



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20171905 A2

HR P20171905 A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) MKP:

A61K 48/00 (2006.01)

A61K 49/14 (2006.01)

C12N 9/48 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(21) Broj prijave u HR:

P20171905A

(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR:

08.12.2017.

(43) Datum objave prijave patenta u HR:

18.05.2018.

(86) Broj međunarodne prijave:

PCT/US2016031074

Datum podnošenja međunarodne prijave

05.05.2016.

(87) Broj međunarodne objave:

WO 2016/182862

Datum međunarodne objave

17.11.2016.

(31) Broj prve prijave: 62/158,789
62/300,171

(32) Datum podnošenja prve prijave: 08.05.2015.
26.02.2016.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
US

(71) Podnositelj prijave:

**BIOMARIN PHARMACEUTICAL INC., 105 Digital Drive, 94949 Novato, CA
94949, US**

(72) Izumitelji:

**Thomas W. Lester, 4267 Mabel Avenue, 94546 Castro Valley, CA, US
Saeed Moshashae, 1869 Las Gallinas Avenue, 94903 San Rafael, CA,
US**

**Augustus O. Okhamafe, 5310 Crystyl Ranch Drive, 94521 Concord, CA,
US**

(74) Zastupnik:

**Charles A. O'Neill, P.O. Box 218, 95487 Vineburg, CA, US
PRODUCTA d.o.o., Zagreb, HR**

(54) Naziv izuma:

FORMULACIJE TPP1 I POSTUPCI LIJEČENJA BOLESTI CLN2

(57) Sažetak: Otkrivene su formulacije koje sadrže rekombinantnu humanu tripeptidil-1 peptidazu (rhTPP1) za intratekalnu, intracerebroventrikularnu ili intraokularnu primjenu. Također su otkriveni postupci uporabe rhTPP1 u sprječavanju i liječenju simptoma neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) bolesti. Formulacije i postupci su učinkoviti za zaustavljanje napredovanja (CLN2) bolesti i mogu se koristiti za liječenje subjekta koji ima CLN2 ili obiteljsku anamnezu CLN2.

HR P20171905 A2

UPUĆIVANJE NA SRODNE PRIJAVE

5 Ovime se zahtijeva prihvaćanje koristi Privremenoga patentnoga zahtjeva br. 62/300,171 SAD-a podnesena 26. veljače 2016. g. pod 35 U.S.C. § 119(e) te Privremenoga patentnoga zahtjeva br. 62/158,789, podnesena 8. svibnja 2015. g., a ovdje je sadržana u potpunosti i objava svake ove prijave podrazumijeva objavljivanje u potpunosti.

POPIS SEKVENCIJA

10 Ovaj zahtjev kao izdvojeni dio prijave sadržava popis sekvencija u računalno čitljivu obliku (49443_SeqListing.txt; 8137 bajtova; kreiran 11. travnja 2016.) koji je u cijelosti uključen.

PODRUČJE IZUMA

15 Ovo se otkriće odnosi na pripravke koji sadržavaju rekombinantnu humanu tripeptidil-1 peptidazu te na njihovu primjenu u liječenju neuronalne ceroidne lipofuscinoze tipa 2 i fizioloških simptoma povezanih s tom bolešću.

KONTEKST IZUMA

20 Neuronalna ceroidna lipofuscinoza tipa 2 (CLN2) rijetka je genetska bolest koju karakterizira nedostatak lizosomnoga enzima tripeptidil-1 peptidaze (TPP1) uzrokovan mutacijama na TPP1 genu. CLN2 bolest nasljeđuje se kao autosomalni recesivni poremećaj s procijenjenom učestalošću od 0,5 na 100 tisuća živorođene djece. Kod nedostatka TPP1, tvari koje talože lizosomi, a koje inače ovaj enzim metabolizira, nakupljaju se u mnogim organima, a nakupljanje u središnjem živčanom sustavu dovodi do neurodegenerativnih simptoma tipičnih za CLN2. Napredovanje neliječene CLN2 dobro je opisana, a tijek bolesti vrlo je konzistentan i predvidljiv, kao što pokazuju podatci o prirodnu tijeku bolesti u neovisnim bolesničkim populacijama u Sjevernoj Americi i u Europi.

30 CLN2 bolest ima predominantno "klasični" kasnoinfantilni fenotip. Djeca oboljela od CLN2 uobičajeno se normalno razvijaju do dobi od otprilike tri godine. Tada se pojavljuju prvi simptomi. Najčešće će oboljeli od CLN2 dobiti prvi ničim izazvani napadaj te započeti zaostajati u usvajanju ključnih jezičnih etapa normalnih za dob. Do dobi od tri godine svi bolesnici ispoljavaju jedan ili više znakova bolesti, primjerice napadaje, demenciju, pogoršanje motorike, poremećaje kretanja, sljepoću, nespretnost, ataksiju i kognitivno (mentalno) zaostajanje. Po nastupu kliničkih simptoma, tijek bolesti postaje brz i agresivan, a najčešće u 2 do 4 godine završava gubitkom govora, kognitivnih sposobnosti, hoda, fine motorike, funkcija očne jabučice i vida pa bolesnici postaju nepokretni, nijemi i slijepi. Bolesnik u vegetativnom stanju ostaje do smrti, koja najčešće nastupa u dobi između šeste i dvanaeste godine života.

40 Kliničari – stručnjaci razradili su dvije kvantitativne ljestvice za procjenu jakosti (stupnja) CLN2 bolesti koje su primijenjene u ispitivanjima prirodna tijeka bolesti: (1) hamburška skala (Steinfeld i sur., *Am J Med Genet* 2002;112(4):347-54); i (2) ljestvica Weill Cornell Medical College-a (Medicinskoga fakulteta Weill Cornell) (WCMC skala) (Worgall i sur., *Neurology* 2007; 69(6):521-35). Strukture i metodologije mjerenja dviju skala slične su. Obje skale mjere gubitak već postignutih važnih neuroloških ključnih postignuća u oboljelih od CLN2 bolesti, tako da svaki bod izgubljen na skali bolesti predstavlja ključnu prekretnicu u napredovanju pogoršanja bolesti.

45 Analiza tijeka bolesti u djece s neliječenom CLN2 pokazuje kako je predvidljivo da će oni, nakon nastupa bolesti, u tri godine izgubiti svaku sposobnost govora i hoda, s gubitkom od prosječno 2,1 ključnih događaja (tj., 2,1 bodom izgubljenim na ljestvici) godišnje. Pogoršanje govora obično prethodi pogoršanju hoda, tako da prvu godinu karakterizira gubitak razgovjetna govora i progresija ataksična hoda, drugu godinu karakterizira gubitak pokretnosti i razumljiva jezika, a treću gubitak bilo kakva kretanja i komunikacije.

50 Rekombinantna humana tripeptidil-1 peptidaza (rhTPP1) sintetizira se kao moguća terapija CLN2 bolesti. RhTPP1 protein stvara se u staničnoj kulturi kao zimogen (proenzim), koji nema enzimatsku aktivnost. Proenzim se autoaktivira pri kiselom pH (i lizosomnim proteazama) po ulazu u lizosom. Zreli nativni TPP1 protein lizosomna je serinska proteaza i u sisavaca jedini je poznati član sedolizinske (serin-karboksil-peptidaza) porodice kojega karakterizira visoko očuvana Ser-Glu-Asp (SED) katalitička trijada. Katalitičku trijadu na rhTPP1 tvore S456, E253 i D341. Prvotna aktivnost enzima jest tripeptidil egzopeptidaza sa širokom specifičnošću supstrata. Aktivnost enzima na njegov supstrat dovodi do sekvencijalna otpuštanja tripeptida iz N-terminusa proteinskoga supstrata (Oyama i sur., *J Biochem* 2005;138(2):127-34). Izvještava se i o sekundarnoj, znakovito slabijoj endoproteolitičkoj aktivnosti s optimumom pH od 3 (Lin i sur., *J Biol Chem* 2001; 276(3):2249-55).

60 Na tržištu postoji samo asimptomatska i potporna terapija CLN2 bolesti.

Trenutačno nema odobrenih terapijskih mogućnosti da se neumoljivo napredovanje CLN2 uspori ili zaustavi, a još manje da se isprave pogubne posljedice bolesti (Mole SE i Williams RE, 2010. *GeneReviews*; Chang i sur., u *The Neuronal Ceroid Lipofuscinoses (Batten Disease)*; 2011, Oxford Univ Press). Očuvanje motoričkih, jezičnih i /ili vidnih sposobnosti u ove bi djece bila klinički bitna korist, i za njih i za njihove roditelje / skrbnike. Stoga postoji potreba za novim terapijama CLN2 koje bi smanjivale ili sprječavale pogoršanje fizioloških funkcija izazvano bolešću.

SAŽETAK IZUMA

Ovo se otkriće usmjerava na pripravke, pribor (kitove), metode i medicinsku primjenu rekombinantne humane tripeptidil-1 peptidaze (rhTPP1) u liječenju neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) te u liječenju ili prevenciji jednoga ili više fizioloških simptoma koji se pojavljuju povezano s nastupom bolesti. U jednome svojem aspektu ovo otkriće predstavlja pripravak koji sadržava rhTPP1 za intracerebroventrikularnu, intratekalnu ili intraokularnu primjenu. Pripravak rhTPP1 može eventualno sadržavati sekvenciju aminokiselina SEQ ID NO: 1 ili SEQ ID NO:2 ili odsječak te sekvencije, primjerice, u koncentraciji od kojih 30 mg/mL. Pripravak može imati pH od oko 6,5. Nadalje, pripravak može sadržavati bilo koje od: kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do 1 oko mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentracijama od 0,01 mg/mL do 1 oko mg/mL, kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, natrijev fosfat, dibazični heptahidrat koncentracije od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, natrijev fosfat, monobazični monohidrat u koncentracijama od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 1 mg/mL do oko 20 mg/mL; ili kombinaciju bilo kojih od upravo navedenih sastojaka. Postoji opcija i da pripravak bude bez konzervansa i/ili stabilan na otprilike 5 °C, primjerice barem kojih šest mjeseci. U jednoj izvedbi pripravak sadržava rhTPP1 u koncentraciji od oko 30 mg/mL, natrijev fosfat, dibazični heptahidrat u koncentraciji od otprilike 0,11 mg/mL, natrijev fosfat, monobazični monohidrat u koncentraciji od otprilike 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od 0,16 mg/mL te kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL.

U jednom drugome svom dijelu otkriće donosi metodu liječenja CLN2 bolesti ili jednoga više simptoma povezanih s tom bolešću. Opisuje i davanje pripravka, u količini od oko 10 mL smjese koja sadržava dozu od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se ta smjesa bolesniku daje u trajanju od oko 4 sata. Otkriće isto tako obuhvaća smjesu koja sadržava rhTPP1 za primjenu u liječenju CLN2 ili jednoga odnosno više simptoma povezanih s tom bolešću, a koja sadržava oko 10 mL smjese s dozom od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se doza bolesniku daje tijekom otprilike 4 sata. Otkriće donosi i primjenu rhTPP1 u izradi lijeka za liječenje CLN2 ili jednoga odnosno više simptoma povezanih s tom bolesti, pri čemu lijek sadržava otprilike 10 mL smjese s dozom od oko 300 mg rhTPP1 koja se doza bolesniku daje tijekom otprilike 4 sata. U jednome dijelu otkrića smjesa koja sadržava rhTPP1 daje se bolesniku kroz kateter. Eventualno se može smjesu davati kroz kateter koji se potom ispiru tako da se kroz njega pusti otopina za ispiranje u količini do otprilike 5 mL, po mogućnosti u količini od otprilike 3 mL, još bolje u količini od oko 2 mL. Navodi se i metoda sprječavanja ili odgađanja nastupa jednoga ili više simptoma CLN2 bolesti, a podrazumijeva davanje bolesniku otprilike 10 mL smjese u kojoj je doza od otprilike 300 mg rhTPP1. Može se dati eventualno osobi koja ima CNL2 bolest u obiteljskoj anamnezi a pri čemu se smjesa daje u trajanju od 4 sata. U jednome se dijelu otkrića smjesa koja sadržava rhTPP1 daje se bolesniku kroz kateter, nakon čega je moguće, po želji, kateter isprati otopinom za ispiranje u količini do otprilike 5 mL, bolje u količini od 3 mL, a još bolje u količini od otprilike 2 mL. Smjesa se može dati intratekalno, intracerebroventrikularno i/ili intraokularno, i, po želji, svaki drugi tjedan. Moguće je smjesu davati intracerebroventrikularno ili intratekalno a da se neposredno prije davanja smjese koja sadržava TPP1 ne uklanja cerebrospinalna tekućina iz organizma. U drugoj izvedbi smjesu se može dati na izovolumetrijski način, tj. tako da se iz bolesnikova organizma ukloni definirani volumen cerebrospinalne tekućine (CSF), otprilike jednak volumenu smjese koja se nakon toga daje intratekalno.

