F* e assumindo a última doses (Unidades de atividade) administradas a cada doente foram administradas 3 vezes ao longo de um intervalo de dosagem de 7 dias. Frequência

calculada usando a concentração de PPi pré-dose no Dia do Estudo 61.

[0228] A mediana do valor previsto $C_{média,ss}$ para o tratamento de 2 mg/kg x 3 dias/semana em pacientes adultos AA-HPP-208 (1810 U/L) se aproxima dessa concentração limite, enquanto a frequência de pacientes que alcançaram uma resposta de PPi (20%) é consistente com previsões prévias para a população adulta (17,6%) nesta dose. Coletivamente, esses resultados suportam um regime de dosagem de 2 mg/kg x 3 dias/semana em pacientes com HPP adultos com fenótipo pediátrico.

[0229] Esses dados de pacientes adultos com HPP de início pediátrico confirmam a eficácia de um esquema posológico de 2 mg/kg x 3 dias/semana em pacientes adolescentes com HPP. Os dados recentemente disponíveis sobre dosagem e PK/PD do Estudo de AA-HPP-208 mostram dosagem eficaz em pacientes adultos com HPP ≥ 18 anos, uma população de pacientes previamente não testados, e confirmam que pacientes adultos com HPP de início pediátrico se beneficiam do tratamento com asfotase alfa.

[0230] Além disso, existem diferenças significativas na capacidade de confirmar a eficácia terapêutica da asfotase alfa em pacientes pediátricos versus pacientes adultos com HPP de início pediátrico. Por exemplo, em pacientes pediátricos, a eficácia da asfotase alfa pode ser determinada usando a escala de Impressão Radiográfica de Mudança (RGI-C) para avaliar as alterações esqueléticas em pacientes pediátricos. A escala RGI-C é limitada em HPP, porque só pode avaliar aqueles com placas de crescimento aberto (isto

é, pacientes pediátricos). Consequentemente, a escala RGI-C não pode ser usada para avaliar a eficácia em pacientes adultos com HPP de início pediátrico. No entanto, os resultados de PK/PD/eficácia do Estudo de AA-HPP-208 confirmam a eficácia terapêutica da asfotase alfa nestes pacientes adultos.

[0231] Finalmente, antes do Estudo de AA-HPP-208, nenhum dado foi avaliado se o tratamento com asfotase alfa seria bem tolerado por pacientes adultos com HPP de início pediátrico. Esses dados confirmam que, embora os efeitos colaterais da terapia com asfotase alfa sejam diferentes em pacientes pediátricos versus populações de pacientes adolescentes e adultos, a terapia com asfotase alfa é bem tolerada pelos dois grupos com efeitos colaterais mínimos.

OUTRAS CONCRETIZAÇÕES

[0232] Todas as publicações, patentes e pedidos de patente mencionados na especificação acima são incorporados neste relatório descritivo por referência na mesma medida como se cada publicação, patente ou pedido de patente individual fosse indicada específica e individualmente para ser incorporada por referência. Várias modificações e as variações dos métodos descritos, composições farmacêuticas e kits da invenção serão evidentes para os versados na técnica sem se afastarem do âmbito e espírito da invenção reivindicada. Embora a descrição tenha sido descrita em relação a formas de realização específicas, será entendido que é capaz de modificações adicionais e que a invenção como reivindicada não deve ser indevidamente limitada a tais formas de realização específicas.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratamento de hipofosfatasia (HPP) em um paciente com HPP de início pediátrico não exposto, com cerca de 18 anos de idade ou mais, **caracterizado pelo** fato de ter pelo menos um sintoma de HPP adulta, em que o método compreende administrar uma fosfatase alcalina solúvel (sALP) ao paciente em um regime de tratamento fornecendo cerca de 1 mg/kg/semana a cerca de 9 mg/kg/semana, preferivelmente 6 mg/kg/semana, da sALP por um período de tratamento de pelo menos duas semanas, em que a sALP compreende uma sequência de aminoácido com pelo menos 95% de identidade de sequência com a sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 1 e em que a administração de sALP resulta em um ou mais dos seguintes:

(i) uma diminuição estatisticamente significativa da concentração de pirofosfato inorgânico (PPi) em uma amostra de plasma do paciente de pelo menos 1 μM em relação à concentração de PPi em uma amostra de plasma de um indivíduo com HPP de início pediátrico não tratado com cerca de 18 anos de idade ou mais;

(ii) uma diminuição estatisticamente significativa na concentração de piridoxal 5'-fosfato (PLP) em uma amostra de plasma do paciente de pelo menos cerca de 100 ng/ml em relação à concentração de PLP numa amostra de plasma de um indivíduo com HPP de início pediátrico não tratado com cerca de 18 anos de idade ou mais; e

(iii) um aumento estatisticamente significante de pelo menos 50 metros na distância do paciente, avaliado por um Teste de Caminhada de Seis Minutos (6MWT), em relação à distância percorrida em 6 minutos do paciente sem

administração.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que o período de tratamento é pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou pelo menos dez anos, ou a vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado pelo** fato de que a diminuição na concentração de PPi na amostra de plasma do paciente, a diminuição na concentração de PLP na amostra de plasma do paciente, e/ou a distância de caminhada do paciente após o aumento é sustentada durante o período de tratamento.

4. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, **caracterizado pelo** fato de que o paciente tem uma diminuição na concentração plasmática de PPi de pelo menos cerca de 2 μM.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, **caracterizado pelo** fato de que, antes da administração de sALP, o paciente tem uma concentração plasmática de PPi de cerca de 6 μM.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, **caracterizado pelo** fato de que o paciente tem uma concentração plasmática de PPi de cerca de 2 μM a cerca de 5 μM após a administração de sALP.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, **caracterizado pelo** fato de que a diminuição da concentração de PLP é de pelo menos cerca de 200 ng/ml.

8. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 7, **caracterizado pelo** fato de que, antes da administração de sALP, o paciente tem uma concentração plasmática de PLP de até 1300 ng/ml.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 8, **caracterizado pelo** fato de que o paciente tem uma concentração plasmática de PLP de cerca de 2 ng/ml a cerca de 150 ng/ml após a administração de sALP.

10. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, **caracterizado pelo** fato de que a administração de sALP por um período de tratamento de pelo menos um ano resulta em um aumento da distância de caminhada em seis minutos de pelo menos 100 metros ou mais.

11. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 10, **caracterizado pelo** fato de que, antes da administração de sALP, o paciente se caracteriza como tendo uma distância de caminhada em seis minutos de aproximadamente 350 metros ou menos.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 11, **caracterizado pelo** fato de que o paciente exibe uma distância de caminhada em seis minutos de cerca de 420 metros ou mais após a administração de sALP.

13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 12, **caracterizado pelo** fato de que o paciente exibe dependência diminuída em um dispositivo de mobilidade assistida após a administração de sALP.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado pelo** fato de que o dispositivo de mobilidade assistiva é, pelo menos, um dispositivo selecionado do grupo que consiste em um andador, uma cadeira de rodas, suspensórios, muletas e órteses.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 14, **caracterizado pelo** fato de que o paciente experimenta uma diminuição de incidência de fraturas após a administração de sALP.

16. Método de tratar hipofosfatasia (HPP) em um paciente com cerca de 13 anos de idade ou mais, **caracterizado pelo** fato de que o referido método compreende administrar uma fosfatase alcalina solúvel (sALP) ao paciente em um regimento de tratamento fornecendo cerca de 1 mg/kg/semana a cerca de 9 mg/kg/semana, preferencialmente 6 mg/kg/semana, de sALP para um período de tratamento de pelo menos duas semanas, em que a sALP compreende uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 95% de identidade de sequência à sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 1, e em que a administração de sALP resulta em uma ou mais dos seguintes:

(i) uma alteração em uma pontuação Dinamometria de mão (HHD) de percentagem (%) prevista do paciente de cerca de 5% ou mais em relação à percentagem de HHD prevista do paciente sem a administração de sALP;

(ii) uma alteração na pontuação da Escala Funcional de

Extremidade Inferior (LEFS) do paciente de cerca de 3 ou mais em relação à pontuação de LEFS do paciente sem a administração de sALP; e

(iii) uma mudança na pontuação de Questionário de Inventário Resumido da Dor (BPI-SF) do paciente de cerca de -2 ou mais em relação à BPI-SF do paciente sem a administração de sALP.

17. Método de tratar hipofosfatasia (HPP) em um paciente com cerca de 13 anos de idade ou mais, **caracterizado pelo** fato de que o método compreende administrar uma fosfatase alcalina solúvel (sALP) ao paciente em um regimento de tratamento fornecendo cerca de 1 mg/kg/semana a cerca de 9 mg/kg/semana, preferencialmente 6 mg/kg/semana, de sALP para um período de tratamento de pelo menos duas semanas, em que a sALP compreende uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 95% de identidade de sequência à sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 1, e em que a administração de sALP resulta em uma ou mais dos seguintes:

(i) uma diminuição nas concentrações de PPi em uma amostra de plasma do paciente de cerca de 25% ou mais em relação às concentrações de PPi em uma amostra de plasma do paciente sem administração de sALP;

(ii) uma diminuição nas concentrações de PLP em uma amostra de plasma do paciente de cerca de 50% ou mais em relação às concentrações de PLP em uma amostra de plasma do paciente sem administração de sALP; e

(iii) um aumento no valor de 6MWT do paciente a cerca de 80% ou mais do que cerca de 80% do valor previsto de 6MWT do paciente em relação ao valor de 6MWT do paciente sem a

administração de sALP.

18. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 17, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada uma ou mais vezes por dia, por semana ou por mês.

19. Método, de acordo com a reivindicação 18, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada duas vezes por semana, três vezes por semana, quatro vezes por semana, cinco vezes por semana, seis vezes por semana ou sete vezes por semana.

20. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 19, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada em múltiplas doses em dois dias por semana, três dias por semana, quatro dias por semana, cinco dias por semana, seis dias por semana ou sete dias por semana.

21. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 20, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada em uma dosagem inicial de cerca de 2,1 mg/kg/semana a cerca de 3,5 mg/kg/semana e subsequentemente é aumentada para uma dosagem de cerca de 6 mg/kg/semana.

22. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada em uma dosagem inicial de cerca de 0,3 mg/kg/dia a cerca de 0,5 mg/kg/dia da sALP.

23. Método, de acordo com a reivindicação 21 ou 22, **caracterizado pelo** fato de que a dosagem inicial é aumentada após um período de tratamento de pelo menos seis meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos ou

pelo menos quatro anos ou mais.

24. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 23, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada em uma dosagem de cerca de 1,3 mg/kg/semana, cerca de 2,7 mg/kg/semana, ou cerca de 6 mg/kg/semana.

25. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 24, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada em uma dosagem de cerca de 2 mg/kg três vezes por semana, cerca de 3 mg/kg duas vezes por semana, cerca de 3 mg/kg três vezes por semana ou cerca de 1 mg/kg seis vezes por semana.

26. Método, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada uma vez por dia em dias consecutivos ou alternados.

27. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 26, **caracterizado pelo** fato de que a sALP compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

28. Método, de acordo com a reivindicação 27, **caracterizado pelo** fato de que a sALP consiste na sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1.

29. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 28, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada em uma quantidade que é terapeuticamente eficaz para tratar pelo menos um sintoma de HPP adulta.

30. Método, de acordo com a reivindicação 29, **caracterizado pelo** fato de que o pelo menos um sintoma de HPP adulta compreende um ou mais níveis elevados de fosfoetanolamina (PEA) de sangue e/ou urina,

hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, marcha bamba, dor óssea, fratura óssea, deposição de cristal di-hidrato de pirofosfato de cálcio, artrite, artropatia por pirofosfato, condrocalcinose, periartrite calcária e pseudofratura.

31. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 30, **caracterizado pelo** fato de que o paciente não exibe calcificação ectópica após a administração de sALP.

32. Método, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizado pelo** fato de que o paciente não apresenta calcificação ectópica após a administração da sALP por pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos ou pelo menos dez anos ou mais.

33. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 32, **caracterizado pelo** fato de que o paciente exibe tolerância à administração de sALP.

34. Método, de acordo com a reivindicação 33, **caracterizado pelo** fato de que a tolerabilidade compreende a ausência ou diminuição da incidência de pelo menos um evento adverso selecionado do grupo consistindo em eritema no local da injeção, diminuição da hemoglobina, pirexia, pneumonia, infecção do trato respiratório superior, otite média, vômitos, constipação, diarreia, perda de dentes, nasofaringite, erupção cutânea, carreadores odontológicos e irritabilidade.

35. Método, de acordo com qualquer uma das

reivindicações de 1 a 34, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é administrada em uma composição compreendendo pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado pelo** fato de que o pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável é salino.

37. Método, de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado pelo** fato de que o pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável compreende cloreto de sódio e fosfato de sódio.

38. Método, de acordo com a reivindicação 37, **caracterizado pelo** fato de que o pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável compreende cerca de 150 mM de cloreto de sódio e cerca de 25 mM de fosfato de sódio.

39. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 35 a 38, **caracterizado pelo** fato de que a composição é administrada por via subcutânea, intramuscular, intravenosa, oral, nasal, sublingual, intratecal ou intradérmica.

40. Método, de acordo com a reivindicação 39, **caracterizado pelo** fato de que a composição é administrada por via subcutânea.

41. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 40, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é fisiologicamente ativa em relação a PEA, PPi e PLP.

42. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 41, **caracterizado pelo** fato de que a

sALP é cataliticamente competente para melhorar a mineralização do esqueleto no osso.

43. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 42, **caracterizado pelo** fato de que a sALP é o domínio extracelular solúvel de uma fosfatase alcalina.

44. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 43, **caracterizado pelo** fato de que o paciente é um humano.

45. Fosfatase alcalina solúvel (sALP) **caracterizada pelo** fato de que compreende uma sequência de aminoácido que tem pelo menos 95% de identidade de sequência em relação à sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 1 para tratar hipofosfatasia (HPP) em um paciente HPP de início pediátrico não exposto com cerca de 18 anos de idade ou mais que se caracteriza como tendo pelo menos um sintoma de HPP adulto, em que a sALP é formulada para a administração em um regime de tratamento que fornece cerca de 1 mg/kg/semana a cerca de 9 mg/kg/semana, especificamente 6 mg/kg/semana, da sALP para um período de tratamento de pelo menos duas semanas, caracterizando-se em que a administração da sALP ao paciente resulta em um ou mais do seguinte:

(i) uma diminuição estatisticamente significativa da concentração de pirofosfato inorgânico (PPi) em uma amostra de plasma do paciente de pelo menos 1 μM em relação à concentração de PPi em uma amostra de plasma de um indivíduo com HPP de início pediátrico não tratado com cerca de 18 anos de idade ou mais;

(ii) uma diminuição estatisticamente significativa na

concentração de piridoxal 5'-fosfato (PLP) em uma amostra de plasma do paciente de pelo menos cerca de 100 ng/ml em relação à concentração de PLP numa amostra de plasma de um indivíduo com HPP de início pediátrico não tratado com cerca de 18 anos de idade ou mais; e

(iii) um aumento estatisticamente significante de pelo menos 50 metros na distância do paciente, avaliado por um Teste de Caminhada de Seis Minutos (6MWT), em relação à distância percorrida em 6 minutos do paciente sem administração.