Otkriće sadržava i metodu liječenja CLN2 bolesti ili jednoga odnosno više simptoma izazvanih njome te davanje rhTPP1 bolesniku kojemu je potrebna u dozi i/ili s učestalošću učinkovitom da održi koju fiziološku funkciju odnosno da uspori ili smanji pogoršanje fiziološke funkcije u bolesnika; pri tomu su te fiziološke funkcije: jezična funkcija, motorna funkcija, vid ili funkcija hranjenja (uzimanja hrane). Opisuje se i smjesa koja sadržava rhTPP1 za primjenu u liječenju CLN2 bolesti odnosno u liječenju jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću u bolesnika, s dozom rhTPP1 djelotvornom da održi fiziološku funkciju ili da uspori odnosno smanji pogoršanje fiziološke funkcije u bolesnika, pri čemu je ta fiziološka funkcija: jezična funkcija, motorna funkcija, vid ili funkcija hranjenja. Prijavljuje se i primjena rhTPP1 u izradi lijeka za liječenje CLN2 odnosno u liječenju jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću, pri čemu lijek sadržava dozu rhTPP1 koja je djelotvorna za održavanje fiziološke funkcije odnosno za usporavanje ili redukciju pogoršanja te fiziološke funkcije u bolesnika, pri čemu je ta fiziološka funkcija: jezična funkcija, motorna funkcija, vid ili funkcija uzimanja hrane.

U jednom se dijelu opisuje metoda liječenja CLN2 u bolesnika odnosno u liječenju jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću. Metoda obuhvaća davanje rhTPP1 bolesniku kojemu je potrebna u dozi i/ili s učestalošću davanja koje će biti učinkovite u poboljšanju fiziološke funkcije, a te su fiziološke funkcije: jezična (govorna) funkcija, motorična funkcija, vid ili funkcija hranjenja (uzimanja hrane).

Navodi se i smjesa koja sadržava rhTPP1 za liječenje CLN2 odnosno za liječenje jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću, u dozi rhTPP1 učinkovitoj da poboljša fiziološku funkciju, pri čemu je ta fiziološka funkcija jezik (govor), motorika, vid ili hranjenje. Opisuje se i primjena rhTPP1 u izradi lijeka za CLN2 odnosno jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću, pri čemu lijek sadržava dozu rhTPP1 djelotvornu da u bolesnika poboljša fiziološku funkciju, pri čemu je ta fiziološka funkcija jezik (govor), motorika, vid ili jedenje. Jedan se dio otkrića odnosi na metodu liječenja CLN2, odnosno jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću, te sadržava davanje rhTPP1 bolesniku kojemu je potrebna u dozi i/ili s učestalošću davanja koje će biti učinkovite u sprječavanju odnosno liječenju kojega neurološkog simptoma bolesti, pri čemu je neurološki simptom: smanjenje moždanoga volumena, redukcija sive tvari u mozgu, napadaj, ili povećanje (količine) kranijalne cerebrospinalne tekućine. Donosi se i sastav smjese koja sadržava rhTPP1 za primjenu u liječenju CLN2 odnosno jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću uključujući dozu rhTPP1 djelotvornu da spriječi ili liječi koji neurološki simptom bolesti, pri čemu su ti neurološki simptomi: smanjenje moždanoga volumena, redukcija sive tvari u mozgu, napadaj, ili povećanje (količine) kranijalne cerebrospinalne tekućine. Opisuje se primjena rhTPP1 u izradi lijeka za liječenje CLN2 odnosno jednoga ili više simptoma povezanih s tom bolešću, pri čemu lijek sadržava dozu rhTPP1 djelotvornu da spriječi ili liječi koji neurološki simptom bolesti, pri čemu su ti neurološki simptomi: smanjenje moždanoga volumena, redukcija sive tvari u mozgu, napadaj, ili povećanje (količine) kranijalne cerebrospinalne tekućine. Postoji mogućnost da osoba ima CLN2 bolest u obiteljskoj anamnezi.

U jednome dijelu opisuje se metoda sprječavanja ili smanjivanja pogoršanja motorike / hoda povezanih s CLN2. Ta metoda podrazumijeva davanje terapijski djelotvorne doze rhTPP1. Opisuje se i smjesa koja sadržava terapijski djelotvornu dozu rhTPP1 za primjenu u sprječavanju ili pogoršavanju motorike / hoda u bolesnika. Opisuje se i primjena terapijski djelotvorne doze rhTPP1 za izradu lijeka za sprječavanje ili reduciranje pogoršanja motorike / hoda izazvana CLN2 bolešću. U jednome svojem dijelu metoda sadržava davanje doze rhTPP1 djelotvorne da spriječi ili reducira pad ocjene bolesnikove kliničke bolesti u usporedbi s prijašnjom ocjenom utvrđenom prije ili za vrijeme liječenja, mjerene, primjerice, ljestvicom WCMC za procjenu bolesti u ocjeni hoda ili hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti u ocjeni motorike.

Opisuje se metoda sprječavanja ili reduciranja pogoršanja jezika (govora) izazvana CLN2 uz davanje terapijski učinkovite doze rhTPP1. Navodi se i smjesa koja sadržava i terapijski djelotvornu dozu rhTPP1 za sprječavanje ili reduciranje pogoršanja jezika izazvana CLN2 bolešću. Opisuje se i primjena terapijski djelotvorne doze rhTPP1 za izradu lijeka za sprječavanje ili reduciranje pogoršanja jezika (govora) izazvana CLN2. Metoda u svojem jednom dijelu sadržava davanje doze rhTPP1 djelotvorne da spriječi ili smanji pad ocjene bolesnikove kliničke bolesti u usporedbi s ranijom ocjenom utvrđenom prije ili tijekom liječenja, primjerice procjenjivane WCMC ili hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti za jezik.

Jedan je aspekt i opis metode sprječavanja ili smanjivanja pogoršanja vida uzrokovana CLN2 bolešću koja uključuje i davanje terapijski djelotvorne doze rhTPP1. Navodi se i sastav smjese koja sadržava terapijski djelotvornu dozu rhTPP1 za sprječavanje ili reduciranje pogoršanja vida povezana s CLN2 bolesti. Navodi se i terapijski djelotvorna doza za izradu lijeka za sprječavanje ili smanjenje pogoršanja vida koje je prouzročila CLN2. U jednome dijelu metoda sadržava davanje doze rhTPP1 djelotvorne da spriječi ili reducira pogoršanje ocjene bolesnikove kliničke bolesti u usporedbi s ranijom ocjenom dobivenom prije ili tijekom liječenja, primjerice, izmjerene hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti za vidnu funkciju.

Opisuje se i metoda sprječavanja ili reduciranja smanjenja volumena mozga izazvana CLN2 bolešću te prikazuje metoda davanja terapijski djelotvorne doze rhTPP1. Opisuje se i smjesa koja sadržava terapijski djelotvornu dozu rhTPP1 za sprječavanja ili reduciranja smanjenja volumena mozga izazvana CLN2. Navodi se i primjena terapijski učinkovite doze rhTPP1 za pripravu lijeka za sprječavanje ili reduciranje smanjenja volumena mozga izazvana CLN2 bolešću. U jednom dijelu metoda sadržava davanje doze rhTPP1 djelotvorne da spriječi ili reducira smanjenje volumena mozga i/ili smanjenje volumena sive tvari u usporedbi s ranijim volumenom izmjenjenim prije ili tijekom liječenja.

U jednome se dijelu prikazuje pribor (kit) s ovdje opisivanim pripravkom koji sadržava rhTPP1 te otopinom za ispiranje. Otopina za ispiranje može sadržavati bilo koji od već navedenih pripravaka, osim rhTPP1. Primjerice, može sadržavati natrijev fosfat, dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11mg/mL, natrijev fosfat, monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL i kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL. Nadalje, pribor može eventualno sadržavati rezervoar za implantiranje i kateter. Može sadržavati jedan ili više elemenata iz skupine koja se sastoji od produžne linije, "in-line" (rednoga) filtra, portne igle, barem jedne (eventualno dvije) šprice, barem jedne (eventualno dvije) igle za špricu te kombinacije ovih elemenata.

Gornji sažetak nema namjeru definirati svaki aspekt izuma. Druga će svojstva i prednosti ove objave postati očite iz sljedećega detaljnog opisa i crteža.

Objavu ovoga otkrića valja smatrati unificiranim dokumentom i shvatiti kako su sve kombinacije obilježja koje su u njoj opisane promišljene, čak i ako se te kombinacije obilježja ne nalaze zajedno, u istoj rečenici, odjeljku ili odlomku ove prijave. Uz to, objava otkrića kao dodatni aspekt obuhvaća sve izvedbe izuma užega područja djelovanja na bilo koji način od gore izričito spomenutih varijacija. Što se tiče aspekata objave koji se opisuju ili se za njih nešto tvrdi a u engleskom im jeziku prethodi neodređeni član (*a* ili *an*), valja shvatiti kao ovi termini znače “jedan ili više” osim ako kontekst nedvosmisleno ne zahtijeva ograničenije značenje. Što se tiče elemenata koji se opisuju kao jedan ili više unutar seta, valja razumjeti da su se razmatrale sve kombinacije unutar seta. Ako se tvrdi kako aspekti otkrića “sadržavaju” neko svojstvo, i za varijacije se razmišlja da “se sastoje od” ili “se u biti sastoje od” toga svojstva. Dodatna svojstva i varijacije otkrića bit će očita stručnjacima na ovom području iz ukupnosti otkrića te se sva svojstva smatraju aspektima ovoga otkrića.

KRATAK OPIS CRTEŽA

Slika 1 opisuje sekvenciju aminokiselina rhTPP1 zimogena, kojemu nedostaje pridruženi signalni peptid. Prosegment enzima jest prvih 176 ostataka (rezidua) aminokiselina, a zreli enzim predstavlja 368 aminokiselina u nizu s početkom na položaju 177.

Slika 2 opisuje kliničko napredovanje CLN2 bolesti u neliječenih bolesnika u ispitivanju prirodna tijeka bolesti i pokazuje složeni rezultat za motoriku i govor od 0 - 6 na hamburškoj ljestvici kao funkciju bolesnikove dobi. Prikazani su medijan, kvartil i 10%90% distribucije; uz srednju vrijednost i 95 % interval pouzdanosti.

Slike 3A do 3F opisuju kliničke ocjene 24 bolesnika prikupljene tijekom trajanja liječenja; one pokazuju složeni rezultat 0 – 6 za motoriku i hod na hamburškoj skali. Otvoreni krugovi predstavljaju rezultate za CLN2 bolest dobivene tijekom ili prije prvih 300 mg infuzije rhTPP1, a zatvoreni krugovi predstavljaju rezultate za CLN2 bolest dobivene nakon prvih 300 mg infuzije rhTPP1. Prikazani su i složeni rezultat (kružići) i doprinos motorike / hoda (kvadratići) i jezika (trokutići) složenom rezultatu. Dan 1 analize datum je prve infuzije.

Slike 4A do 4I uspoređuju promjenu u rezultatu (broju bodova) za CLN2 u 9 bolesnika liječenih rhTPP1 s onima u kojih bolest nije liječena u svom prirodnom tijeku. Ovi su s liječenim bolesnicima uspoređivani po broju bodova za procjenu bolesti (označeno prefiksom “HAM”) na 0 – 6 hamburškoj složenoj ljestvici za hod i motoriku. Rezultati za liječene bolesnike prikazani su punom crtom na svakom dijagramu, a za pridružene neliječene bolesnike isprekidanom crtom.

Slika 5 opisuje distribuciju kliničke promjene tijekom trajanja terapije od početnih rezultata u bolesnika s neliječenom bolesti prirodna tijeka (kružići) u usporedbi s ispitanicima (kvadratići).

Slike 6A do 6I prikazuju promjenu u rezultatu za CLN2 bolest u 9 bolesnika liječenih rhTPP1 u usporedbi s onima koji bolest nisu liječili pridruženima po broju bodova 0 – 9 na hamburškoj složenoj ljestvici za procjenu bolesti za motoriku / jezik / vid. Rezultati (broj bodova) u liječenih bolesnika prikazani su punom crtom na svakom dijagramu, u usporedbi s rezultatima neliječenih bolesnika koji su prikazani isprekidanom crtom.

Slika 7 prikazuje volumen (gornji dio) i omjer (donji dio) cerebrospinalne tekućine za svih 24 bolesnika izmjerene tijekom trajanja liječenja. Svaka crta predstavlja jednoga bolesnika.

Slike 8A do 8L prikazuju volumen mozga u 24 liječena bolesnika. Volumeni (gornji dijagram) i omjeri (donji dijagram) bijele tvari prikazuju se kao razlika između ukupna volumena mozga (‘crtica-točka’ crta) i cerebrospinalne tekućine i sive tvari (isprekidana crta), a sive tvari kao razlika između cerebrospinalne tekućine i sive tvari (isprekidana crta) i cerebrospinalne tekućine (puna crta).

Slike 9A i 9B prikazuju prosječnu promjenu u rezultatu (broju bodova) za CLN2 u bolesnika liječenih rhTPP1 i neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti. **Slika 9A** prikazuje rezultat za CLN2 u 23 bolesnika liječenih s 300 mg rhTPP1 48 tjedana (isprekidana crta) i kohortu od 41 neliječenog bolesnika s prirodnim tijekom bolesti. **Slika 9B** opisuje promjenu u rezultatu za CLN2 bolest od početne, osnovne vrijednosti u 23 bolesnika liječenih s 300 mg rhTPP1 48 tjedana.

Slike 10A do 10L prikazuju kliničke ocjene 24 bolesnika dobivene tijekom trajanja terapije i pokazuju skupne rezultate 0 – 12 hamburške ljestvice (lijevi dijagram) za motoriku (kvadratići), jezik (trokutići), napadaje (kružići), i vid (rombići) te skupne rezultate WCMC ljestvice (desni dijagram) za hod (kvadratići), jezik (trokutići), mioklonus (kružići) i jedenje (uzimanje hrane) (rombići). Otvoreni krugovi predstavljaju skupne rezultate za CLN2 dobivene tijekom ili prije prvih 300 mg infuzije rhTPP1, a zatvoreni krugovi predstavljaju skupne rezultate za CLN2 bolest nakon prvih 300 mg infuzije rhTPP1.

DETALJAN OPIS IZUMA

/0030/ Sljedeće definicije mogle bi biti korisne kao pomoć vještom liječniku da razumije otkriće. Osim ako je ovdje drugačije definirano, znanstveni i tehnički termini koji se rabe u ovoj objavi imaju značenja koja svaki stručnjak u ovom području uobičajeno razumije. Gdje se daje raspon vrijednosti, podrazumijeva se da je svaka međuvrijednost, do desetine jedinice donje granice, osim ako kontekst jasno ne zahtijeva drugačije, između gornje i donje granice toga raspona i svaka je druga iskazana vrijednost ili međuvrijednost u tom rečenom rasponu obuhvaćena u izumu. Gornje i donje granice tih manjih raspona mogu se neovisno uključiti u manje raspone podložno bilo kojoj izričito isključenoj granici u rečenom rasponu.

Termin “obiteljska anamneza” odnosi se na osobu koja ima krvnoga srodnika kojemu je dijagnosticirana CLN2, primjerice, brata ili sestru, roditelja, djeda ili baku, pradjeda ili prabaku, itd.

Termin “fragment” odnosi se u jednom aspektu na rekombinantni protein koji sadržava dio (odsječak) sekvencije aminokiselina rhTPP1 proenzima naveden u SEQ ID NO: 1 i na slici 1. Primjerice, fragment može sadržavati barem oko 60 %, barem oko 70 %, barem oko 80 %, barem oko 90 % ili barem oko 95 % sekvencija aminokiselina navedenih u SEQ ID NO: 1. Drugdje fragment može sadržavati sekvenciju aminokiselina zreloga TPP1 enzima potpune duljine (368 aminokiselina dugu; aminokiseline 177 – 544 SEQ ID NO:1) kako je navedeno u SEQ ID NO:2, njezin dio, i / ili barem katalitičku trijadu koju tvore ostaci (rezidue) aminokiselina S456, E253 i D341. Fragment zadržava katalitičku aktivnost. Primjerice, fragment ispoljava aktivnost tripeptidil egzopeptidaze i / ili ispoljava katalitičku aktivnost koja ima za posljedicu sekvencijalno otpuštanje tripeptida iz N-terminusa proteinskoga supstrata. U određenim aspektima, “fragment” rhTPP1 proenzima obuhvaća barem 500 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:1, barem 450 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:1, barem 400 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:1, barem 368 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:1, barem 350 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:1, ili barem 300 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:1. U drugim aspektima “fragment” rhTPP1 proenzima sadržava barem 350 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:2, barem 325 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:2, barem 300 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:2, barem 275 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:2, barem 250 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:2, ili barem 200 konsekutivnih aminokiselina SEQ ID NO:2.

Termin “intracerebroventrikularno” odnosi se na davanje smjese u ventrikularni sustav mozga, primjerice injekcijom, infuzijom ili implantacijom (primjerice, u moždani ventrikul).

Termin “intraokularno” odnosi se na davanje smjese u područje oka, npr. injekcijom, infuzijom ili implantacijom (primjerice, u očnu jabučicu) ili lokalnu / oftalmičnu primjenu (primjerice, krema, mast, gel ili tekućina – kapi).

Termin “intratekalno” odnosi se na davanje smjese u lumbalno područje, primjerice injekcijom, infuzijom ili implantacijom (primjerice, u subarahnoidni prostor leđne moždine).

Termin “terapijski djelotvorno (učinkovito)” odnosi se na bilo kakvu terapijsku korist koja se pojavljuje kao rezultat metoda liječenja ovim izumom. Primjerice, takvo djelovanje mogu biti blagotvorni učinci koji se ispoljavaju na odgovarajućem ciljnom tkivu ili organu, gdje se takvo blagotvorno fiziološko djelovanje uspoređuje s fiziološkim parametrima mjerjenima u odsutnosti nadomjesne enzimske terapije. Takvo terapijsko djelovanje može biti bilo kakvo smanjenje ili nestanak jedne ili više kliničkih ili supkliničkih manifestacija CLN2 bolesti. Primjerice, terapijski djelotvorno liječenje poboljšava, preokreće, odgađa, sprječava ili reducira pogoršanje jedne ili više fizioloških funkcija i / ili neuroloških simptoma CLN2 bolesti kao što se tu opisuje.

Termin “stabilno” ili “stabilizirano” odnosi se na pripravak koji sadržava protein u kojemu proteinska komponenta u biti zadržava svoja fizičku, funkcionalnu i / ili kemijsku stabilnost nakon skladištenja neko vrijeme. Stabilnost se može mjeriti pri odabranoj temperaturi tijekom odabrana razdoblja. Bolje je ako je pripravak stabilan na sobnoj temperaturi (oko 30 °C) ili na oko 40 °C barem mjesec dana i/ili na oko 2 °C do oko 8 °C barem godinu dana, po mogućnosti barem 2 godine. Primjerice, kao indikator proteinske stabilnosti može se primijeniti stupanj razgradnje proteina ili agregacije tijekom skladištenja. Tako stabilan pripravak može biti onaj u kojemu je nakon skladištenja manje od 20 %, po mogućnosti manje od 10 %, a najbolje manje od 5 % proteinske komponente u degradiranu ili agregiranu obliku. “Stabilni” pripravci zadržavaju u osnovi ista funkcionalna ili terapijska svojstva kakvo ima novopripravljene pripravak. U struci postoje razne analitičke tehnike za mjerenje stabilnosti proteina, a njihov se pregled može naći u, primjerice: *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs (1991) te u: Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993).

Termini “prevenira” ili “reducira” ili njihovi jezični ekvivalenti, kada se rabe u odnosu na prevenciju (sprječavanje) ili reduciranje jednoga ili više simptoma ili fizioloških posljedica CLN2 bolesti znače da je brzina pogoršanja toga / tih simptoma u liječena ispitanika manja (sporija) nego što se opazilo u ispitanika koji nije liječen.

U tom pogledu neliječena CLN2 može se odnositi na istoga ispitanika koji se potom liječi smjesom s prikazanim izumom ili se može odnositi na prosječnu stopu pogoršanja tražena(ih) simptoma zabilježenu u priloženim rezultatima studije prirodna tijeka bolesti.

5 U pravosuđima koja zabranjuju patentiranje metoda što se prakticiraju na ljudskom tijelu značenje "davanja" rhTPP1 ili njezina pripravka ljudima odnosi se na medicinske primjene rhTPP1 ili njezina pripravka, primjerice, rhTPP1 ili njezin pripravak za liječenje CLN2 kao što je ovdje opisano ili primjena rhTPP1 za izradu lijeka za liječenje CLN2 bolesti kao što je ovdje objašnjeno. Određuje se najšira razumna interpretacija konzistentna sa zakonima i propisima što definiraju predmet patentiranja. U pravosuđima koja ne zabranjuju patentiranje metoda koje se provode na ljudskom tijelu, "davanje" rhTPP1 ili njezina pripravka podrazumijeva i metode koje se provode na ljudskom tijelu i gore navedene postupke.

15 Ovaj dokument navodi pripravke i pribor koji sadržavaju rhTPP1 i metode njezine primjene u liječenju CLN2. Davanje rhTPP1 omogućava da receptor kationski neovisnoga manoza-6 fosfata (CI-MPR) unese protein u stanicu i smjesti ga u lizosome u stanicama čitava središnjeg živčanog sustava. Unos enzima u lizosome i potom njihova aktivacija promiče povećani katabolizam nataloženih tvari u zahvaćenim tkivima, smanjuje progresivno nakupljanje lizosomnih nataloženih tvari te zaustavlja pogoršanje bolesti. Pripravci i metode ovdje navedeni pružaju terapijsku korist koja nadilazi koristi trenutačno odobrenih terapija.

20 **Pripravci**

Navode se i pripravci koji sadržavaju rhTPP1 za intracerebroventrikularno, intratekalno i / ili intraokularno davanje. U jednom aspektu rhTPP1 sadržava SEQ ID NO:1 ili njezin fragment. RhTPP1 proteini prikladni za primjenu u pripravcima i metodama ovdje opisanima i metode dobivanja rhTPP1 proteina opisani su u *U.S. Patent*-u br. 6.302.685 i 25 8.2.277.800 i priloženi isto tako u cijelosti.