46. sALP, de acordo com a reivindicação 45, **caracterizada pelo** fato de que o período de tratamento é pelo menos três semanas, pelo menos quatro semanas, pelo menos cinco semanas, pelo menos seis semanas, pelo menos sete semanas, pelo menos oito semanas, pelo menos nove semanas, pelo menos dez semanas, pelo menos três meses, pelo menos quatro meses, pelo menos cinco meses, pelo menos seis meses, pelo menos sete meses, pelo menos oito meses, pelo menos nove meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos, ou a vida do paciente; particularmente pelo menos seis semanas.

47. sALP, de acordo com a reivindicação 45 ou 46, **caracterizada pelo** fato de que a diminuição na concentração de PPi na amostra de plasma do paciente, a diminuição na concentração de PLP na amostra de plasma do paciente, e/ou a distância de caminhada do paciente após o aumento é sustentada durante o período de tratamento.

48. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 47, **caracterizada pelo** fato de que o paciente tem uma diminuição na concentração plasmática de PPi de pelo menos cerca de 2 μM.

49. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 48, **caracterizada pelo** fato de que, antes da administração da sALP, o paciente tem uma concentração plasmática de PPi de cerca de 6 μM.

50. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 49, **caracterizada pelo** fato de que o paciente tem uma concentração plasmática de PPi de cerca de 2 μM a cerca de 5 μM após a administração de sALP.

51. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 50, **caracterizada pelo** fato de que a diminuição na concentração de PLP é de pelo menos cerca de 200 ng/ml.

52. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 51, **caracterizada pelo** fato de que, antes da administração de sALP, o paciente tem uma concentração de PLP no plasma de até 1300 ng/ml.

53. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 52, **caracterizada pelo** fato de que o paciente ter uma concentração de PLP no plasma de cerca de 2 ng/ml a cerca de 150 ng/ml após a administração da sALP.

54. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 53, **caracterizada pelo** fato de que, antes da administração da sALP, o paciente exibe uma distância de caminhada em seis minutos de aproximadamente 350 metros ou menos.

55. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações

de 45 a 54, **caracterizada pelo** fato de que a administração de sALP por um período de tratamento de pelo menos um ano resulta em um aumento da distância de caminhada em seis minutos de pelo menos 100 metros ou mais.

56. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 55, **caracterizada pelo** fato de que o paciente exibe uma distância de caminhada em seis minutos de cerca de 420 metros ou mais após a administração de sALP.

57. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 56, **caracterizada pelo** fato de que o paciente exibe dependência diminuída em um dispositivo de mobilidade assistida após a administração da sALP.

58. sALP, de acordo com a reivindicação 57, **caracterizada pelo** fato de que o dispositivo de mobilidade assistiva é, pelo menos, um dispositivo selecionado do grupo que consiste em um andador, uma cadeira de rodas, suspensórios, muletas e órteses.

59. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 58, **caracterizada pelo** fato de que o paciente experimenta uma diminuição na incidência de fraturas após a administração de sALP.

60. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 59, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para administração uma ou mais vezes por dia, por semana ou por mês.

61. sALP, de acordo com a reivindicação 60, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para a administração duas vezes por semana, três vezes por semana, quatro vezes por semana, cinco vezes por semana, seis vezes

por semana ou sete vezes por semana.

62. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 61, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para a administração em múltiplas doses em dois dias por semana, três dias por semana, quatro dias por semana, cinco dias por semana, seis dias por semana ou sete dias por semana.

63. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 62, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para a administração em uma dosagem inicial de cerca de 2,1 mg/kg/semana a cerca de 3,5 mg/kg/semana e subsequentemente é aumentada para uma dosagem de cerca de 6 mg/kg/semana.

64. sALP, de acordo com a reivindicação 63, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para administração em uma dosagem inicial de cerca de 0,3 mg/kg/dia a cerca de 0,5 mg/kg/dia da sALP.

65. sALP, de acordo com a reivindicação 63 ou 64, **caracterizada pelo** fato de que a dosagem inicial do regime de tratamento é aumentada após um período de tratamento de pelo menos seis meses, pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, ou pelo menos quatro anos ou mais.

66. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 65, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para a administração em uma dosagem de cerca de 1,3 mg/kg/semana, cerca de 2,7 mg/kg/semana, ou cerca de 6 mg/kg/semana.

67. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 66, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada

para a administração em uma dosagem de cerca de 2 mg/kg três vezes por semana, cerca de 3 mg/kg duas vezes por semana, cerca de 3 mg/kg três vezes por semana ou cerca de 1 mg/kg seis vezes por semana.

68. sALP, de acordo com a reivindicação 67, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para a administração uma vez por dia em dias consecutivos ou alternados.

69. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 68, **caracterizada pelo** fato de que a sALP compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

70. sALP, de acordo com a reivindicação 69, **caracterizada pelo** fato de que a sALP consiste na sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1.

71. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 70, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para a administração em uma quantidade que é terapeuticamente eficaz para tratar pelo menos um sintoma de HPP.

72. sALP, de acordo com a reivindicação 71, **caracterizada pelo** fato de que o pelo menos um sintoma de HPP compreende um ou mais níveis elevados de fosfoetanolamina (PEA) de sangue e/ou urina, hipomineralização, hipercalciúria, deformidade esquelética, marcha bamba, dor óssea, fratura óssea, deposição de cristal di-hidrato de pirofosfato de cálcio, artrite e artropatia por pirofosfato.

73. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 72, **caracterizada pelo** fato de que o paciente não exibe calcificação ectópica após a administração de sALP.

74. sALP, de acordo com a reivindicação 73,

caracterizada pelo fato de que o paciente não apresenta calcificação ectópica após a administração da sALP por pelo menos um ano, pelo menos dois anos, pelo menos três anos, pelo menos quatro anos, pelo menos cinco anos, pelo menos seis anos, pelo menos sete anos, pelo menos oito anos, pelo menos nove anos ou pelo menos dez anos ou mais.

75. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 74, **caracterizada pelo** fato de que o paciente exibe tolerância à administração de sALP.

76. sALP, de acordo com a reivindicação 75, **caracterizada pelo** fato de que a tolerabilidade compreende a ausência ou diminuição da incidência de pelo menos um evento adverso selecionado do grupo consistindo em eritema no local da injeção, diminuição da hemoglobina, pirexia, pneumonia, infecção do trato respiratório superior, otite média, vômitos, constipação, diarreia, perda de dentes, nasofaringite, erupção cutânea, carreadores odontológicos e irritabilidade.

77. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 76, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é formulada para a administração em uma composição compreendendo pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

78. sALP, de acordo com a reivindicação 77, **caracterizada pelo** fato de que o pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável é salino.

79. sALP, de acordo com a reivindicação 78, **caracterizada pelo** fato de que pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável

compreende cloreto de sódio e fosfato de sódio.

80. sALP, de acordo com a reivindicação 79, **caracterizada pelo** fato de que pelo menos um carreador, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável compreende cerca de 150 mM de cloreto de sódio e cerca de 25 mM de fosfato de sódio.

81. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 80, **caracterizada pelo** fato de que a composição é formulada para administração subcutânea, intramuscular, intravenosa, oral, nasal, sublingual, intratecal ou intradérmica.

82. sALP, de acordo com a reivindicação 81, **caracterizada pelo** fato de que a composição é formulada para administração subcutânea.

83. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 82, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é fisiologicamente ativa em relação a PEA, PPi e PLP.

84. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 83, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é cataliticamente competente para melhorar a mineralização do esqueleto no osso.

85. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 45 a 84, **caracterizada pelo** fato de que a sALP é o domínio extracelular solúvel de uma fosfatase alcalina.

86. sALP, de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 85, **caracterizada pelo** fato de que o paciente é um humano.

87. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 44, **caracterizado pelo** fato de que a

administração da sALP resulta em um ou ambos dentre os seguintes:

(i) uma alteração estatisticamente significativa na média dos mínimos quadrados a partir da linha de base das concentrações de PPi em uma amostra de plasma do paciente; ou

(ii) uma alteração estatisticamente significativa na média dos quadrados mínimos a partir da linha de base das concentrações de PLP em uma amostra de plasma do paciente.

88. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 44 e 87, **caracterizado pelo** fato de que a administração de sALP resulta em um $AUC_{último}$ cerca de 2.000 U × dia/L a cerca de 7.000 U × dia/L, em que o $AUC_{último}$ é igual à área sob uma curva de concentração-tempo do tempo zero ao tempo de uma última concentração observada em um intervalo de dosagem.

89. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 44, 87 e 88, **caracterizado pelo** fato de que a administração da sALP resulta em uma AUC_{inf} de cerca de 4.000 U × dia/L a cerca de 10.000 U × dia/L, em que a AUC_{inf} é igual à área sob uma curva de concentração-tempo do tempo zero ao infinito.

90. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 44 e 87 a 89, **caracterizado pelo** fato de que a administração da sALP resulta em $t_{1/2}$ de cerca de 3 dias a cerca de 8 dias.

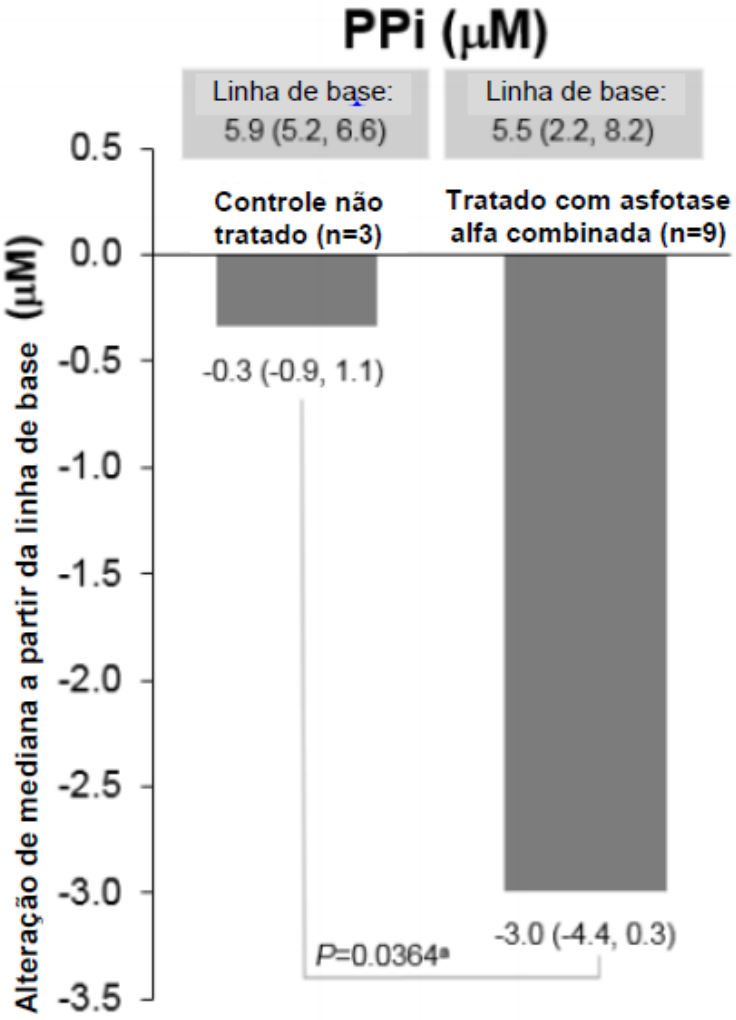

PPi (µM)
Linha de base:
5.9 (5.2, 6.6)
Linha de base:
5.5 (2.2, 8.2)
Controle não tratado (n=3)
Tratado com asfotase alfa combinada (n=9)
Alteração de mediana a partir da linha de base (µM)
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
-3.5
-0.3 (-0.9, 1.1)
-3.0 (-4.4, 0.3)
P=0.0364a

FIG. 1A

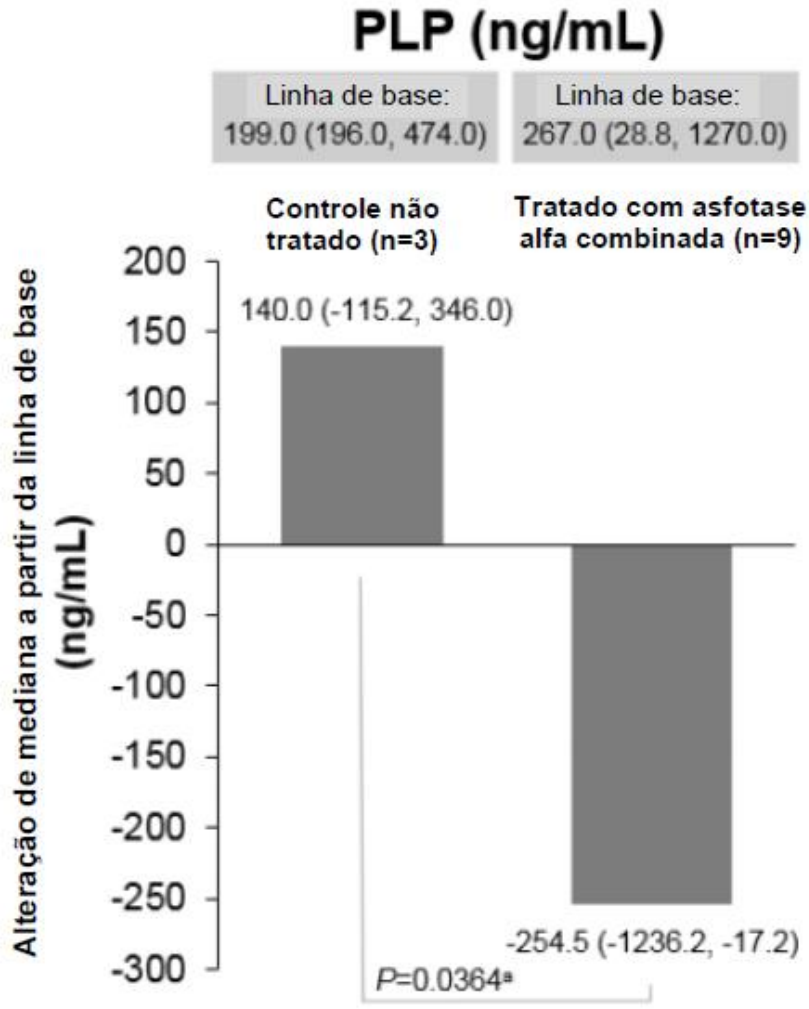

PLP (ng/mL)
Linha de base:
199.0 (196.0, 474.0)
Linha de base:
267.0 (28.8, 1270.0)
Controle não tratado (n=3)
Tratado com asfotase alfa combinada (n=9)
Alteração de mediana a partir da linha de base (ng/mL)
200
150
100
50
0
-50
-100
-150
-200
-250
-300
140.0 (-115.2, 346.0)
-254.5 (-1236.2, -17.2)
P=0.0364a