U jednom slučaju rhTPP1 sadržava sekvenciju aminokiselina SEQ ID NO:1 (aminokiseline 1-544 sekvencije aminokiselina prikazane na slici 1) ili njezin odsječka koji ima katalitičku aktivnost. U drugome slučaju rhTPP1 sadržava sekvenciju SEQ ID NO:2 (aminokiseline 177-544 sekvencije aminokiseline prikazane na slici 1) ili njezin fragment koji posjeduje katalitičku aktivnost. U još jednom aspektu rhTPP1 ima vidljivu aktivnost enzima ili se *in vivo* procesuiru i stvara enzim koji ima vidljivu enzimsku aktivnost (tj., "funkcionalna je") i ima barem oko 70 % sekvencijske identičnosti s SEQ ID NO:1 ili SEQ ID NO:2. Primjerice, funkcionalna rhTPP1 barem je oko 70 % identična, barem oko 75 % identična, barem oko 80 % identična, barem oko 85 % identična, barem oko 90 % identična, barem oko 95 % identična ili barem oko 97 % identična nizovima SEQ ID NO: 1 ili SEQ ID NO: 2. U jednom aspektu pripravak je tekući pripravak koji sadržava rhTPP1 u koncentraciji od oko 1 mg/mL do oko 100 mg/mL, primjerice oko 10 mg/mL do oko 50 mg/mL, oko 25 mg/mL do oko 40 mg/mL ili oko 30 mg/mL do oko 60 mg/mL. U raznim aspektima pripravak sadržava rhTPP1 u koncentraciji od oko 1 mg/mL do oko 100 mg/mL, od oko 5 mg/mL do oko 80 mg/mL, od oko 10 mg/mL do oko 50 mg/mL, od oko 20 mg/mL do oko 40 mg/mL, od oko 25 mg/mL do oko 35 mg/mL, konkretnije oko 1 mg/mL, oko 10 mg/mL, oko 20 mg/mL, oko 30 mg/mL, oko 40 mg/mL, oko 50 mg/mL, oko 60 mg/mL, oko 70 mg/mL, oko 80 mg/mL, oko 90 mg/mL ili oko 100 mg/mL. U jednom primjeru pripravak ima pH od oko 5,5 do oko 7,5 ili oko 6,0 do oko 7,0 ili oko 7,5.

U jednome dijelu prijavljeni pripravak koji sadržava rhTPP1 sadržava i jedan ili više ekscipijensa (pomoćne tvari) koji održavaju razinu ključnoga elektrolita u cerebrospinalnoj tekućini ili u očnoj vodi. Primjerice, u jednome slučaju, uz rhTPP1 ili njezin fragment, pripravak sadržava i kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, primjerice, oko 0,1 mg/mL do oko 0,5 mg/mL, oko 0,2 mg/mL do oko 0,8 mg/mL, oko 0,2 mg/mL do oko 0,4 mg/mL, oko 0,15 mg/mL do oko 0,25 mg/mL, ili oko 0,05 mg/mL do oko 0,3 mg/mL. U drugome slučaju pripravak nadalje sadržava magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, primjerice, oko 0,1 do oko 0,5 mg/mL, oko 0,1 mg/mL do oko 0,8 mg/mL, oko 0,1 mg/mL do oko 0,3 mg/mL, oko 0,15 mg/mL do oko 0,25 mg/mL, ili oko 0,05 mg/mL do oko 0,3 mg/mL. U drugom aspektu pripravak sadržava nadalje kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, primjerice, oko 0,1 mg/mL do oko 0,5 mg/mL, oko 0,2 mg/mL do oko 0,8 mg/mL, oko 0,15 mg/mL do oko 0,25 mg/mL, oko 0,1 mg/mL do oko 0,3 mg/mL ili oko 0,05 mg/mL do oko 0,3 mg/mL. U još jednom aspektu pripravak sadržava kombinaciju svega ili nečega od navedenoga.

55 U drugome svojem aspektu pripravak koji sadržava rhTPP1 sadržava, nadalje, jedan ili više pufera. Primjerice, u raznim slučajevima nadalje sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, primjerice, oko 0,1 mg/mL do oko 0,5 mg/mL, oko 0,05 mg/mL do oko 0,4 mg/mL, ili oko 0,1 mg/mL do oko 0,3 mg/mL; i / ili natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, primjerice, oko 0,01 mg/mL do oko 0,2 mg/mL, oko 0,05 mg/mL do oko 0,3 mg/mL, ili oko 0,08 mg/mL do oko 0,4 mg/mL.

60 U jednome dijelu pripravak nadalje sadržava izotonični agens, primjerice natrijev klorid u koncentraciji od oko 1 mg/mL do oko 20 mg/mL, primjerice oko 1 mg/mL do oko 10 mg/mL, oko 5 mg/mL do oko 15 mg/mL, ili oko 8

mg/mL do oko 20 mg/mL. Prikladni su i drugi puferi i izotonični agensi poznati u struci te se mogu rutinski rabiti za primjenu u pripravcima iz ove prijave.

U jednome aspektu pripravak koji sadržava oko 30 mg/mL rh TPP1 sadržava i natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL, kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL, i razrjeđivač, primjerice vodu za injekcije.

Ovdje opisani pripravci rhTPP1 stabilni su i mogu se skladištiti dulje vrijeme bez neprihvatljivih promjena u kvaliteti, potentnosti ili čistoći. U jednom aspektu pripravak je stabilan pri temperaturi od oko 5 °C (npr. 2 °C do 8 °C) barem mjesec dana, primjerice, barem mjesec dana, barem 3 mjeseca, barem 6 mjeseci, barem 12 mjeseci, barem 18 mjeseci, barem 24 mjeseca, ili dulje. U drugom aspektu pripravak je stabilan na temperaturi nižoj od ili jednakoj temperaturi od oko -20 °C barem 6 mjeseci, primjerice, barem 6 mjeseci, barem 13 mjeseci, barem 18 mjeseci, barem 24 mjeseca, barem 36 mjeseci ili dulje. U drugom slučaju pripravak je stabilan na temperaturi nižoj od ili jednakoj temperaturi od oko -40 °C barem 6 mjeseci, primjerice, barem 6 mjeseci, barem 13 mjeseci, barem 18 mjeseci, barem 24 mjeseca, barem 36 mjeseci, ili dulje. U drugom aspektu pripravak je stabilan na temperaturi nižoj od ili jednakoj onoj od oko -60 °C barem 6 mjeseci, primjerice, barem 6 mjeseci, barem 12 mjeseci, barem 18 mjeseci, barem 24 mjeseca, barem 35 mjeseci ili dulje.

U jednom slučaju pripravak ne sadržava konzervanse i / ili stabilizatore pa ne sadržava ni timerosal, soli fenil žive, klorheksidin, fenol, benzojevu kiselinu, sorbnu kiselinu, parabene, alkohole niti druge konzervanse koji se uobičajeno nalaze u parenteralnim i oftalmološkim pripravcima.

U drugom slučaju pripravak ovoga izuma može sadržavati jedan ili više konzervansa, stabilizatora ili ekscipijensa. U tom pogledu, u struci su poznati brojni dobro poznati i rutinski primjenjivani konzervansi, stabilizatori i ekscipijensi, korisni u proteinskim pripravcima za intratekualno ili intracerebroventrikularno davanje. Primjeri takvih aditiva u pripravcima što sadržavaju enzime namijenjeni intratekualnom ili intracerebroventrikularnom davanju konkretnije se opisuju u dokumentu WO2013/096899 na koji se ovdje upućuje.

Metode

Prikazuju se metode liječenja bolesti CLN2 te davanje terapijski djelotvorne količine ovdje opisana pripravka koji sadržava rhTPP1 bolesniku kojemu je potreban. Opisuje se i smjesa ovdje opisana što sadržava rhTPP1 za liječenje CLN2 te ovdje opisana primjenu rhTPP1 u izradi lijeka za liječenje CLN2. U jednom se aspektu jakost (stupanj) i napredovanje CLN2 te terapijska korist davanja rhTPP1 u bolesnika može mjeriti hamburškom ili WCMC kliničkom ljestvicom za procjenu bolesti. I hamburška i WCMC ljestvica sastoje se od četiriju domena bolesti, koje se boduju na podljestvicama s 0 do 3 boda, s time da je 3 boda – normalno, 2 boda – abnormalno ali funkcionalno, 1 bod – abnormalno i znatno afunkcionalno, a 0 bodova – nema preostale funkcije. Dvije od četiriju domena, hod / motorika i jezik jednake su u objema ljestvicama i imaju visoku valjanost intrinzična sadržaja. Svaka ljestvica bilježi sve promjene koje se pojavljuju kao funkcija i progresije i liječenja bolesti. Ljestvice za procjenu hoda, jezika i vida bilježe progresiju bolesti. Učestalost napadaja, poremećaji pokreta i hranjenja ovise o izboru načina skrbi, osobito o antikonvulzivima te o postupcima sa sondom za hranjenje. Kliničko napredovanje često se procjenjuje zajedničkim podskalama za ocjenu jezika i hoda, tako da 6 bodova predstavlja normalno za dob, a 0 bodova potpuni gubitak funkcije. Tablica 1 prikazuje WCMC i hamburšku ljestvicu za procjenu CLN2.

TABLICA 1

Weill Cornell ljestvica (WCMC)		
Hod	3	Normalan
	2	Otežan ali neovisan
	1	Otežan i zahtijeva pomoć
	0	Nepokretan
Jezik	3	Normalan
	2	Otežan
	1	Jedva razumljiv
	0	Nerazumljiv ili nema govora

Mioklonus	3	Nema mioklonusa, koreje/tremora, atetoze niti su nožni prsti okrenuti prema gore
	2	Jedno od: mioklonus, koreja/tremor/atetoza ili nožni prsti okrenuti prema gore
	1	Dvoje od: mioklonus, koreja/tremor/atetoza ili nožni prsti okrenuti prema gore
	0	Mioklonus i koreja/tremor/atetoza i nožni prsti okrenuti prema gore
Hranjenje	3	Nema disfunkcije gutanja
	2	Blaga disfunkcija gutanja
	1	Umjerena disfunkcija gutanja
	0	Gastrostoma, ovisan o sondi

Hamburška ljestvica		
Motorika	3	Hoda normalno
	2	Česti padovi, očita nespretnost
	1	Ne može hodati bez tuđe pomoći ili samo puže
	0	Nepokretan, većinom vezan za krevet
Jezik	3	Normalan
	2	Prepoznatljiv, otežan
	1	Jedva razumljiv
	0	Nerazumljiv ili ga nema
Vid	3	Prepoznaje željeni predmet, poseže za njim
	2	Posezanje za predmetima nekoordinirano
	1	Reagira na svjetlo
	0	Nema reakcije na vizualne stimule
Napadaji	3	Nema napadaja posljednjih 3 mjeseca
	2	1-2 napadaja u 3 mjeseca
	1	1 napadaj mjesečno
	0	> 1 napadaj mjesečno

5 U raznim dijelovima donosi se metoda liječenja CLN2 ili jednoga i više kliničkih simptoma CLN2, što uključuje davanje smjese koja sadržava terapijski djelotvornu količinu rhTPP1, uporabu rhTPP1 u izradi lijeka za liječenje CLN2 u bolesnika ili primjena rhTPP1 za liječenje CLN2.

10 Pružaju se i metode prevencije jednoga ili više kliničkih simptoma CLN2. Te metode obuhvaćaju davanje ovdje opisana pripravka koji sadržava rhTPP1 oboljelome, eventualno i osobi koja ima CLN2 u obiteljskoj anamnezi. U raznim aspektima donosi se metoda prevencije jednoga ili više kliničkih simptoma CLN2, a koja metoda podrazumijeva davanje smjese koja sadržava terapijski djelotvornu količinu rhTPP1, primjenu rhTPP1 u izradi lijeka za prevenciju jednoga ili više kliničkih simptoma CLN2 u bolesnika ili rhTPP1 za prevenciju jednoga ili više kliničkih simptoma CLN2 u bolesnika, eventualno kada bolesnik ima CLN2 u obiteljskoj anamnezi.

15 Nadalje iznose se metode liječenja CLN2 davanjem rhTPP1 oboljelomu u dozi učinkovitoj da održi fiziološku funkciju ili da uspori ili reducira pogoršanje fiziološke funkcije, pri čemu je fiziološka funkcija: jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja. Opisuje se i primjena rhTPP1 u izradi lijeka za održavanje neke fiziološke funkcije ili za usporavanje ili reduciranje pogoršanja fiziološke funkcije u oboljeloga od CLN2 te rhTPP1 za održavanje fiziološke funkcije ili za usporavanje ili redukciju pogoršanja fiziološke funkcije u oboljeloga od CLN2, pri čemu je
20 fiziološka funkcija: jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja.