FIG. 1B

FIG. 2

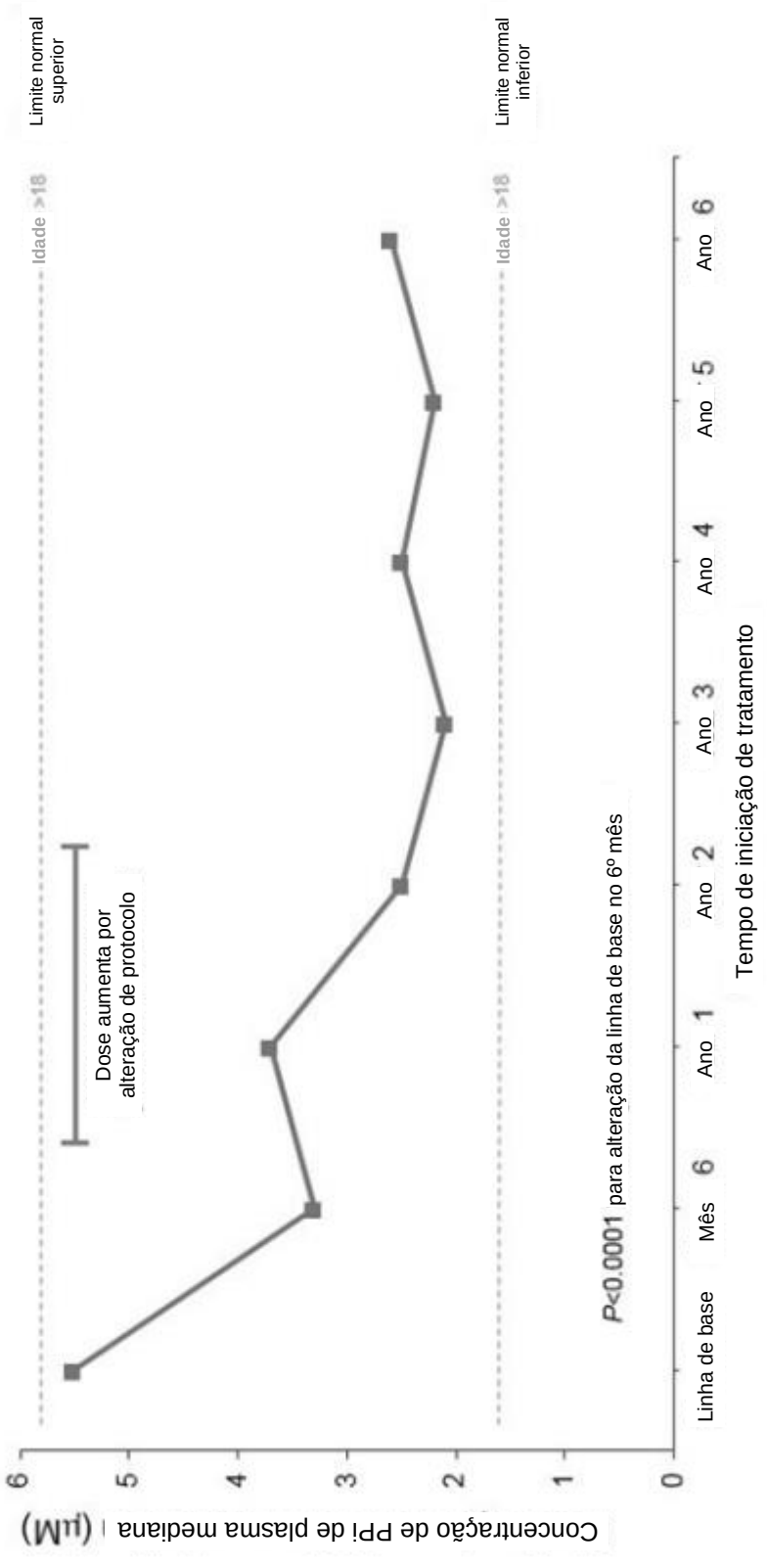

Limite normal superior
Idade ≥18
Limite normal inferior
Idade ≥18
Dose aumenta por alteração de protocolo
P<0.0001 para alteração da linha de base no 6º mês
Concentração de PPi de plasma mediana (μM)
0
1
2
3
4
5
6
Linha de base
Mês 6
Ano 1
Ano 2
Ano 3
Ano 4
Ano 5
Ano 6
Tempo de iniciação de tratamento

FIG. 3

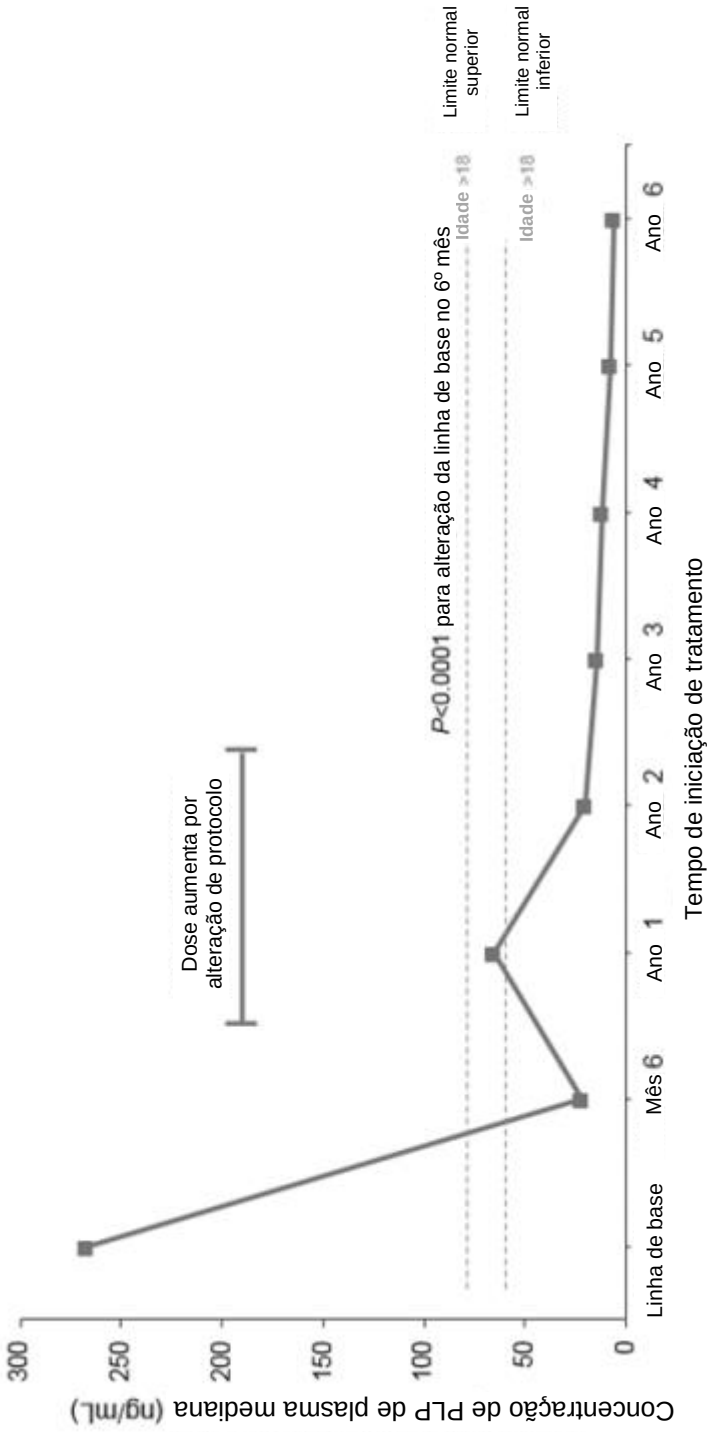

Concentração de PLP de plasma mediana (ng/mL)
300
250
200
150
100
50
0
Linha de base
Mês 6
Ano 1
Ano 2
Ano 3
Ano 4
Ano 5
Ano 6
Tempo de iniciação de tratamento
Dose aumenta por alteração de protocolo
P<0.0001 para alteração da linha de base no 6º mês
Idade >18
Idade >18
Limite normal superior
Limite normal inferior

FIG. 4

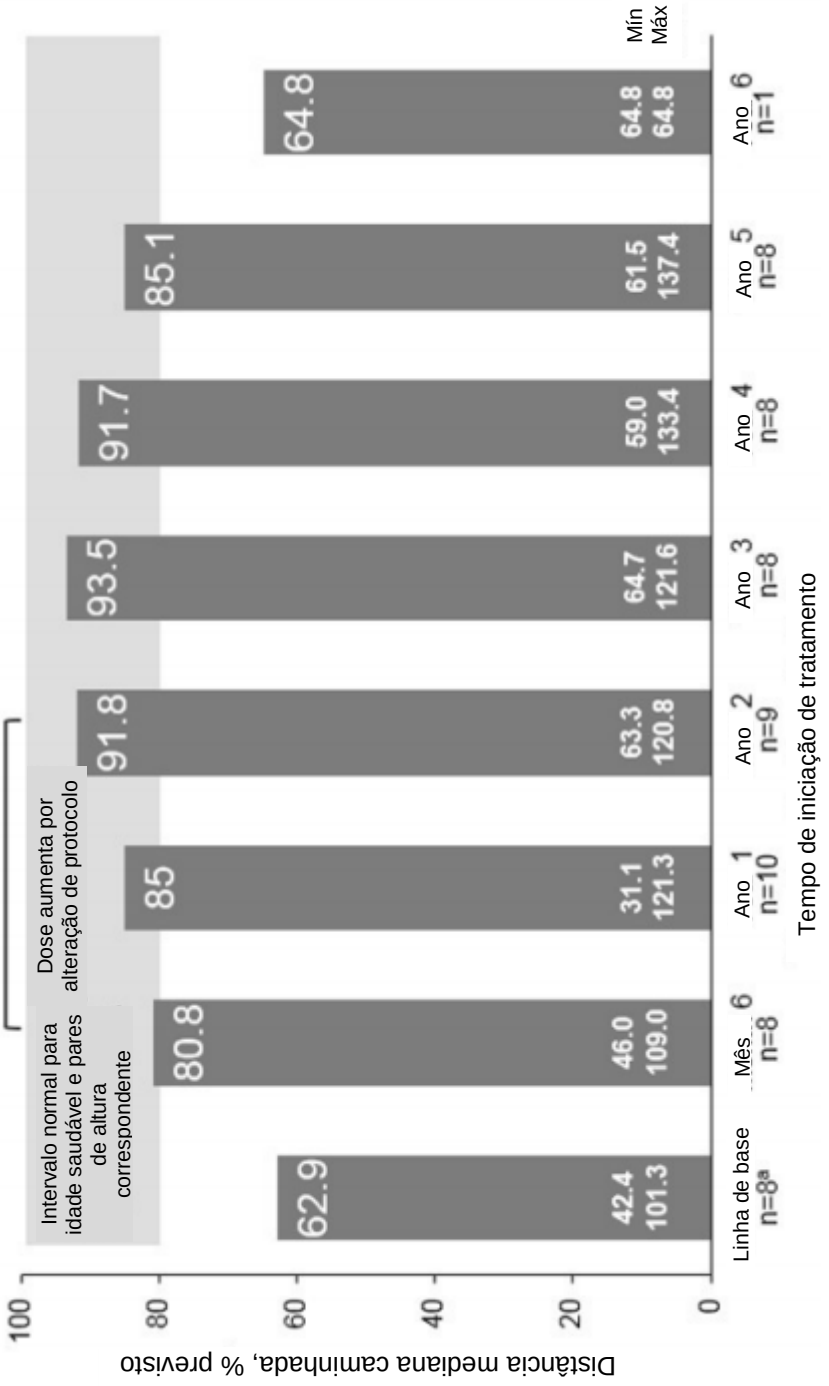

Distância mediana caminhada, % previsto
100
80
60
40
20
0
Intervalo normal para idade saudável e pares de altura correspondente
Dose aumenta por alteração de protocolo
62.9
80.8
85
91.8
93.5
91.7
85.1
64.8
42.4
101.3
46.0
109.0
31.1
121.3
63.3
120.8
64.7
121.6
59.0
133.4
61.5
137.4
64.8
64.8
Mín
Máx
Linha de base n=8ª
Mês 6 n=8
Ano 1 n=10
Ano 2 n=9
Ano 3 n=8
Ano 4 n=8
Ano 5 n=8
Ano 6 n=1
Tempo de iniciação de tratamento