25 U jednom dijelu metoda liječenja osobe s CLN2 ili s CLN2 u obiteljskoj anamnezi obuhvaća davanje doze rhTPP1 koja će djelotvorno održavati jezičnu funkciju ili usporiti odnosno smanjiti pogoršanje jezične funkcije. U jednom aspektu pogoršanje jezične funkcije znači pogoršanje za barem jedan bod u usporedbi s ranijim mjerenjem prije ili za vrijeme liječenja mjereno WCMC ili hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti. I na WCMC i na hamburškoj ljestvici 3 boda znači normalan jezik; 2 boda znači razumljiv, ali otežan govor; 1 bod znači jedva razumljiv jezik, a 0 bodova znači nerazumljiv jezik ili govora uopće nema. U jednom aspektu otkrića doza rhTPP1 djelotvorna je da održava ocjenu bolesnikova jezika na istoj razini kao u prošlom mjerenju prije ili za vrijeme liječenja, tj., 3 boda, 2 boda ili 1 bod.

U drugom slučaju, doza rhTPP1 djelotvorna je da uspori ili smanji pogoršanje bolesnikove jezične funkcije izazvano CLN2, što se može dokazati održanom ocjenom jezika na istoj razini tijekom duljega razdoblja, ili manjom redukcijom jezične funkcije u usporedbi s očekivanim s obzirom na prirodno napredovanje bolesti.

5 U drugom dijelu metoda liječenja osoba s CLN2 ili onih s CLN2 u obiteljskoj anamnezi obuhvaća davanje doze rhTPP1 učinkovite da održava motoričku funkciju ili da uspori ili reducira pogoršanje motoričke funkcije. U jednom dijelu pogoršanje motoričke funkcije jest pad barem za jedan bod u usporedbi s ranijim mjerenjem obavljenim prije ili za vrijeme terapije rabeći WCMC ili hamburšku ljestvicu za procjenu bolesti. Za procjenu motoričke funkcije može se primjenjivati ili skala za kliničku procjenu hoda u WCMC ljestvici ili za motoriku u hamburškoj ljestvici. I na WCMC i na hamburškoj ljestvici 3 boda označava normalan hod; 2 boda označava otežan ali samostalan hod, primjerice, s čestim padovima ili uz očitu nespretnost; 1 bod označava otežan hod koji zahtijeva tuđu pomoć, primjerice, nemogućnost samostanoga hoda ili samo puzanje; a 0 bodova označava da je bolesnik nepokretan, npr. uglavnom vezan za krevet. U jednome aspektu doza rhTPP1 učinkovita je da održava bolesnikov broj bodova za motoričku funkciju na istoj razini kao kod prethodnoga mjerenja prije ili tijekom liječenja, npr. 3 boda, 2 boda ili 1 bod. U drugom aspektu, doza rhTPP1 djelotvorna je da uspori ili reducira pogoršanje motoričke funkcije izazvano CLN2 u bolesnika, što se može dokazati održavanjem ocjene motorike na istoj razini dulje vrijeme ili manjim padom ocjene motoričke funkcije u usporedbi s očekivanim s obzirom na prirodno napredovanje bolesti.

20 U drugom aspektu metoda ocjene osoba s CLN2 ili onih s CLN2 u obiteljskoj anamnezi obuhvaća i davanje doze rhTPP1 djelotvorne da održi vid ili da uspori ili reducira pogoršanje vida. U jednom aspektu pogoršanje vida jest pad za barem jedan bod u usporedbi s ranijim mjerenjem obavljenim hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti prije ili za vrijeme liječenja. Prema hamburškoj ljestvici, ocjena od 3 boda znači da osoba prepoznaje željeni predmet i da poseže za njim; 2 boda znači da je posezanje za predmetom nekoordinirano; 1 bod znači da bolesnik reagira na svjetlo, a 0 bodova da bolesnik ne pokazuje nikakve reakcije na svjetlosni stimulus. U jednom aspektu doza rhTPP1 učinkovita je kada održava ocjenu vida na istoj razini kao na prethodnom mjerenju prije ili za vrijeme liječenja, primjerice, 3 boda, 2 boda ili 2 bod. U drugom aspektu, doza rhTPP1 djelotvorna je da u bolesnika uspori ili reducira pogoršanje vida uzrokovano CLN2, što se može dokazati održavanjem razine vida na istoj razini tijekom duljega razdoblja ili manjim padom ocjene vida u usporedbi s očekivanim u odnosu na prirodnu progresiju bolesti.

30 **0059/** U drugome dijelu, metoda liječenja osoba s CLN2 ili onih s CLN2 u obiteljskoj anamnezi podrazumijeva i davanje doze rhTPP1 učinkovite u održavanju funkcije hranjenja ili u usporavanju ili redukciji pogoršanja funkcije hranjenja. U jednom dijelu pogoršanje funkcije hranjenja jest sniženje za barem jedan bod na WCMC ljestvici za procjenu bolesti u usporedbi s ranijim mjerenjem prije ili tijekom terapije. Prema WCMC ljestvici, ocjena 3 boda znači da nema disfunkcije gutanja; 2 boda označava blagu disfunkciju gutanja; 1 bod označava umjerenu disfunkciju gutanja, a 0 bodova znači da je bolesnik ovisan o gastrostomi i sondi za hranjenje. U jednom aspektu doza rhTPP1 djelotvorna je za održavanje ocjene bolesnikove funkcije hranjenja na istoj razini kao u prethodnom mjerenju prije ili tijekom liječenja, primjerice, na 3 boda, 2 boda ili na 1 bod. U drugom aspektu doza rhTPP1 učinkovita je da uspori ili reducira pogoršanje funkcije hranjenja u bolesnika uzrokovano CLN2, što se može dokazati održavanjem funkcije hranjenja na istoj razini tijekom duljega razdoblja ili manjim pogoršanjem ocjene hranjenja u usporedbi s očekivanim s obzirom na prirodno napredovanje bolesti.

45 Daju se nadalje metode liječenja CLN2 koje obuhvaćaju davanje rhTPP1 u dozi učinkovitoj za poboljšanje fiziološke funkcije, pri čemu je ta fiziološka funkcija jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja. Donosi se i primjena rhTPP1 u izradi lijeka za poboljšanje fiziološke funkcije u oboljelih od CLN2 ili rhTPP1 za poboljšanje fiziološke funkcije u bolesnika s CLN2, pri čemu je fiziološka funkcija jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja. Uzimajući u obzir progresivno degenerativnu narav bolesti, poboljšanje jezične funkcije, motoričke funkcije, vida i / ili funkcije hranjenja, osobito je poželjno pokaže li se da je bolesnik ponovo stekao izgubljenu funkciju; to je, međutim, s današnjim terapijskim mogućnostima teško postići.

50 U jednom aspektu metoda liječenja oboljelih od CLN2 obuhvaća i davanje doze rhTPP1 djelotvorne da poboljša jezičnu funkciju. Poboljšanje jezične funkcije jest povećanje za barem jedan bod u usporedbi s ranijim mjerenjem prije ili tijekom terapije mjereno WCMC ili hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti. Primjerice, bolesnik može napredovati od ocjene 1 bod ili 2 boda na ocjenu od 3 boda, što znači povratak na normalan jezik, ili se može popraviti s ocjene od 1 bod na 2 boda.

55 U jednom dijelu metoda liječenja oboljelih od CLN2 uključuje davanje doze rhTPP1 učinkovite u poboljšanju motoričke funkcije u oboljeloga. Jednim dijelom poboljšanje motoričke funkcije jest povišenje za barem jedan bod u usporedbi s prethodnim ocjenjivanjem prije ili tijekom terapije upotrebom WCMC ili hamburške ljestvice za procjenu bolesti. Primjerice, bolesnik može napredovati s 1 ili 2 boda na 3 boda, što znači povratak na normalan hod, ili s 1 boda na ocjenu 2 boda.

U jednom aspektu metoda liječenja oboljeloga od CLN2 obuhvaća i davanje doze rhTPP1 koja će oboljelomu djelotvorno popraviti vid. Poboljšanje vida jest povećanje za barem jedan bod u usporedbi s prethodnim mjerenjem prije ili za vrijeme terapije mjereno hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti. Primjerice, bolesnik može napredovati od ocjene 1 bod ili 2 boda na ocjenu 3 boda, ili s ocjene 1 bod na 2 boda.

5

U drugom aspektu terapijska metoda za oboljele od CLN2 uključuje davanje doze rhTPP1 djelotvorne da poboljša funkciju hranjenja u bolesnika. Jednim je dijelom poboljšanje funkcije hranjenja povećanje za barem jedan bod u usporedbi s prethodnim mjerenjem prije ili za vrijeme terapije služeći se WCMC ljestvicom za procjenu bolesti. Primjerice, bolesnik može napredovati s ocjene 1 bod ili 2 boda na ocjenu od 3 boda, što znači normalno gutanje, ili napredovati s ocjene od 1 boda na ocjenu od 2 boda ili 3 boda.

10

Nadalje, donose se metode za liječenje CLN2 gdje se rhTPP1 daje oboljelome u dozi djelotvornoj da spriječi ili liječi neurološki simptom bolesti, pri čemu je taj neurološki simptom napadaj, smanjenje volumena mozga, smanjenje količine sive tvari u mozgu ili povećanje količine kranijalne cerebrospinalne tekućine (CSF). Prikazuje se također primjena rhTPP1 u izradi lijeka za sprječavanje ili liječenje kojega neurološkog simptoma u oboljeloga od CLN2 ili onoga s CLN2 u obiteljskoj anamnezi. Prikazuje i rhTPP1 primijenjena u sprječavanju ili liječenju kojega neurološkog simptoma u oboljeloga od CLN2 ili onoga s CLN2 u obiteljskoj anamnezi; pritom je neurološki simptom napadaj, smanjenje moždana volumena, redukcija sive tvari u mozgu ili porast kranijalne cerebrospinalne tekućine.

15

U jednom aspektu metoda liječenja oboljeloga od CLN2 ili s CLN2 u obiteljskoj anamnezi znači davanje oboljelome doze rhTPP1 učinkovite u održavanju ili smanjivanju broja napadaja. U jednom aspektu doza je djelotvorna da snizi mjesečni broj napadaja u bolesnika. U drugom aspektu doza je djelotvorna da povisi ocjenu napadaja za barem jedan bod u odnosu na ranije mjerenje prije ili tijekom terapije koristeći se hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti. Prema hamburškoj ljestvici, 3 boda znače izostanak napadaja u 3 mjeseca; 2 boda znače 1 do 2 napadaja u 3 mjeseca; 1 bod znači 1 napadaj mjesečno, a 0 bodova više od 1 napadaja mjesečno. U jednom aspektu doza rhTPP1 djelotvorna je da održi broj napadaja na istoj razini kao kod prethodna mjerenja prije ili za vrijeme terapije, npr., 3 boda, 2 boda ili jedan bod. U drugom aspektu doza rhTPP1 djelotvorna je u održavanju ili smanjivanju broja napadaja u oboljeloga, što se može dokazati održanim brojem napadaja mjesečno dulje vrijeme ili manjim padom broja napadaja u usporedbi s onim što bi se moglo očekivati po prirodnoj progresiji bolesti.

20

25

30

U drugom aspektu metoda liječenja oboljeloga od CLN2 ili onoga s CLN2 u obiteljskoj anamnezi sadržava davanje doze rhTPP1 djelotvorne u održavanju volumena mozga ili u usporavanju ili reduciranju smanjenja volumena mozga u bolesnika. Atrofija mozga raste kako bolest napreduje, što rezultira gubitkom moždana volumena i s time povezanim povećanjem volumena i relativna udjela intrakranijalne cerebrospinalne tekućine. Moždani volumen može se mjeriti metodama koje su u toj struci poznate: primjerice, tehnikama snimanja, kao što su magnetska rezonancija (MRI), kompjutorizirana tomografija (CT), pozitronska emisijska tomografija (PET), jednofotonska emisijska spektroskopija tomografija (SPECT), elektroencefalografija (EEG), magnetoencefalografija (MEG) i bliska infracrvena spektroskopija (NIRS). U jednom aspektu doza rhTPP1 djelotvorna je da uspori ili reducira smanjenje moždana volumena uzrokovana CLN2 bolešću, što se može prikazati održavanjem moždana volumena dulje vrijeme ili redukcijom smanjenja moždana volumena u odnosu na ono što bi se moglo očekivati imajući u vidu prirodnu progresiju bolesti.