FIG. 5

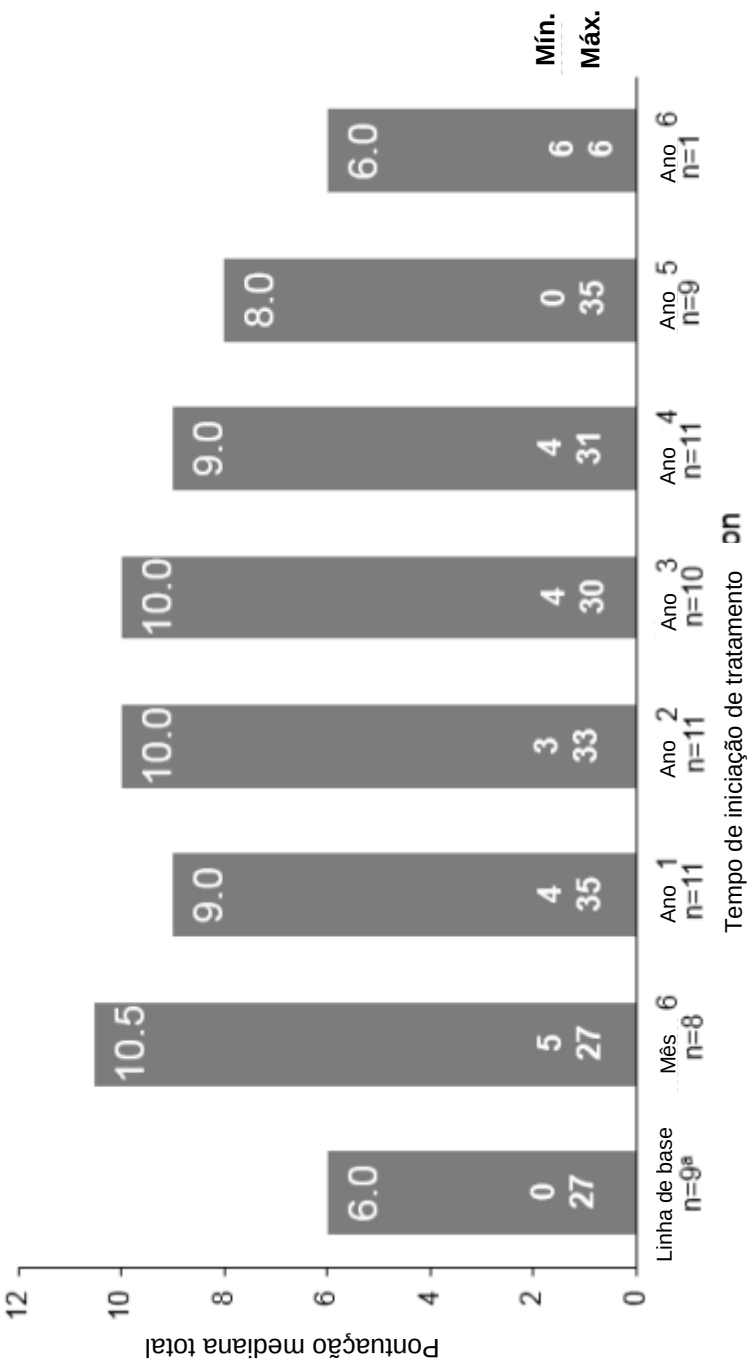
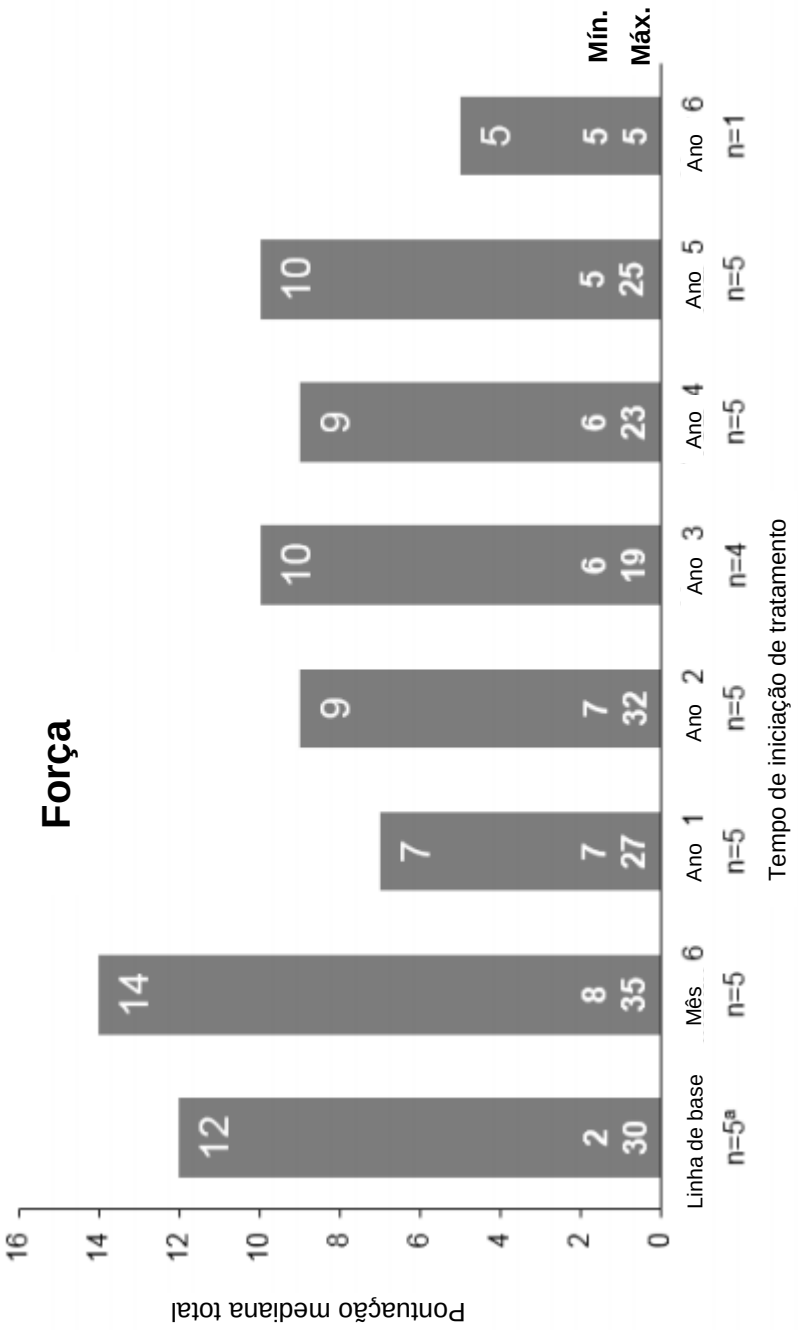

Velocidade e agilidade de corrida
Pontuação mediana total
0
2
4
6
8
10
12
6.0
10.5
9.0
10.0
10.0
9.0
8.0
6.0
Mín.
Máx.
0
27
5
27
4
35
3
33
4
30
4
31
0
35
6
6
Linha de base n=9a
Mês 6 n=8
Ano 1 n=11
Ano 2 n=11
Ano 3 n=10
Ano 4 n=11
Ano 5 n=9
Ano 6 n=1
Tempo de iniciação de tratamento

FIG. 6


Força
Pontuação mediana total
0
2
4
6
8
10
12
14
16
Mín.
Máx.
12
14
7
9
10
9
10
5
2
30
8
35
7
27
7
32
6
19
6
23
5
25
5
5
Linha de base
n=5ª
Mês 6
n=5
Ano 1
n=5
Ano 2
n=5
Ano 3
n=4
Ano 4
n=5
Ano 5
n=5
Ano 6
n=1
Tempo de iniciação de tratamento

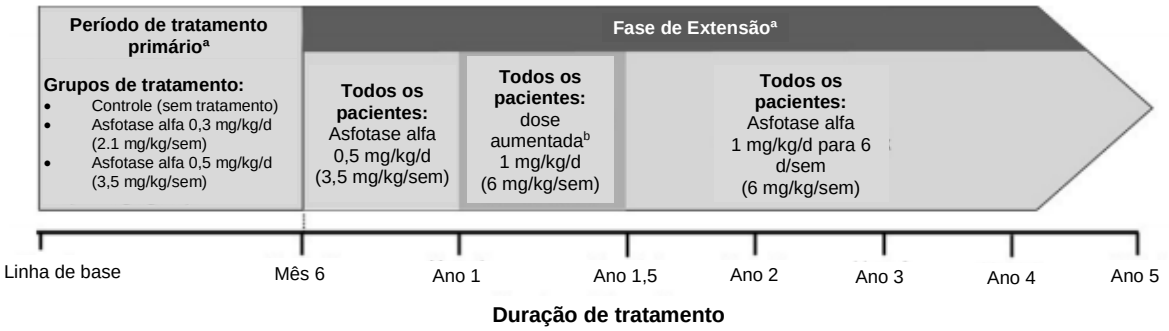

Período de tratamento primário[a]
Grupos de tratamento:
• Controle (sem tratamento)
• Asfotase alfa 0,3 mg/kg/d (2.1 mg/kg/sem)
• Asfotase alfa 0,5 mg/kg/d (3,5 mg/kg/sem)
Fase de Extensão[a]
Todos os pacientes: Asfotase alfa 0,5 mg/kg/d (3,5 mg/kg/sem)
Todos os pacientes: dose aumentada[b] 1 mg/kg/d (6 mg/kg/sem)
Todos os pacientes: Asfotase alfa 1 mg/kg/d para 6 d/sem (6 mg/kg/sem)
Linha de base
Mês 6
Ano 1
Ano 1,5
Ano 2
Ano 3
Ano 4
Ano 5
Duração de tratamento

FIG. 7

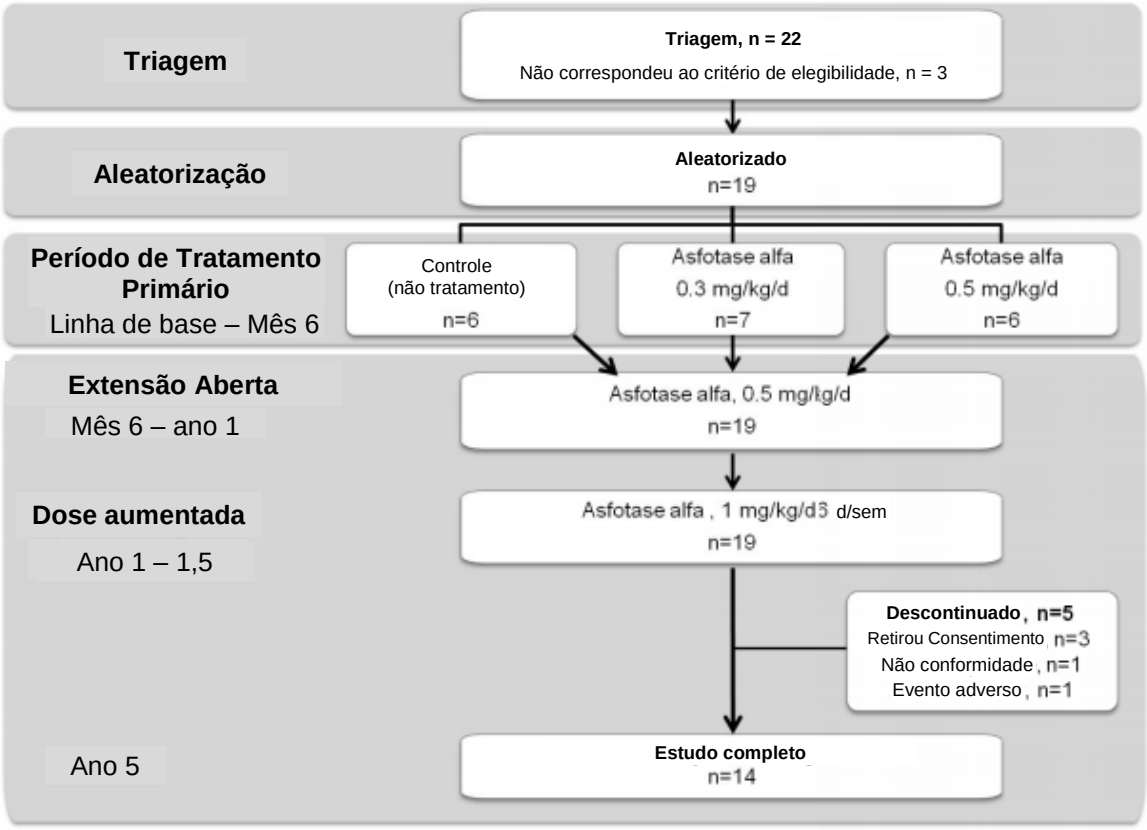

Triagem
Triagem, n = 22
Não correspondeu ao critério de elegibilidade, n = 3
Aleatorização
Aleatorizado
n=19
Período de Tratamento Primário
Linha de base – Mês 6
Controle (não tratamento) n=6
Asfotase alfa 0.3 mg/kg/d n=7
Asfotase alfa 0.5 mg/kg/d n=6
Extensão Aberta
Mês 6 – ano 1
Asfotase alfa, 0.5 mg/kg/d
n=19
Dose aumentada
Ano 1 – 1,5
Asfotase alfa , 1 mg/kg/d3 d/sem
n=19
Descontinuado , n=5
Retirou Consentimento n=3
Não conformidade , n=1
Evento adverso , n=1
Ano 5
Estudo completo
n=14

FIG. 8

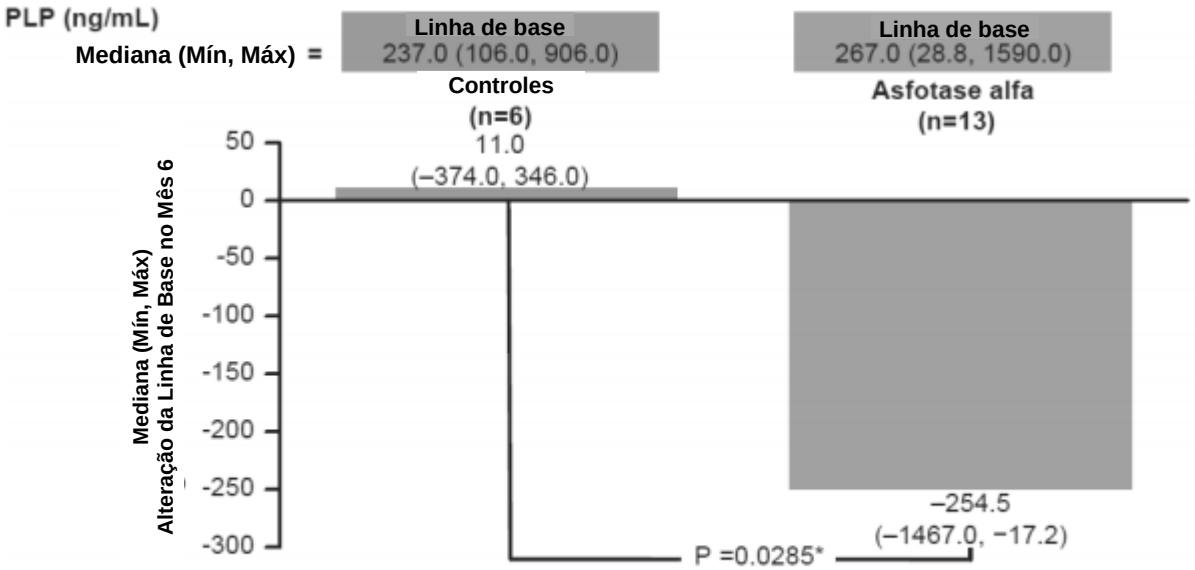

PLP (ng/mL)
Mediana (Mín, Máx) =
Linha de base
237.0 (106.0, 906.0)
Linha de base
267.0 (28.8, 1590.0)
Controles
(n=6)
Asfotase alfa
(n=13)
Mediana (Mín, Máx)
Alteração da Linha de Base no Mês 6
50
0
-50
-100
-150
-200
-250
-300
11.0
(–374.0, 346.0)
–254.5
(–1467.0, –17.2)
P =0.0285*