35

40

U drugom vidu metoda liječenja oboljeloga od CLN2 ili onoga s CLN2 u obiteljskoj anamnezi obuhvaća davanje doze rhTPP1 djelotvorne u održavanju sive tvari u mozgu ili u usporavanju ili smanjivanju gubitka sive tvari u mozgu. Gubitak sive tvari u mozgu zbog atrofije mozga pojavljuje se s napredovanjem bolesti i rezultira time da se siva tvar gubi kao postotak moždana volumena. Količina sive tvari u mozgu može se utvrditi metodama poznatima u struci, primjerice, MRI-em, CT-om, PET-om, SPECT-om, EEG-om, MEG-om i NIRS-om. U jednom aspektu doza rhTPP1 djelotvorna je u usporavanju ili reduciranju gubitka sive tvari u oboljeloga, što se može prikazati održanim volumenom sive tvari tijekom duljega razdoblja ili manjim gubitkom sive tvari kao postotka moždana volumena u usporedbi s onime što bi se moglo očekivati ako se uzme u obzir prirodna progresija bolesti.

45

50

U drugom aspektu metoda liječenja oboljeloga od CLN2 ili onoga s CLN2 u obiteljskoj anamnezi obuhvaća davanje doze rhTPP1 koja djelotvorno održava volumen kranijalne cerebrospinalne tekućine (CSF) ili usporava povećanje volumena kranijalne CSF u oboljeloga. Volumen kranijalne cerebrospinalne tekućine i njezin udio u ukupnoj cerebrospinalnoj tekućini povećava se kao rezultat cerebralne atrofije. Količina i udio kranijalne CSF može se utvrditi metodama poznatima u struci, primjerice, tehnikama snimanja kao što je MRI i CT. U jednom aspektu doza rhTPP1 djelotvorna je u usporavanju ili smanjivanju porasta kranijalne cerebrospinalne tekućine u bolesnika, što se može pokazati održanim volumenom kranijalne cerebrospinalne tekućine tijekom duljega razdoblja ili manjim povećanjem kranijalne cerebrospinalne tekućine kao postotka ukupne CSF u odnosu na očekivano kad se uzme u obzir prirodna progresija bolesti.

55

60

Navedene metode, smjese za uporabu i primjene mogu nadalje obuhvaćati bilo koje od sljedećih obilježja, samih ili u kombinaciji.

U jednom aspektu, metoda, smjesa za primjenu ili primjena u prijavi obuhvaća davanje pripravka, smjesu ili dozu koje sadržavaju TTP1 ispitaniku trajno ili trajno tijekom određena razdoblja od barem oko 1 sata, primjerice, barem oko 1 sata, barem oko 2 sata, barem oko 3 sata, barem oko 4 sata, barem oko 5 sati, barem oko 6 sati ili dulje. U drugom aspektu metoda ili korištenje otkrićem podrazumijeva davanje pripravka, smjese ili doze što sadržava oko 20 mg do oko 500 mg, oko 30 mg do oko 500 mg, oko 50 mg do oko 500 mg, oko 100 mg do oko 500 mg, oko 200mg do oko 400 mg, oko 250 mg do oko 350 mg ili oko 275 mg do oko 325 mg rhTPP1 ispitaniku kojemu je potrebna, primjerice oko 20 mg, oko 30 mg, oko 50 mg, oko 100 mg, oko 200 mg, oko 300 mg, oko 400 mg ili oko 500 mg rhTPP1. U jednom aspektu metoda ili primjena prijavljena otkrića obuhvaća davanje pripravka, smjese ili doze s volumenom od oko 20 mL ili manje oko 15 mL ili manje, oko 10 mL ili manje, oko 7,5 mL ili manje, oko 5 mL ili manje, primjerice, oko 20 mL, oko 15 mL, oko 10 mL, oko 9 mL, oko 8 mL, oko 7 mL, oko 6 mL, oko 5 mL, oko 4 mL, oko 3 mL, oko 2 mL, oko 1 mL ili oko 0,5 mL po dozi ili davanju.

U raznim aspektima metoda, smjesa za primjenu ili primjena u prijavljena otkrića obuhvaća davanje pripravka, smjese ili doze koja sadržava rhTPP1 oboljelome brzinom manjom od ili jednakom oko 2,5 mL na sat pripravka, smjese ili doze što sadržava rhTTP ispitaniku; brzinom manjom manjom od ili jednakom oko 75 mg rhTPP1 na sat; ili manjom od ili jednakom oko 75 mg rhTPP1 na 2,5 mL pripravka ili smjese na sat. Pripravak, smjesa ili doza mogu se eventualno davati kontinuirano ili često tijekom razdoblja od barem oko 4 sata.

U jednom aspektu metoda, smjesa za primjenu ili primjena prijavljena otkrića podrazumijeva davanje pripravka, smjese ili doze koje sadržavaju rhTTP1 tjedno ili rjeđe, primjerice tjedno, svaki drugi tjedan ili mjesečno. Konkretnije, metoda, smjesa ili primjena prijavljena otkrića obuhvaća davanje pripravka, smjese ili doze koji sadržavaju rhTPP1 jednom svakih 7 dana, 8 dana, 9 dana, 10 dana, 11 dana, 12 dana, 13 dana, 14 dana, 15 dana, 16 dana, 17 dana, 18 dana, 19 dana, 20 dana, 21 dan, 22 dana, 23 dana, 24 dana, 25 dana, 26 dana, 27 dana, 28 dana, 29 dana, 30 dana ili 31 dan. U jednom aspektu pripravak, smjesa ili doza daje se intracerebroventrikularno. U drugom aspektu, pripravak, smjesa ili doza daje se intratekalno. U opet drugom aspektu, pripravak, smjesa ili doza daje se intraokularno. U još jednom aspektu, pripravak, smjesa ili doza daje se intracerebroventrikularno ili intratekalno kao i intraokularno. Intracerebroventrikularno davanje omogućava prodiranje do dubokih sivih struktura mozga kao što su talami, strijatum i srednji mozak zbog fiziologije protoka cerebrospinalne tekućine, gdje ventrikularno davanje omogućuje protok u treću i četvrtu moždanu komoru, a i cijedi se kroz neuropil moždanih polutki blagim gradijentom tlaka od komore do subarahnoidnoga prostora. Intratekalno i intracerebroventrikularno davanje rekombinantnoga enzima za liječenje poremećaja taloženja u lizosomima opisani su u *U.S. Patent* br. 7,442.372, inkorporirani navođenjem ovdje u cijelosti.

Pripravak, smjesa ili doza rhTPP1 iz prijave može se dati u jednoj jedinjoj bolusnoj injekciji ili u nizu injekcija (primjerice, u mozak, lumbalno područje ili u oko) ili kao kontinuirana ili česta infuzija, primjerice, pomoću infuzijske pumpe ili neke druge implantirane naprave. U jednom aspektu pripravak, sastav ili doza rhTPP1 daje se u infuziji, intubiranjem pomoću infuzijskoga sistema, kroz in-line filter, (primjerice, oko 0,2 µm), pomoću rezervoara (primjerice, intratekalnoga ili intracerebroventrikularnoga) ili kroz kateter. Često, kada se smjesa daje intratekalno ili intracerebroventrikularno, prije nego što se smjesa bolesniku daje, iz njega se izvlači određeni volumen cerebrospinalne tekućine sličan volumenu smjese kako bi se spriječile nuspojave prouzročene umjetnim podizanjem intracerebralnoga ili intratekalnoga tlaka. Međutim, kao što je opisano u primjeru 3, ovdje se pokazuje da se pripravak, smjesa ili doza rhTPP1 iz prijavljena otkrića mogu dati a da se tik prije davanja pripravka, smjese ili doze rhTPP1 ne ukloni ni najmanji volumen cerebrospinalne tekućine.

U jednom aspektu metoda ili primjena iz otkrića sadržava davanje oko 10 mL pripravka, smjese ili doze sa 300 mg rhTPP1, intracerebroventrikularno tijekom razdoblja od 4 sata svaki drugi tjedan.

Pripravci i smjese ovoga izuma mogu se bolesniku u potrebi izravno davati (tj., ne-izovolumetrijski) ili se mogu davati nakon izvlačenja definiranoga volumena cerebrospinalne tekućine iz tijela, pri čemu je taj definirani volumen približno isti kao volumen smjese koja se potom unosi (tj. izovolumetrijski).

U jednom aspektu metoda, smjesa za primjenu ili primjena iz otkrića nadalje uključuje davanje otopine za ispiranje nakon davanja rhTPP1. Otopina za ispiranje daje se na isti način kao i rhTPP1 i primjenom istoga sustava primjene (primjerice, infuzijskoga sustava), u cilju da ukloni svaki ostatak rhTPP1 zaostao u sustavu davanja i da osigura da bolesnik primi potpunu propisanu dozu rhTPP1. U jednom aspektu otopina za ispiranje daje se (primjerice, kroz isti kateter koji se prethodno rabio za davanje smjese s rhTPP1-om) u količini između oko 0,5 mL i oko 5 mL, primjerice, oko 0,5 mL, oko 1 mL, oko 2 mL, oko 3 mL ili oko 5 mL. U jednom aspektu otopina za ispiranje sadržava iste komponente kao i pripravak ili smjesa s rhTPP1-om, ali bez rhTPP1. U jednom aspektu otopina za ispiranje sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL, kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL i razrjeđivač, primjerice vodu za injiciranje.

Pribor

U otkriću se nadalje donose pribore (kitove) koji sadržavaju pripravak rhTPP1 opisan ovdje, u dozi i obliku prikladnu za davanje bolesniku. U jednom aspektu pribor sadržava pripravak s oko 30 mg/mL rhTPP1, natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev korid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL, kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL i razrjeđivač, primjerice vodu za injiciranje. U jednom aspektu pribor sadržava i upute za intracerebroventrikularno, intratekalno i/ili intraokularno davanje terapijskih smjesa ovoga izuma, uz terapijski pripravak. U drugom aspektu pribor nadalje sadržava otopinu za ispiranje kako je ovdje opisana. U opet drugom aspektu pribor nadalje sadržava sustav za davanje pripravka, koji sadržava ponešto od ili sve sljedećih komponenti: cijevi (intubiranje), in-line filter, rezervoar za implantiranje i kateter. U jednom aspektu pribor može obuhvaćati katetere, rezervoare ili druge naprave već napunjene terapijskim pripravkom iz ove prijave. Primjerice, konkretno se razmatraju kateteri napunjeni s oko 100 mg rhTPP1, oko 200 mg rhTPP1 oko 300 mg rhTPP1, s oko 400 mg rhTPP1 ili s oko 500 mg rhTPP1, u farmaceutski prikladnom pripravku. S druge strane, pribor može sadržavati katetere, rezervoare ili druge naprave koje se mogu puniti te primjerene količine enzima za punjenje ovih naprava.

U određenim izvedbama pribor ovoga izuma može sadržavati jednu ili više od sljedećih komponenti: produžnu liniju (npr., br. proizvoda 536040, *Smiths Medical*, Dublin, OH), "in-line" filter (npr., br. proizvoda FS116, *Smiths Medical*), portnu iglu (npr., br. proizvoda 21-2737-24, *Smiths Medical*), špricu ili dvije ili više šprica (npr., br. proizvoda 309604, *Becton Dickinson*, Franklin Lakes, NJ) ili iglu za špricu ili dvije ili više igala za špricu (npr., br. proizvoda 305196, *Becton Dickinson*).

Ovo će se otkriće bolje razumjeti pomoću sljedećih primjera, koji se donose kao ilustracija i bez namjere da budu ograničavajući.

Primjeri

Sljedeći primjeri opisuju pripravak koji sadržava rhTPP1 za intracerebroventrikularno (ICV) davanje te rezultate davanja pripravka humanim bolesnicima u usporedbi s pridruženim neliječenim bolesnicima u kojih je bolest imala prirodan tijek.