FIG. 9A

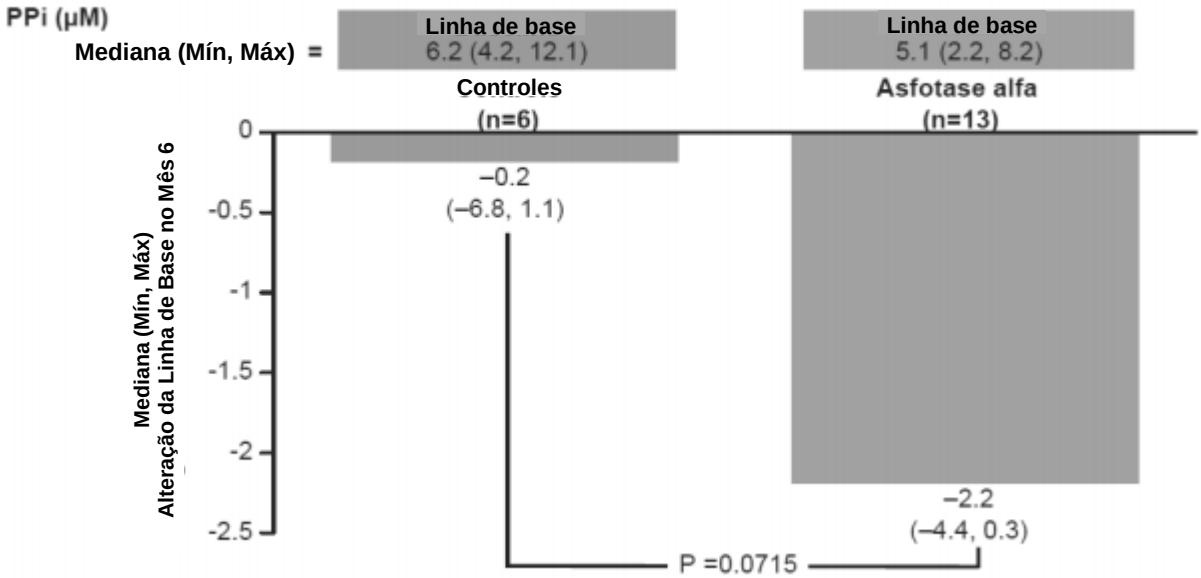

PPi (µM)
Mediana (Mín, Máx) =
Linha de base
6.2 (4.2, 12.1)
Linha de base
5.1 (2.2, 8.2)
Controles
(n=6)
Asfotase alfa
(n=13)
Mediana (Mín, Máx)
Alteração da Linha de Base no Mês 6
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-2.5
–0.2
(–6.8, 1.1)
–2.2
(–4.4, 0.3)
P =0.0715

FIG. 9B

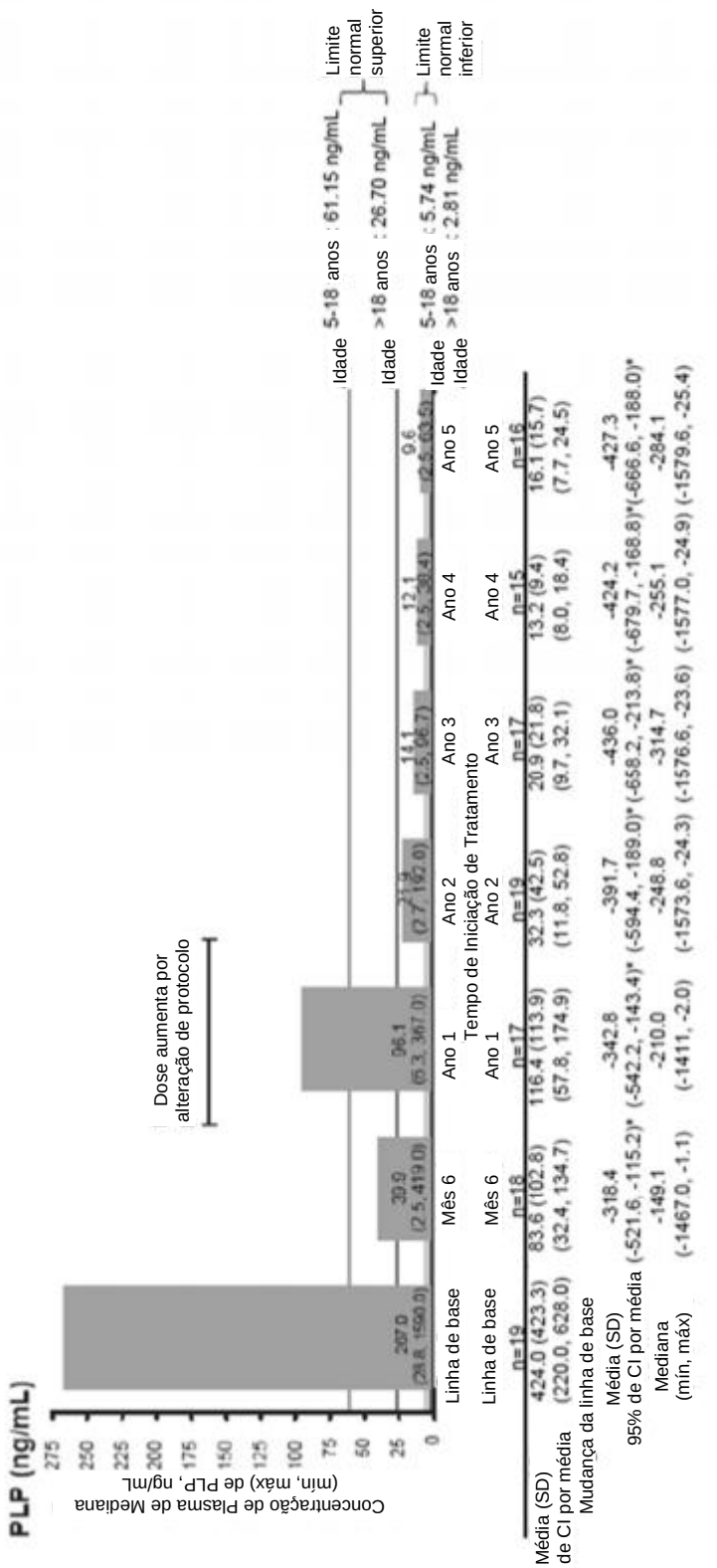
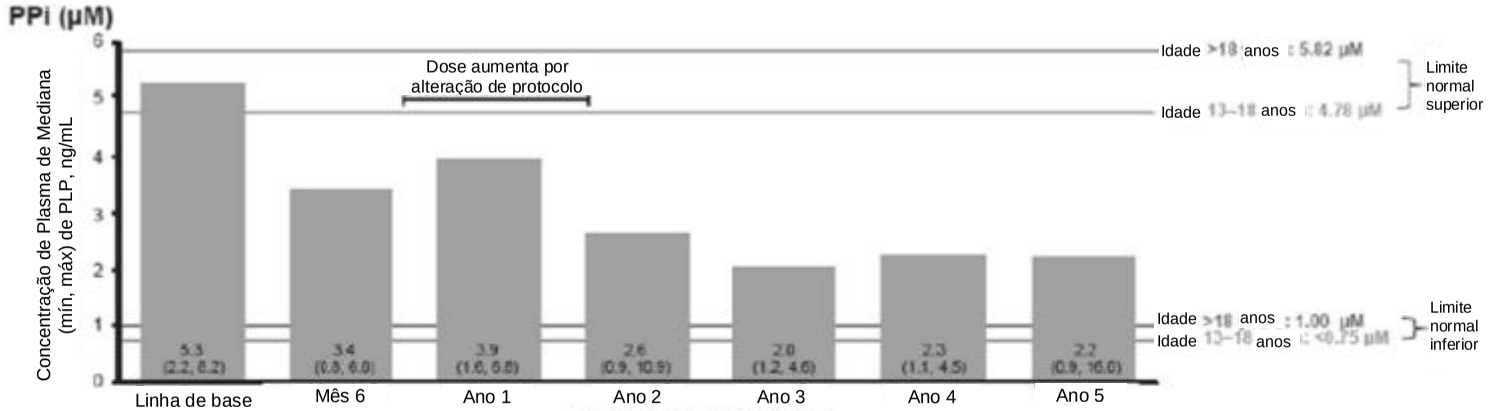

PLP (ng/mL)
Concentração de Plasma de Mediana (mín, máx) de PLP, ng/mL
Dose aumenta por alteração de protocolo
Idade 5-18 anos : 61.15 ng/mL
Idade >18 anos : 26.70 ng/mL
Limite normal superior
Idade 5-18 anos : 5.74 ng/mL
Idade >18 anos : 2.81 ng/mL
Limite normal inferior
Linha de base
Mês 6
Ano 1
Ano 2
Ano 3
Ano 4
Ano 5
Tempo de Iniciação de Tratamento
Média (SD)
95% de CI por média
Mudança da linha de base
Média (SD)
95% de CI por média
Mediana
(mín, máx)

FIG. 10A



	Linha de base	Mês 6	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5
	n=19	n=19	n=19	n=19	n=19	n=15	n=16
Média (SD) 95% de CI por média	5.4 (1.5) (4.7, 6.2)	3.5 (1.2) (2.9, 4.1)	4.0 (1.3) (3.4, 4.6)	3.0 (2.2) (2.0, 4.1)	2.1 (0.8) (1.7, 2.6)	2.4 (0.9) (1.9, 2.9)	3.2 (3.6) (1.3, 5.1)
Mudança da linha de base							
Média (SD) 95% de CI por média		-2.0 (-2.5, 1.4)*	-1.4 (-2.1, -0.7)*	-2.4 (-3.5, -1.3)*	-3.4 (-4.2, -2.6)*	-3.0 (-3.9, -2.0)*	-2.4 (-4.0, -0.7)*
Mediana (mín, máx)		-1.3 (-4.0, 1.4)	-1.3 (-4.0, 1.4)	-2.4 (-6.9, 4.1)	-2.9 (-7.0, 0.2)	-3.0 (-7.0, 0.7)	-3.0 (-5.2, 7.8)

FIG. 10B

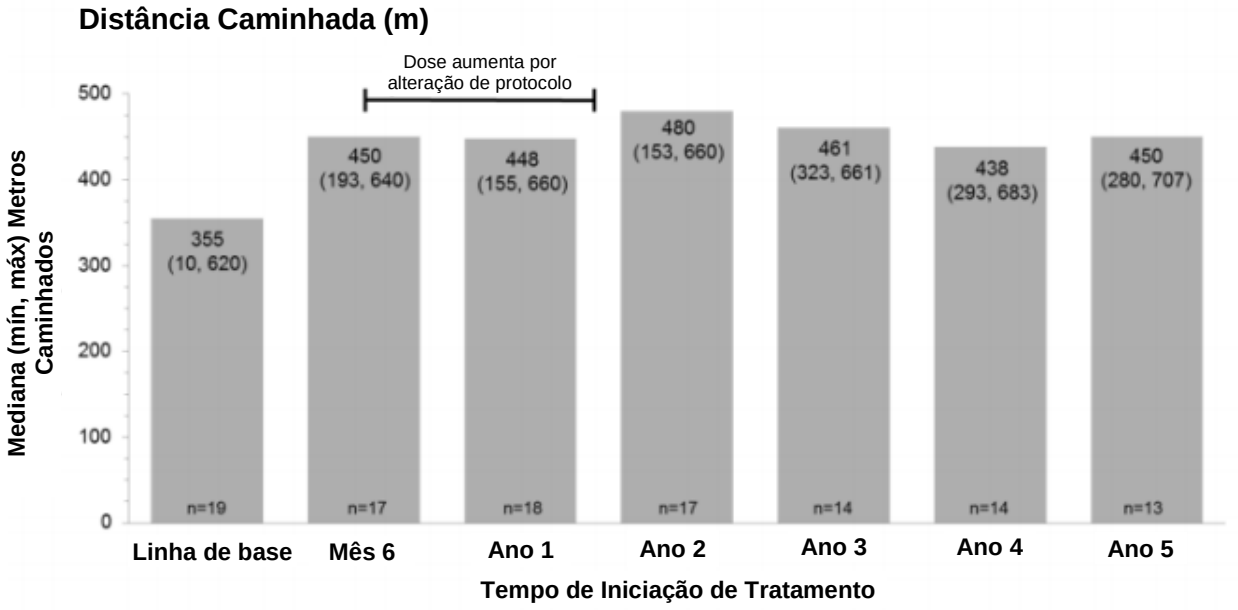


FIG. 11A

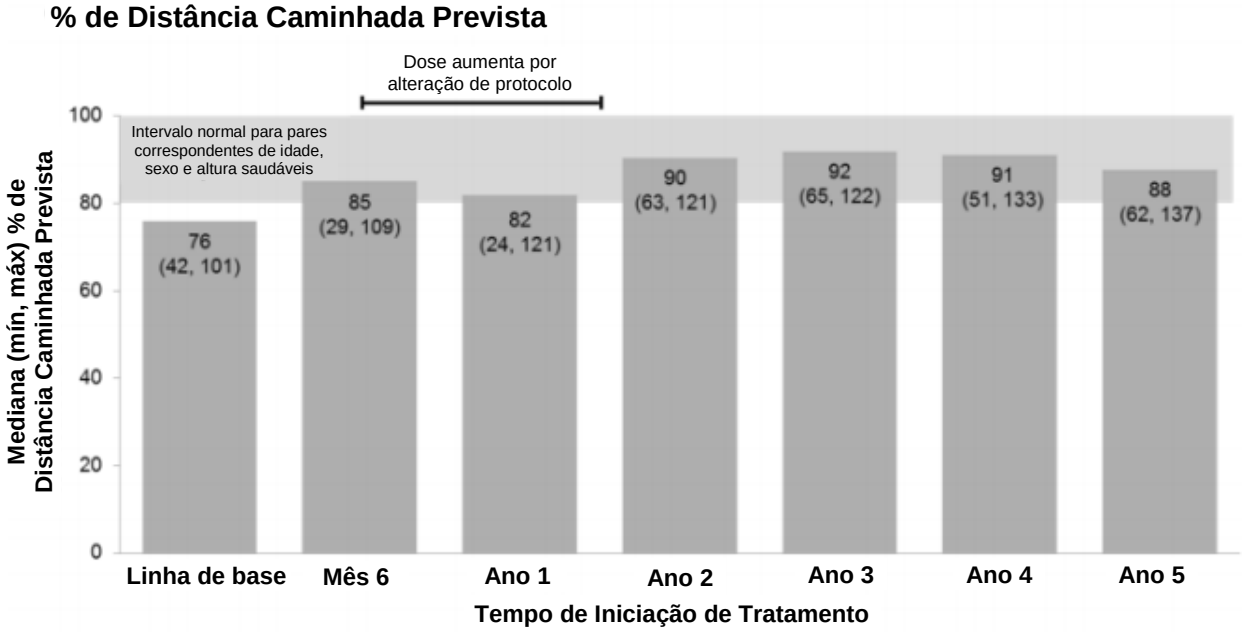


FIG. 11B

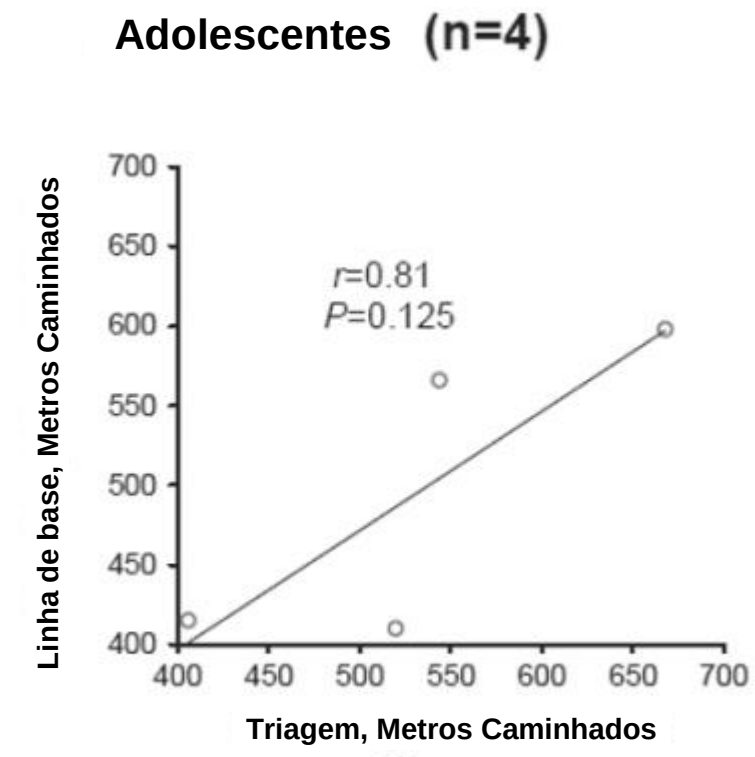


FIG. 12A

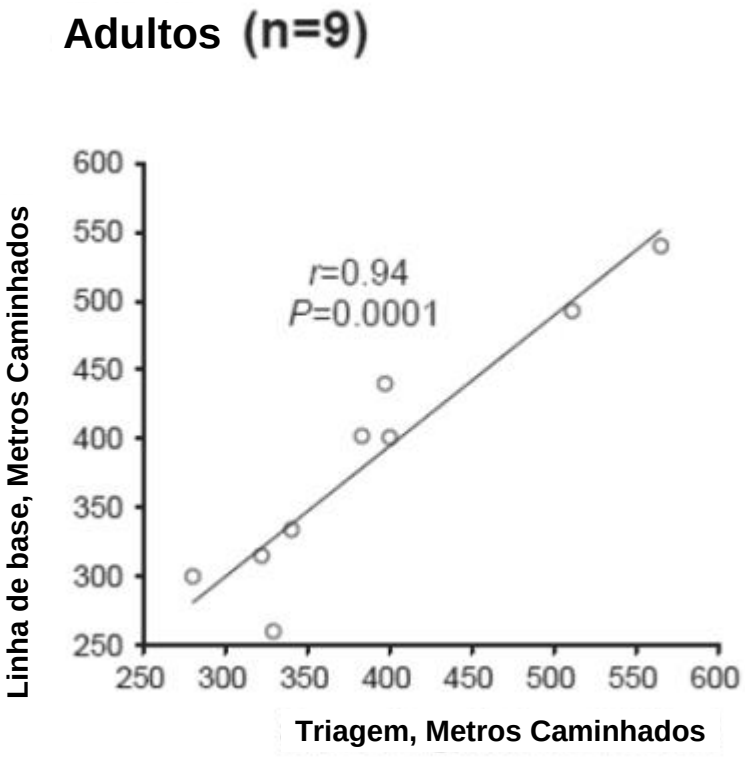


FIG. 12B

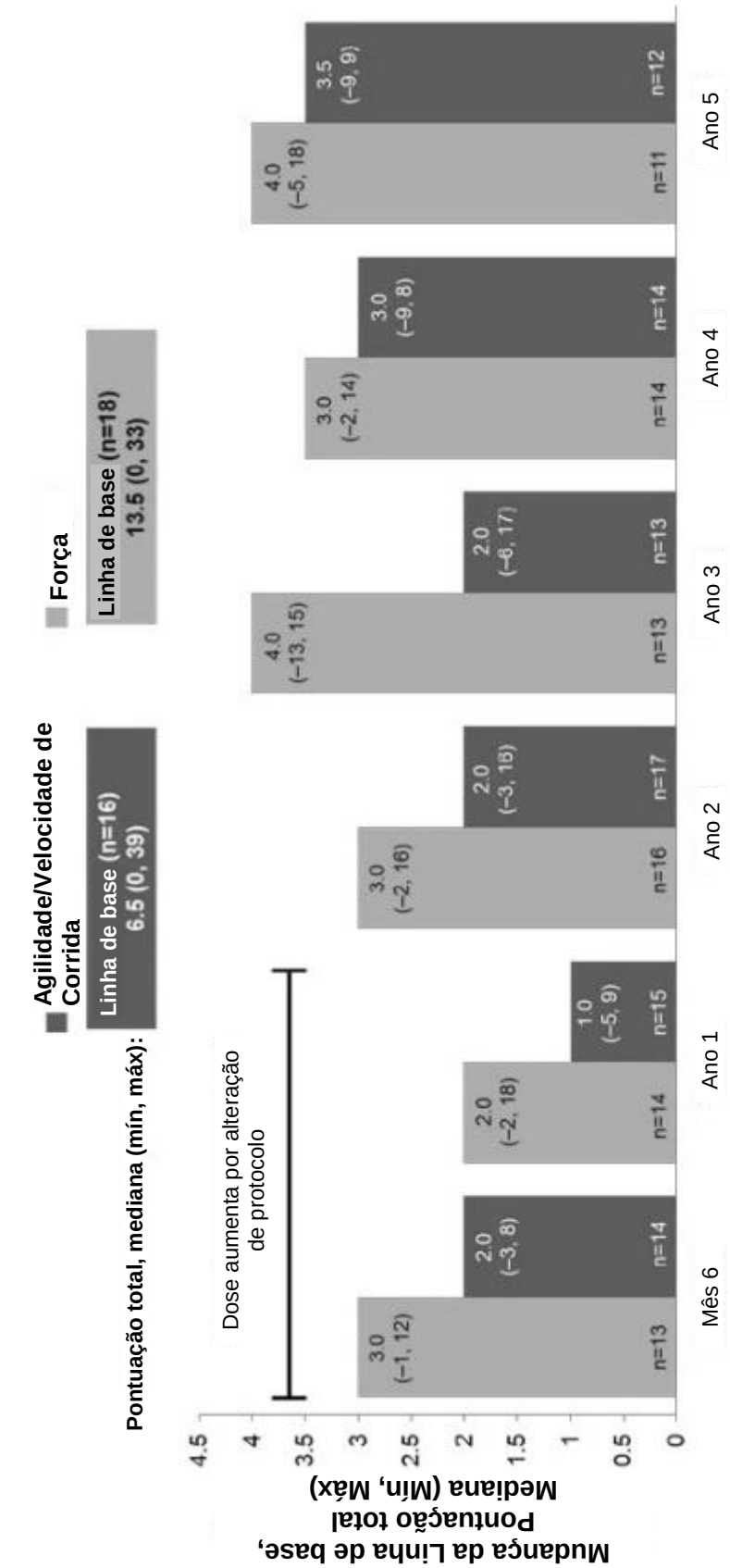
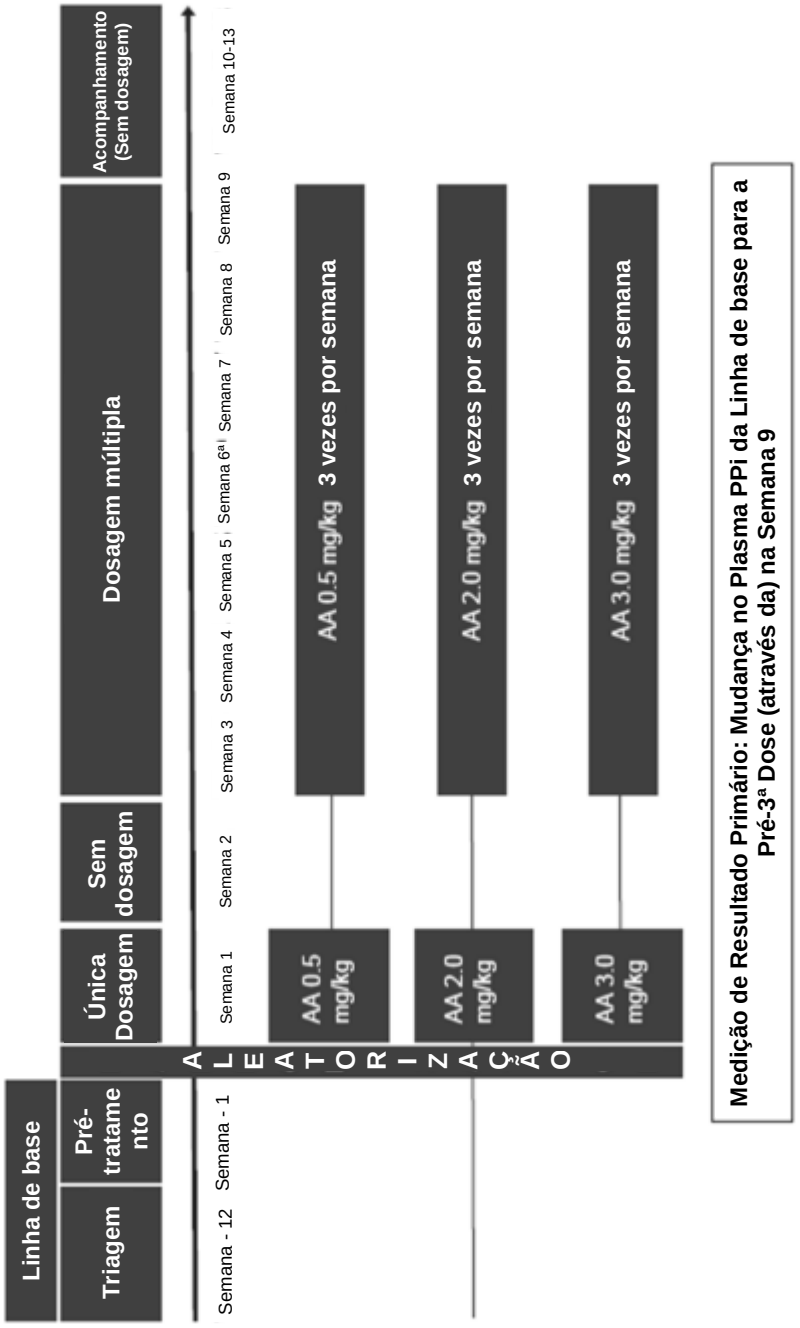

Agilidade/Velocidade de Corrida
Força
Linha de base (n=16) 6.5 (0, 39)
Linha de base (n=18) 13.5 (0, 33)
Pontuação total, mediana (mín, máx):
Dose aumenta por alteração de protocolo
Mudança da Linha de base, Pontuação total Mediana (Mín, Máx)
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
3.0 (−1, 12) n=13
2.0 (−3, 8) n=14
2.0 (−2, 18) n=14
1.0 (−5, 9) n=15
3.0 (−2, 16) n=16
2.0 (−3, 15) n=17
4.0 (−13, 15) n=13
2.0 (−6, 17) n=13
3.0 (−2, 14) n=14
3.0 (−9, 8) n=14
4.0 (−5, 18) n=11
3.5 (−9, 9) n=12
Mês 6
Ano 1
Ano 2
Ano 3
Ano 4
Ano 5
Tempo para Iniciação de Tratamento

FIG. 13

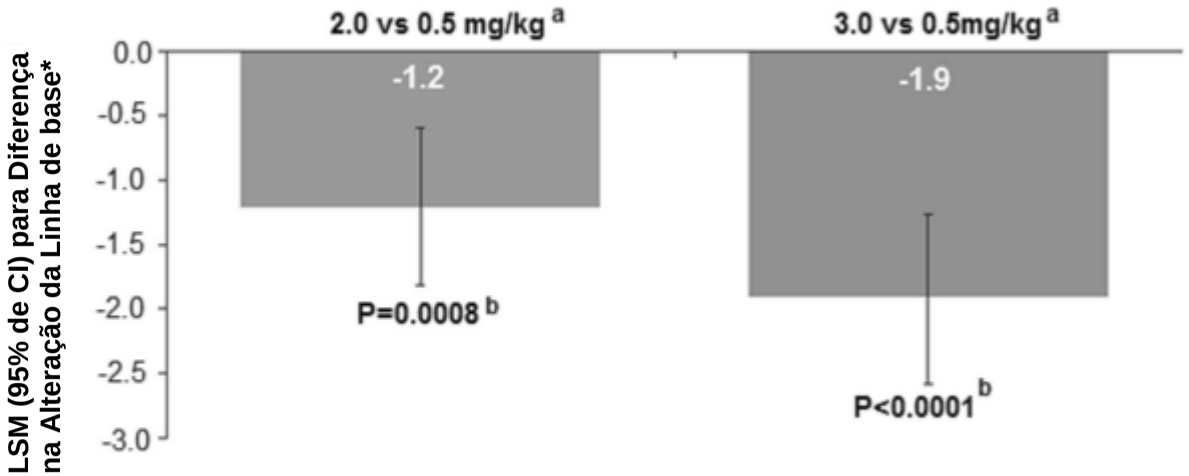
FIG. 14



[a]Nenhuma das avaliações de PD foi realizada na Semana 6
AA = asfotase alfa; PD = farmacodinâmica; PPi = pirofosfato inorgânico