Primjer 1**35 Pripravak rhTPP1 za intracerebroventrikularnu primjenu**

RhTPP1 stvorena je u genetičkim inženjersvom promijenjenoj CHO domaćinskoj staničnoj liniji i pročišćena standardnim kromatografskim metodama, kao što je opisano u *U. S. Patent* br. 6,302,685 te u Sleat i sur., 1997, *Science* 277:1802-1805, inkorporirano referiranjem ovdje u cijelosti. RhTPP1 proizvedena je kao inaktivni proenzim koji će se autoaktivirati pri kiselom pH nakon ulaza u lizosom. Proenzimski oblik rhTPP1 ima izotopima izračunatu prosječnu molekularnu težinu od približno 59 kDa. Zreli enzim ima prividnu molekularnu težinu od otprilike 46 kDa. Sekvencija aminokiselina proenzima rhTPP1 izložena je na SEQ ID NO: 1 i prikazana na slici 1. Prosegment enzima jest prvih 176 rezidua aminokiselina, a zreli enzim 368 aminokiselina u duljini započinjući na poziciji 177, a izložen je na SEQ ID NO: 2.

Pripravak rhTPP1 primjenjivan u Primjerima bio je sterilna otopina za ICV infuziju. Bila je to bistra i bezbojna-doblijedožuta tekućina što sadržava rhTPP1 protein formuliran pri koncentraciji od 30 mg/mL. Pripravak je upakiran u sustavu za zatvaranje spremnika koji se sastoji od providne bočice od borosilikatna stakla zatvorene butil gumenim čepom presvučenim fluoropolimerom i zapečaćene aluminijskim pečatom. Pripravak je pohranjen na temperaturi od -40 °C ± 10 °C i isporučen smrznut. Ciljna je pH vrijednost pripravka bila pH 6.5.

Sastav rTPP1 pripravka što se primjenjuje u Primjerima donosimo na tablici 2.

TABLICA 2.

Komponenta	Koncentracija (mg/mL)	Količina po bočici	Funkcija	Stupanj u Kompendiju
rhTPP1	30	30 mg	aktivni sastojak	NA
Natrijev fosfat dibazični heptahidrat	0,11	0,11 mg	pufer	USP/Ph.Eur
Natrijev fosfat monobazični monohidrat	0,08	0,08 mg	pufer	USP/Ph.Eur
Natrijev klorid	8,77	8,77 mg	izotonični agens	USP/Ph.Eur/JP
Kalijev klorid	0,22	0,22 mg	održava razinu ključnoga elektrolita u cerebrospinalnoj tekućini	USP/Ph.Eur/JP
Magnezijev klorid heksahidrat	0,16	0,16 mg	održava razinu ključnoga elektrolita u cerebrospinalnoj tekućini	USP/Ph.Eur
Kalcijev klorid dihidrat	0,21	0,21 mg	održava razinu ključnoga elektrolita u cerebrospinalnoj tekućini	USP/Ph.Eur/JP
Voda za injekcije (qs)	NP	1,00 mL	razrjeđivač	USP/Ph.Eur/JP

5 Pripravak rhTPP1 pažljivo je sintetiziran tako da oponaša svojstva humane cerebrospinalne tekućine, pa su koncentracije ključnih elektrolita slične nađenima u humanoj cerebrospinalnoj tekućini *in vivo*. Pripravak nije sadržavao nikakvih konvencionalnih konzervansa niti stabilizatora kao ekscipijensa. Nakon davanja pripravka rhTPP1 nisu prijavljeni niti uočeni nikakvi znatniji problemi s neškodljivošću pripravka, primjerice ozbiljne nuspojave, koji se ranije nisu mogli predvidjeti.

10 Ispitivanja stabilnosti provedena su u dugotrajnim (≤ -60 °C) i ubrzanim uvjetima (5 ± 3 °C) u skladu s ICH Smjernicama i po protokolu kako bi se pratila stabilnost vrijeme-temperatura. Uzorci kod kojih je ispitivana stabilnost pohranjeni su u malenim bočicama izrađenima od istih materijala kao i ambalaža normalne veličine. Podatci o stabilnosti prikupljeni na pomoćnim i kliničkim serijama pokazali su da je pripravak rhTPP1 bio stabilan na ≤ -60 °C barem 36 mjeseci, a na 5 ± 3 °C barem 6 mjeseci. Ovo je bilo iznenađujuće budući da pripravak ne sadržava konzervanse ni stabilizatore uobičajene u farmaceutskim proizvodima. Na tablici 3 prikazani su rezultati testiranja stabilnosti

TABLICA 3

20

Test	Specifikacija	Skladištenje	M j e s e c i								
			0	3	6	9	12	18	24	36	
KVALITETA											
Izgled	Bezbojna do blijedožuta tekućina	Dugotrajno Ubrzano	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Sijalična kiselina	2 – 7 mol/mol	Dugotrajno Ubrzano	X		X		X	X	X	X	X
POTENTNOST											
Specifična aktivnost, aktivacija kiselosti	5-15 j/mg	Dugotrajno Ubrzano	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Specifična aktivnost bez aktivacije kiselosti	≤ 0,075 j/mg	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
Profil oligosaharida	Usporediv referentnim <hr/> 10 -26 % bismoza-6-fosfat oligomanoza	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
Ulazak u stanicu	≤ 10 nM	Dugotrajno Ubrzano	X X		X X		X	X	X	X
S N A G A										
Koncentracija proteina	27 -33 mg/mL	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
Č I S T O Ć A										
Srodne supstancije po RP-HPLC	Rezultat prijaviti (% glavni maksimum)	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
Varijante molekularne veličine	≤ 95 % monomer	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
Charge heterogeneity	Usporedivo referentnim <hr/> ≤ 95 % glavni maksimum	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
Srodne supstancije	Usporedivo referentnim	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
S A S T A V										
pH	6,0 – 7,0	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X
Osmolalnost	270 – 330 mOSm/kg	Dugotrajno Ubrzano	X X	X X	X X	X	X	X	X	X

Primjer 2**Ispitivanje prirodna tijeka bolesti**

- 5 Kvantitativna procjena prirodna tijeka progresije bolesti CLN2 analizirana je na kohorti od 41 neliječenog bolesnika s CLN2. U ocjenjivanju neuroloških i funkcionalnih domena primjerenih za dob na koje je djelovala bolest primijenjena je hamburška klinička ljestvica.

- 10 Kvantitativni opis kliničkoga propadanja u ispitanika s neliječenim prirodnim tijekom CLN2 prikazuje se na slici 2. Analiza prirodna tijeka bolesti pokazuje jasan i predvidljiv odnos dobi i jakosti bolesti. Nakon nastupa motoričkih i jezičnih simptoma, u biti je nastupilo brzo linearno pogoršanje, kod kojega su djeca u prosjeku gubila oko 2 presudna događaja svake godine (linearna stopa pogoršanja 2,1 bod godišnje). Tijek je, međutim, bio vrlo predvidljiv, bilo je nekoliko slučajeva s “kasnim nastupom (simptoma)”, koji su činili manje od 20 % populacije u kohorti. Ti su bolesnici imali kasniji nastup simptoma i dulje razdoblje blagoga stupnja bolesti, ali, najčešće 2 do 3 godine kasnije nego u klasičnom obliku bolesti, nastupilo je brzo i aktivno pogoršanje.

- 15 Kvantitativno kliničko napredovanje bolesti u hamburškoj kohorti potkrijepljeno je nadodanim kliničkim ocjenama jedne neovisne kohorte (bolesnici i ocjenjivači) iz WCMC ljestvice (n = 49). Iako su klinički opisi neovisnih CLN2 kohorta slični, ovo je bila prva potvrda snažnoga kvantitativnog odnosa u progresiji bolesti između odvojenih skupina bolesnika. Obje kohorte bolesnika s CLN2 imale su u velikoj većini klasičan kasni infantilni nastup i progresiju bolesti, a manji dio djece koja su imala fenotip “kasnoga nastupa” obično su imala rane manifestacije bolesti u dobi od 5 godina, a ne 3 godine. Skala koja mjeri motoriku (hod) i jezičnu funkciju reproducibilno je izmjerila neurološko pogoršanje u bolesnika s CLN2.

Na osnovi gornjih analiza, kohorta bolesnika s prirodnim tijekom bolesti utvrđena je kao prikladna kontrolna ne-liječena populacija, a prosječna stopa pogoršanja simptoma CLN2 u toj neliječenoj populaciji s prirodnim tijekom bolesti može se koristiti kao učinkovito i informativno sredstvo usporedbe za svaku prevenciju ili redukciju stope pogoršanja simptoma u oboljeloga od CLN2 u kojeg je tu prevenciju ili redukciju stope pogoršanja simptoma prouzročilo davanje smjese iz ovoga izuma.

Primjer 3

Otvoreno ispitivanje povišenja doze faze 1 / faze 2 u bolesnika s CLN2

Provedeno je otvoreno kliničko ispitivanje povišenja doze, radi evaluacije neškodljivosti, podnošljivosti i djelotvornosti pripravka rhTPP1 iz prijave. Pripravak je davan djeci s CLN2 kroz intracerebroventrikularni (ICV) kateter u dozi od 300 mg (10 mL ukupni volumen) svaki drugi tjedan. Studija je planirana tako da utvrdi neškodljivost i podnošljivost, počevši s niskim dozama (30 mg i 100 mg). Doza se, međutim, u svih bolesnika povišala do visoke očekivane terapijske doze (300 mg) nakon što je neovisan odbor za praćenje podataka zaključio da su niske doze neškodljive. Za sve uključene bolesnike ispitivanje je trajalo 48 tjedana, na stabilnoj očekivano terapijskoj dozi od 300 mg intracerebroventrikularno svaki drugi tjedan. Prvenstveni su ciljevi ispitivanja bili da procijeni neškodljivost i podnošenje pripravka rh TPP1u bolesnika s CLN2 pomoću implantiranoga ICV rezervoara i kanile te da procijeni učinkovitost služeći se posebnom ljestvicom za procjenu CLN2 u usporedbi s podacima prirodna tijeka bolesti nakon 12 mjeseci terapije. Sekundarni ciljevi studije bili su da procijeni učinak terapije na stupanj moždane atrofije u usporedbi s prirodnim tijekom CLN2 nakon 12 mjeseci terapije.

Glavni kriteriji za uključivanje u ispitivanje bili su: dijagnosticirana CLN2 i dob pri ulasku u ispitivanju od barem tri godine. Bolesnici u kojih je početni broj bodova za procjenu CLN2 u vrijeme probira bio ispod 3 (hamburškom skupnom ljestvicom za ocjenu motorike / jezika s brojem bodova od 0 do 6) isključeni su iz studije. U bolesnika mlađih od 3 godine bilo je vjerojatno da bolest neće napredovati zbog dobi, a ne zbog terapije, kao što se vidi na horizontalnoj crti na progresijskoj krivulji. Bolesnici s rezultatom pri probiru od 2 ili manje bili su također manje linearni, varijabilniji i smatrani potencijalno refrakternijima na terapiju zbog svojega stadija bolesti. Tako je terapijska skupina jednostavno definirana dobi i rezultatom (brojem bodova na ljestvici), da obuhvati rano i visoko predvidljivo pogoršanje.

Srednja dob kod ulaska u pokus bila je 4,0 godina, bilo je neznatno više djevojčica nego dječaka, predominantno bijelci. Klinički rezultat za CLN2 pri probiru i početni prikazuju se na tablici 4, koja pokazuje bodove na hamburškoj ljestvici za svaku ispitivanu kohortu i ukupne vrijednosti i na probiru i početne.