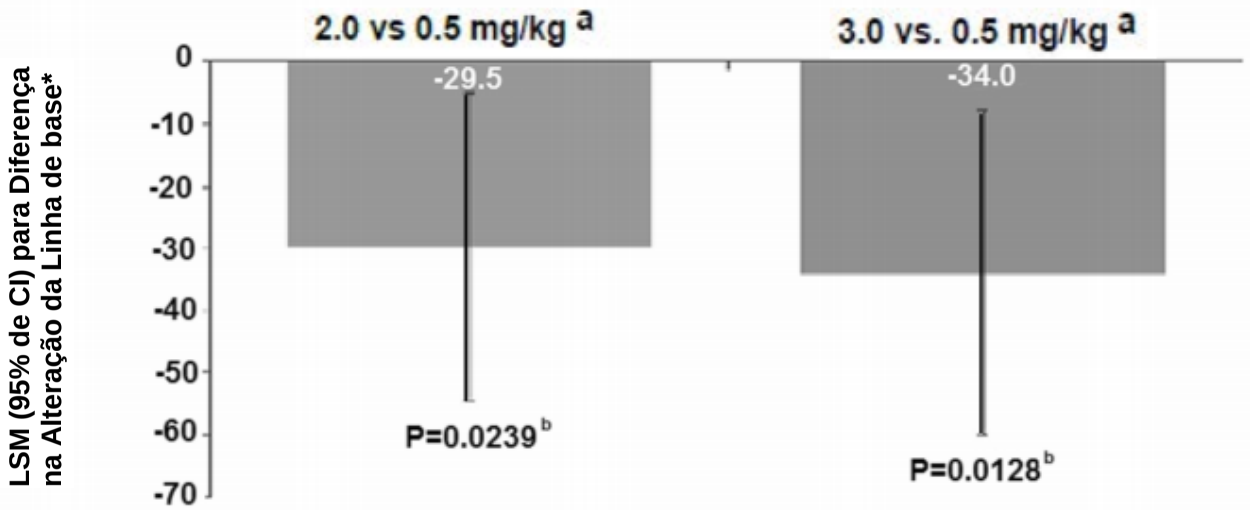
Petição 870190097620, de 30/09/2019, pág. 309/633

FIG. 15



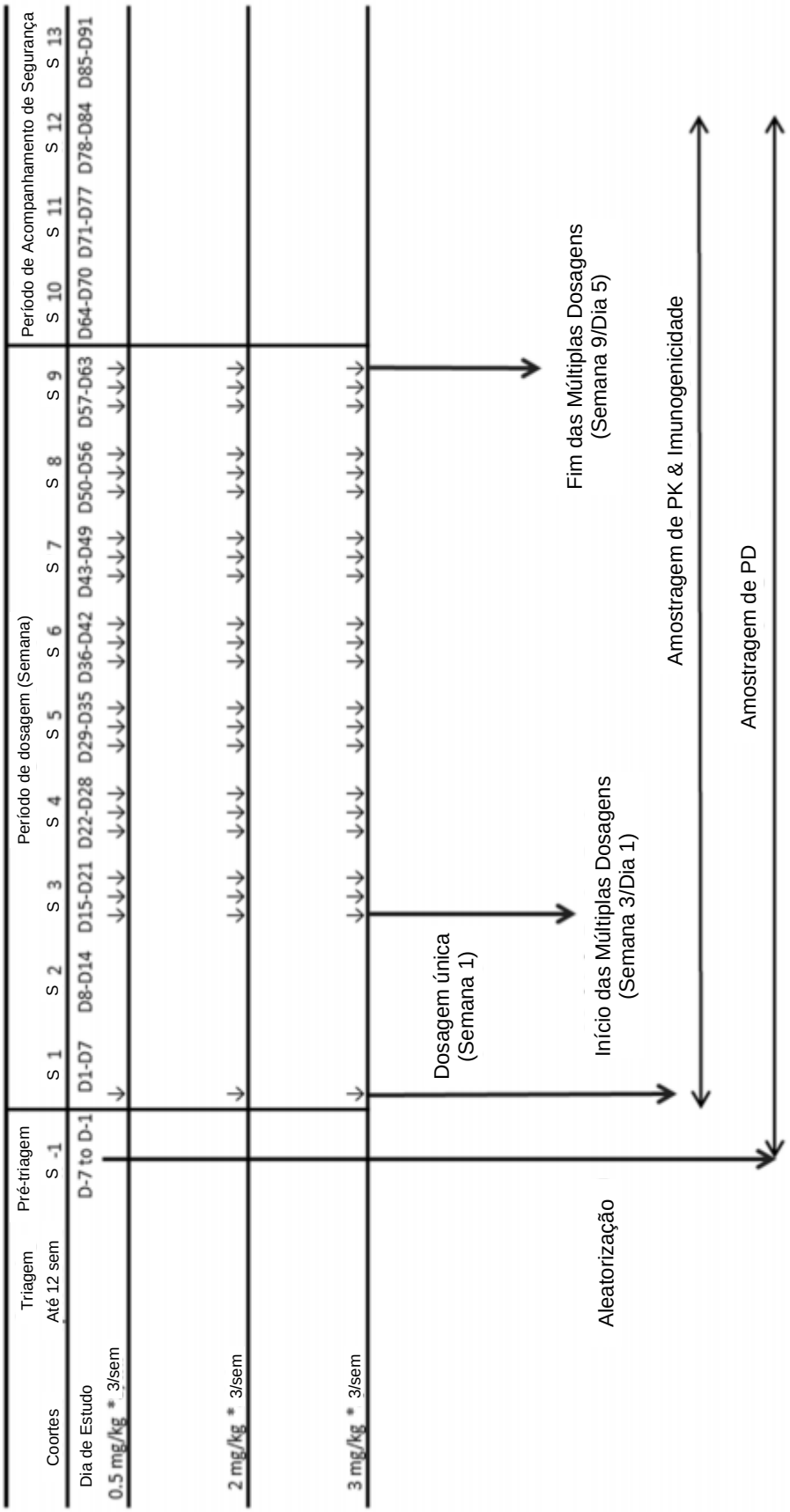
[a]Doses administradas 3 vezes por semana durante o período de dosagem múltipla
[b]A partir da análise primária do modelo misto de medidas repetidas de máxima verossimilhança restrita
CI = Intervalo de confiança; LSM = Média dos quadrados mínimo; PPi = pirofosfato inorgânico

FIG. 16



[a]Doses administradas 3 vezes por semana durante o período de dosagem múltipla
[b]A partir da análise secundária do modelo misto de medidas repetidas de máxima verossimilhança restrita
CI = Intervalo de confiança; LSM = Média dos quadrados mínimo; PLP piridoxal 5'-fosfato

FIG. 17A


Coortes
Triagem Até 12 sem
Pré-triagem S -1
Período de dosagem (Semana)
S 1
S 2
S 3
S 4
S 5
S 6
S 7
S 8
S 9
Período de Acompanhamento de Segurança
S 10
S 11
S 12
S 13
Dia de Estudo
D-7 to D-1
D1-D7
D8-D14
D15-D21
D22-D28
D29-D35
D36-D42
D43-D49
D50-D56
D57-D63
D64-D70
D71-D77
D78-D84
D85-D91
0.5 mg/kg * 3/sem
2 mg/kg * 3/sem
3 mg/kg * 3/sem
Dosagem única (Semana 1)
Início das Múltiplas Dosagens (Semana 3/Dia 1)
Fim das Múltiplas Dosagens (Semana 9/Dia 5)
Aleatorização
Amostragem de PK & Imunogenicidade
Amostragem de PD

Petição 870190097620, de 30/09/2019, pág. 312/633

FIG. 17B

	Semana	Tempos de Amostragem	Dosagem[2]	PPi e PLP apenas	ADA
Período de Pré-Tratamento	Semana -1	Dia -7: - 168h, -156h pré-dose Dia -1: -24h, -12h pré-dose	NA	PK, PPi e PLP	NA
Dosem Única	Semana 1	Dia 1: pré=dose; pós-dose 6h, 12h	D1 (única dose)	Todos	Dia 1: pré-dose
Sem Dosagem	Semana 1	Dia 2: pós-D1 dose 24h, 32h, 36h Dia 3: pós-D1 dose 48h, 56h, 60h Dia 4: pós-D1 dose 72h Dia 5: pós D1 dose 96h Dia 6: pós-D1 dose 120h Dia 7: pós-D1 dose 144h	Nenhuma	Todos	
Sem Dosagem	Semana 2	Dia 8: pós-D1 dose 168h Dia 11: pós-D1 dose 240h	Nenhuma	Todos	Dia 8: pós-D1 dose 168h
Dosagem Semanal (3 vezes por semana)	Semana 3	Dia 15: pré-dose, pós dose 6h		Todos	Dia 15: pré-dose
	Semana 4	Dia 22: pré-dose, pós dose 6h		Todos	Dia 22 pré-dose
	Semana 5	Dia 29: pré-dose (vale), pós dose 6h		Todos	Dia 29: pré-dose
	Semana 6	Nenhum		Nenhum	Nenhum
	Semana 7	Dia 43: pré-dose (vale), pós dose 6h		Todos	Dia 43: pré-dose
	Semana 8	Dia 50: pré-dose (vale), pós dose 6h		Todos	Dia 50: pré-dose
	Semana 9	Dia 57: pré-dose Dia 61: pré-dose (vale), pós dose 6h, 12h Dia 62: pós-D61 dose 24h, 32h, 36h Dia 63: pós-D61 dose 48h, 56h, 60h		Todos	Dia 61: pré-dose
Sem Dosagem	Semana 10	Dia 64: pós-D61 dose 72h Dia 65: pós-D61 dose 96h Dia 66: pós-D61 dose 120h Dia 67: pós-D61 dose 144h Dia 68: pós-D61 dose 168h	Nenhuma	Todos	Dia 68: pós-D61 dose 168h
	Semana 11	Dia 71: pós-D61 dose 240h Dia 75: pós-D61 dose 336h	Nenhuma	Todos	Dia 75: pós-D61 dose 336h
	Semana 12	Dia 80: pós-D61 dose 456h	Nenhuma	Todos	Dia 80: pós-D61 dose 456h
	Semana 13	Dia 87: pós-D61 dose 624h	Nenhuma	Todos	Dia 87: pós-D61 dose 624h

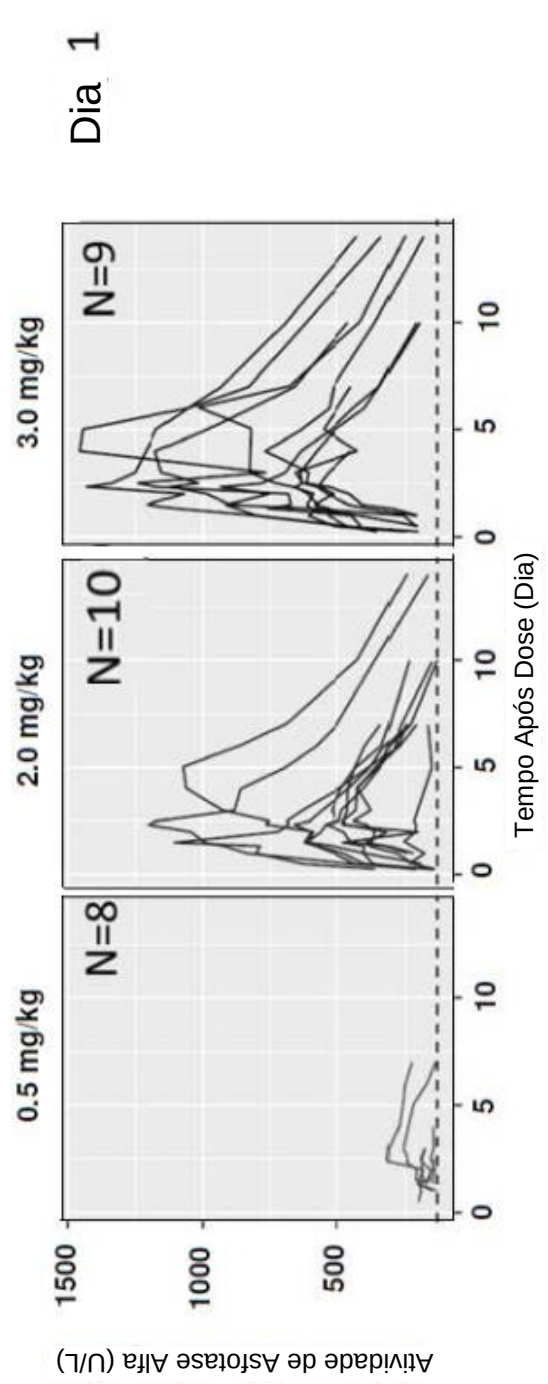


FIG. 18A

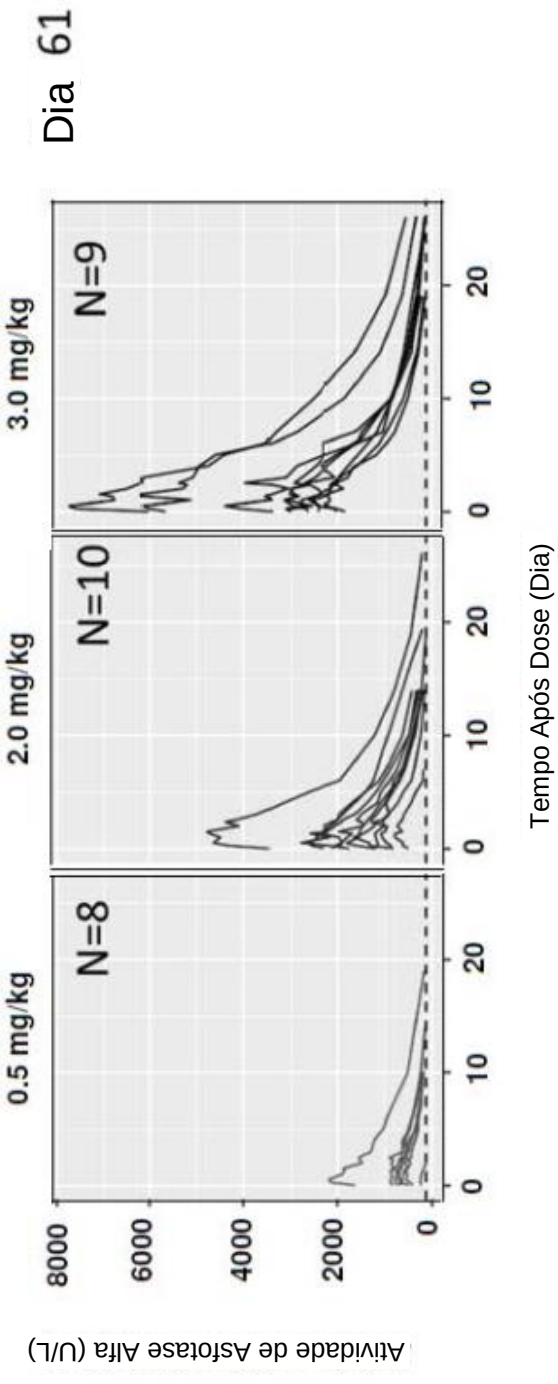


FIG. 18B

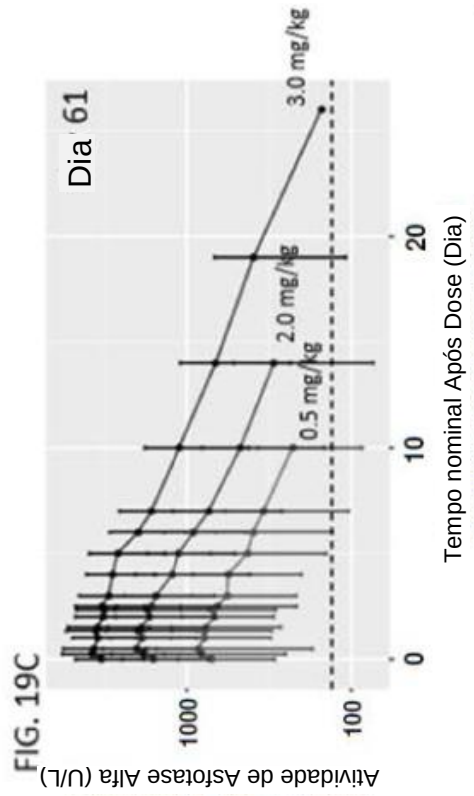


FIG. 19C

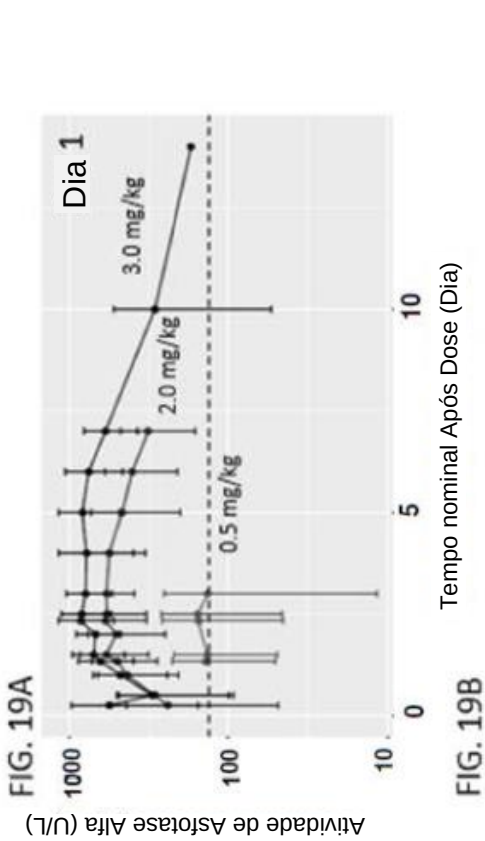


FIG. 19A

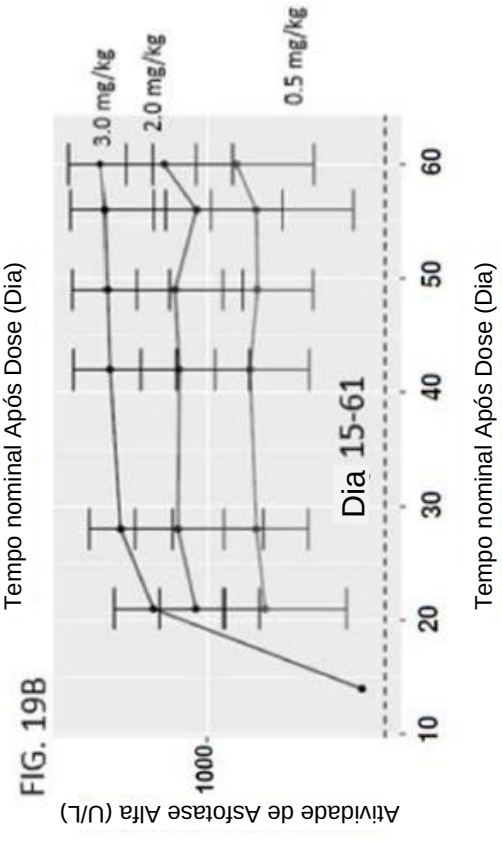


FIG. 19B

FIG. 20A

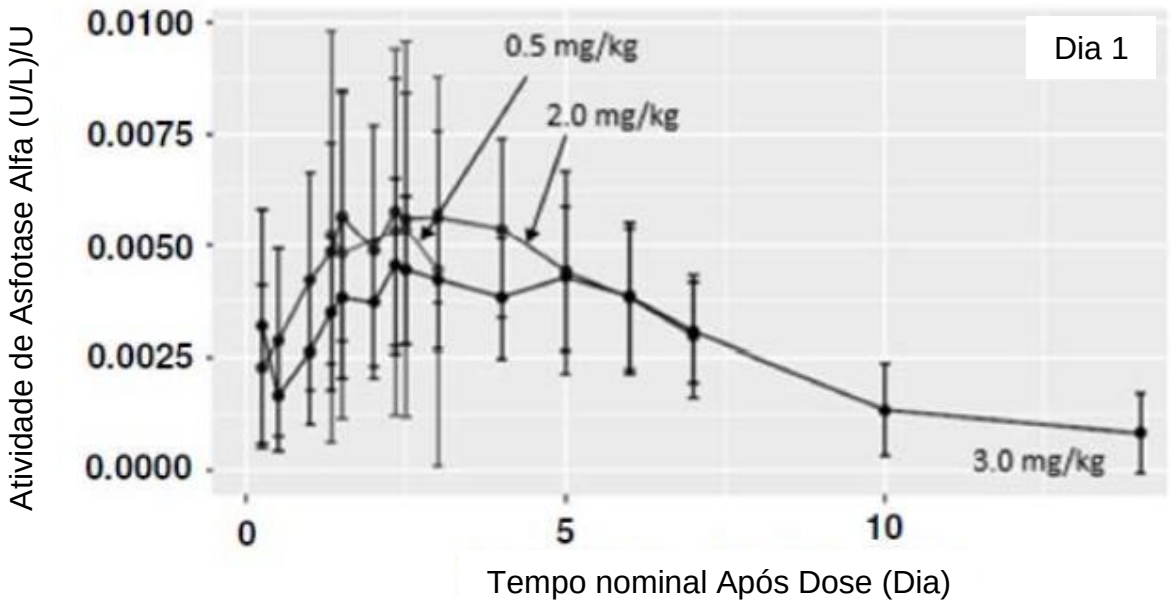


FIG. 20B

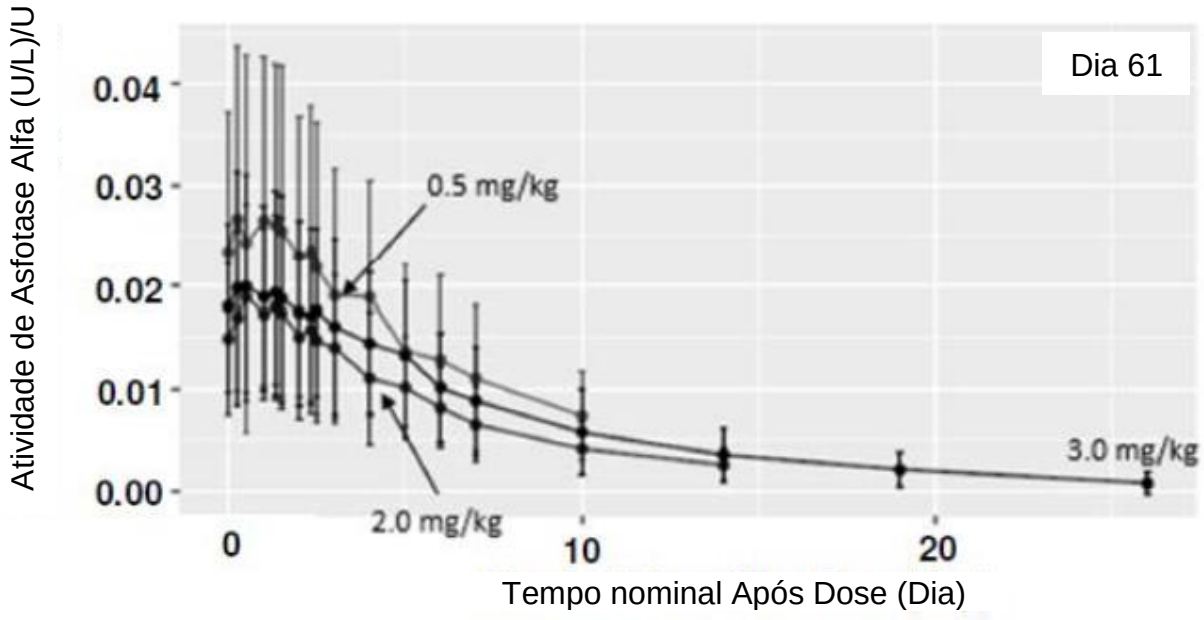
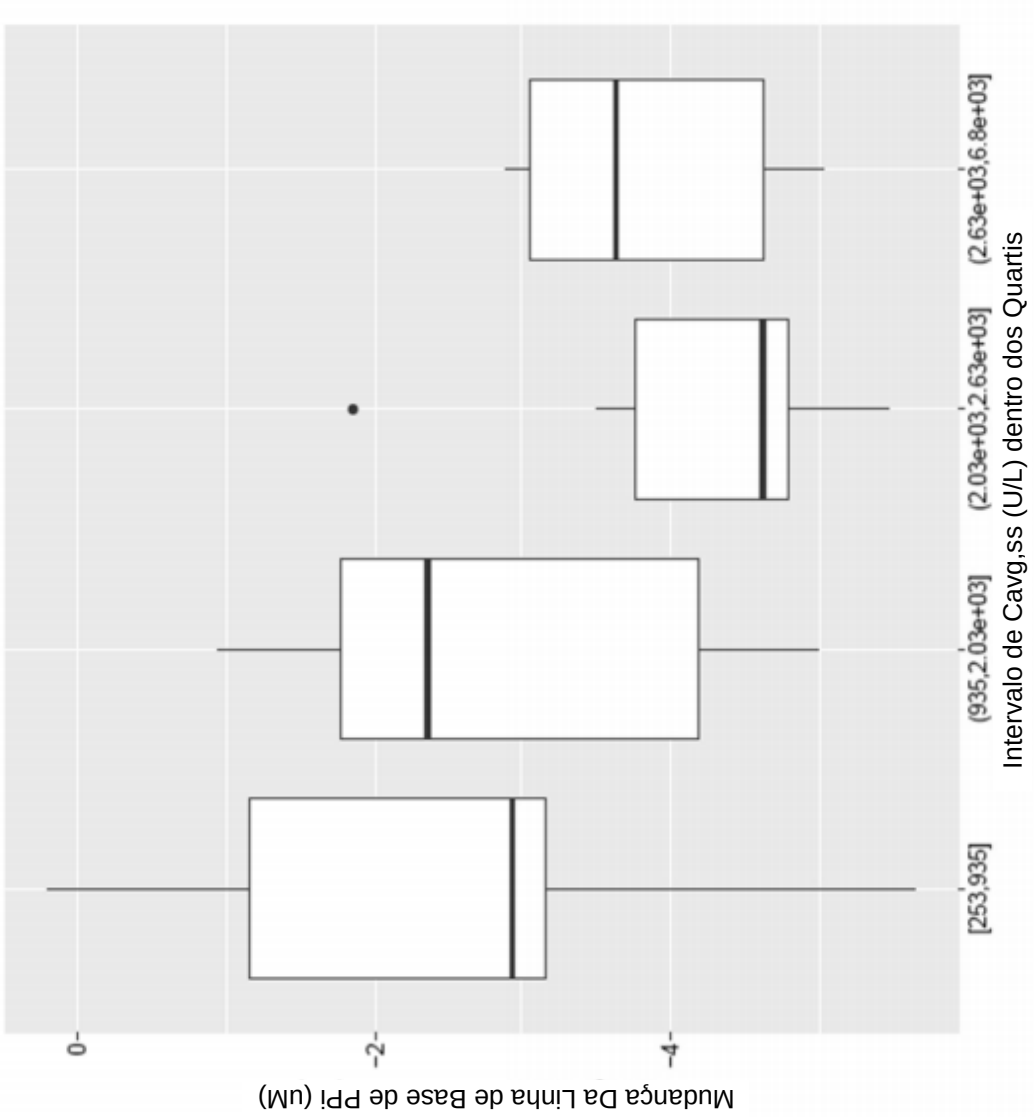


FIG. 21


Mudança Da Linha de Base de PPi (uM)
0
-2
-4
[253,935]
(935,2.03e+03]
(2.03e+03,2.63e+03]
(2.63e+03,6.8e+03]
Intervalo de Cavg,ss (U/L) dentro dos Quartis

RESUMO

"MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE HIPOFOSFATASIA (HPP) EM ADULTOS E ADOLESCENTES"

A divulgação apresenta métodos para o tratamento de hipofosfatasia (HPP) em um paciente (por exemplo, um adulto com HPP, tal como um adulto com HPP de início pediátrico, ou um adolescente com HPP) apresentando concentrações inferiores de pirofosfato (PPi) ou de piridoxal 5'-fosfato (PLP), por exemplo, em uma amostra de plasma, deficiências físicas ou diminuição da capacidade de andar através da administração de uma fosfatase alcalina solúvel (sALP) ao paciente.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1

Campo 2

Outras Informações:

- Nome do Arquivo: PN008183_Sequence_Listing (147292197).txt
- Data de Geração do Código: 30/09/2019
- Hora de Geração do Código: 15:08:26
- Código de Controle:
  - Campo 1: 38A2778530D15F45
  - Campo 2: CE395A3AC49797CE