TABLICA 4

Bodovi kod CLN2 – 6 bodova hamburške ljestvice – posljednje mjerenje unutar svakoga razdoblja doziranja					
Analizirana populacija: namjera da se liječi					
Analizirani skup podataka: cijelo razdoblje doziranja					
	Kohorta 1 (n = 3)	Kohorta 2 (n = 3)	Kohorta 3 (n = 3)	Samo stabilno doziranje (n = 14)	Ukupno (n = 23)
Probir					
6	1 (33 %)	0	1 (33 %)	0	2 (9 %)
5	0	0	0	2 (14 %)	2 (9 %)
4	0	0	0	6 (43 %)	6 (26 %)
3	2 (67 %)	3 (100 %)	2 (67 %)	6 (43 %)	13 (57 %)
Početni podatci					
6	1 (33 %)	0	1 (33 %)	0	2 (9 %)
5	0	0	0	2 (14 %)	2 (9 %)
4	0	0	0	5 (36 %)	5 (22 %)
3	2 (67 %)	3 (100 %)	1 (33 %)	6 (43 %)	12 (52 %)
2	0	0	1 (33 %)	1 (7 %)	2 (9 %)
1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0

U svemu, u rezultatima predterapije CLN2 postojalo je nagnuće prema uznapredovalijoj bolesti. Ako se uzme u obzir brzo napredovanje bolesti i poteškoće pri provjeri, i očekivalo se nagnuće prema nižim rezultatima. Nadalje, postojao je određeni pad u rezultatima pri probiru i u razdoblju (do dva tjedna) do početne procjene (neposredno prije postavljanja intracerebroventrikularnoga rezervoara). Četiri bolesnika iz probirne skupine koji su postigli 3 boda pali su za bod na početnoj procjeni, a dva bolesnika u probirnoj skupini koji su postigli 4 boda pali su na početnoj procjeni na 3 boda.

Dva bolesnika koji su ušli u studiju sa 6 bodova (tj. kao potpuno normalni) bili su braća i sestre oboljele djece. Sklonost, demografija i značajke ispitivane populacije sažeti su na tablici 5.

TABLICA 5

		Ukupno
Dispozicija	Uključeni ispitanici	24
	Liječeni ispitanici	24
	Ispitanici koji su završili ispitivanje	23
	Ispitanici koji su prekinuli ispitivanje	1 ^a
Dob (godine)	Srednja (SD)	4,3 (1,24)
	6	2
	5	2
Početni broj bodova (rezultat)	4	6
Zbroj motorika / jezik	3	12
	2	2
	Srednje (SD), medijan	3,6 (1,06), 3,0
Genotip ^b	Uobičajen*	9 (37,5 %)
	Uobičajen x Ostalo	8 (33,3 %)
	Ostalo	7 (29,2 %)

^aBolesnik uključen u ispitivanje 1287-1007 dobio je jednu dozu i povukao pristanak zbog nesposobnosti da se pridržava postupaka u ispitivanju

^bDistribucija slična u populaciji prirodna tijeka bolesti

*Uobičajeni genotipovi: c.622C>T i c.509-1G>C

Svi bolesnici uključeni u ispitivanje primili su stabilnu dozu od 300 mg ICV (intracerebroventrikularno) svaki drugi tjedan. Kohorta 1 bila je izložena \geq mjesec dana 30 mg ICV svaki drugi tjedan, a tada je prešla na 100 mg ICV svaki drugi tjedan \geq 4 tjedna, dok je kohorta 2 započela sa 100 mg ICV svaki drugi tjedan \geq 4 tjedna. I u kohorte 1 i u kohorte 2 doza je povišena na 300 mg ICV svaki drugi tjedan, pa su svi kasniji bolesnici uključujući kohortu 3 započeli sa stabilnim režimom doziranja od 300 mg ICV svaki drugi tjedan i nastavili tako \geq 48 tjedana. Doza od 300 mg davana je u 10 mL infuzijom tijekom 4 sata kroz ICV kateter. Određeni volumen cerebrospinalne tekućine, primjerice ekvivalentan količini pripravka rhTPP1 koju će bolesnik dobiti, nije vađen neposredno prije početka infuzije, što je atipično. Iznenađuje da to nije uzrokovalo nikakve nuspojave. Neposredno nakon davanja doze od 300 mg, bolesnik je kroz isti ICV kateter dobio otopinu za ispiranje u količini od oko 2 mL. Otopina za ispiranje bila je identična pripravku u tablici 2, ali, nije sadržavala rhTPP1. Bolusna doza od 300 mg enzima po davanju bila je znakovito viša nego u prethodnim intratekalno ili ICV davanjem enzimskim zamjenskim terapijama pa se tako profili neškodljivosti i djelotvornosti uočeni nakon davanja tako visokih doza lijeka nisu mogli unaprijed predvidjeti. Konkretnije, nije se moglo unaprijed predvidjeti da davanje bolusne doze rhTPP1 od 300 mg neće izazvati ozbiljne nelječive nuspojave.

Rezultati

Učinak terapije na kliničku procjenu hoda i jezika. Prvi alat kvantitativne procjene kliničkoga intenziteta bolesti bili su bodovi 0 – 6 na skupnoj podljestvici hoda i jezika zajednički i hamburškoj i WCMC ljestvici za procjenu bolesti. Ova ljestvica izmjerila je predvidljivo, brzo i progresivno kliničko pogoršanje u pridruženih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti, koji su bili kontrola u primarnoj analizi djelotvornosti.

Rezultat za hod / jezik u 23 bolesnika u kojih je liječenje trajalo više od 42 tjedna prikazuje se na slikama 3A do 3F. Od 23 bolesnika, 3 bolesnika (1244-1001, 1244-1002, i 1244-1003) bili su iz kohorte 1, (C1), 3 bolesnika (1244-1004, 1244-1006 i 1287-1005) bili su iz kohorte 2 (C2), 3 bolesnika (1244-1008, 1244-1009, 1244-1010) bili su iz kohorte 3 (C3), i 14 bolesnika (0119-1020, 0146-1021, 0146-1022, 0146-1023, 1244-1011, 1244-1012, 1244-1017, 1244-1024, 1323-1013, 1323-1014, 1323-1015, 1323-1016, 1323-1018 i 1323-1019) bili su iz skupine *Samo stabilno doziranje* (SBO) 300 mg. Kao što se i očekivalo, jezični deficit uobičajeno je bio više uznapredovao od deficita hoda.

Ulazni rezultati nisu bili nasumce distribuirani; u 12 bolesnika bolesti je znakovito napredovala s skupnim ulaznim rezultatom od 3 boda, a 2 su bolesnika imala kombinirani ulazni rezultat 6 bodova. Ako se uzme u obzir brzo napredovanje i potvrda bolesti, djeca često dolaze s očitim pogoršanjem ili kao braća i sestre te djece s očitim pogoršanjem.

5 Nakon terapije prijavljenim pripravkom rhTPP1 (tablica 2, gore), rezultat za ocjenu hoda / jezika u procjeni CLN2 stabilizirao se, kao što se vidi na slikama 3A do 3F. U 11 od 23 bolesnika nije bilo nepromjenjiva pogoršanja tijekom razdoblja liječenja. U 4 bolesnika dogodio se pad za samo 1 bod početkom razdoblja liječenja, ali nakon toga nije bilo nereverzibilnih pogoršanja. Dva bolesnika (1244-1008 i 1323-1013) pali su za 1 bod, s 3 na 2 boda između probira i početnih mjerenja, ali u njih nije bilo nikakvih dodatnih gubitaka bodova tijekom liječenja. Na osnovi rezultata, djelotvornost terapije bila je očita u svih bolesnika, bez obzira na kohortu (početnu dozu) ili rezultat na ulazu u pokus. U određena broja bolesnika bilo je reverzibilnih padova broja bodova. Primjerice, bolesnik 1287-1005 pokazao je smanjenje broja bodova za 2 tijekom prvoga mjeseca terapije, što je predstavljalo gubitak funkcije i hoda i govora. Ipak, ovaj je bolesnik opet dobio jedan bod 60. dana terapije, a nakon toga nije bilo neto promjena do dana analize 440. Ponovo dobiveni broj bodova odnosio se na stjecanje jezika, što naglašava koliko su promjene za samo 1 bod klinički važne.

Niti jedan od 2 bolesnika s rezultatom 6 na ulasku u ispitivanje nije izgubio niti jedan bod. U 7 od 12 bolesnika s ulaznim rezultatom 3 nije bilo nereverzibilna pogoršanja, a 2 su bila stabilna nakon početna pogoršanja za jedan jedini bod. Tako je učinkovitost terapije bila očita u bolesnika sa znakovitim poremećajima i napredovanjem bolesti.

Kao što se pokazalo u ispitivanju prirodna tijeka CLN2, medijan stope pogoršanja u populaciji s bolesti prirodna tijeka procijenjen je na 2,1 bod svake godine. Tako su se u svih bolesnika u skupini na terapiji ocjene poboljšale u usporedbi s očekivanim ishodima u neliječenoj populaciji s prirodnim tijekom bolesti.

25 Kako bi se uspostavio jasniji odnos u tijeku bolesti između liječenih bolesnika i pridruženih, neliječenih, s prirodnim tijekom bolesti, svakom bolesniku – ispitaniku pridruženi su neliječeni bolesnici s bolešću prirodna tijeka po parametrima početnoga rezultata CLN2, dobi i genotipu. Iako nema jasnih podskupina niti činitelja koji bi mogli predskazivati progresiju CLN2, ovi se parametri najčešće primjenjuju za definiranje intenziteta bolesti. Pojedini liječeni bolesnici uspoređivani su sa svakim članom kohorte bolesnika s bolesti prirodna tijeka koji je na početku imao sličan rezultat za ocjenu hoda / jezika, kao što se vidi na slikama 4A do 4I. Bolesnici u studiji pridruženi su po početnom CLN2 rezultatu kako slijedi: za svakoga bolesnika – ispitanika s datim početnim rezultatom utvrđeni su svi bolesnici s prirodnim tijekom bolesti za koje je utvrđena jedna ili više evaluacija CLN2 s istim rezultatom. Ako je početni CLN1 rezultat bolesnika na terapiji bio 2, 3, 4 ili 5, tada je profil CLN2 vs. vrijeme svakoga bolesnika s prirodnim tijekom bolesti pomaknut ulijevo ili udesno tako da se poklopi s početnim rezultatom bolesnika na terapiji. Ako je u bolesnika s prirodnim tijekom bolesti bilo više mjerenja s rezultatima jednakima početnim rezultatima ispitanika, tada je srednje vrijeme tih mjerenja korišteno za 'pomicanje' vremena. Ako je početni rezultat bolesnika – ispitanika bio 6 bodova, tada se u bolesnika s prirodnim tijekom bolesti koristio posljednji rezultat od 6 bodova za 'pomicanje' vremena. Analize osjetljivosti provedene su primjenom drugih kriterija pridruživanja, a rezultati tih analiza bili su konzistentni s analizama pridruživanja rezultata.

Slike 4A do 4I prikazuju rezultate u ispitanika liječenih prijavljenim rhTPP1 pripravkom nasuprot pridruženih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti. Liječeni ispitanici i neliječeni bolesnici s bolesti prirodna tijeka pridruženi su prema skupnim rezultatima procjene bolesti primjenom podljestvica za hod i jezik s 0 – 6 bodova. Ocjene svakoga uspoređivane su tijekom jednogodišnjega razdoblja terapije. U bolesnika koji su primali rhTPP1 uočena je učinkovitost terapije u usporedbi sa svim članovima pridružene neliječene skupine bolesnika s prirodnim tijekom bolesti. Ispitanik 1244-1001 (slika 4A) ispoljio je smanjenje broja bodova s 3 na 2 nakon 120 dana terapije, ali je ponovo vratio taj bod i kasnije nije pokazivao nikakvih neto promjena. U ispitanika 1244-1002 (slika 4B) ocjena je porasla s 3 na 4 boda, pala s 4 na 2 boda i porasla s 2 na 3 boda, što je rezultiralo ukupnim održanjem ocjene bolesti na kraju studije u usporedbi s danom 1. Ispitanici 1244-1003 (slika 4C) i 1244-1010 (slika 4I) održali su broj bodova na 6, tj. normalna motorička i jezična funkcija tijekom čitava ispitivanja. Ispitanici 1244-1004 (slika 4D) i 1244-1009 (slika 4H) održali su ocjenu od 3 boda tijekom čitave studije. Ispitaniku 1244-1006 (slika 4E) ocjena je na početku pala s 3 na 2 boda, ali je vratio jedan bod, pa opet pao s 3 na 2 boda, bez kasnijih neto promjena. U ispitanika 1244-1008 (slika 4G) u početku je broj bodova pao s 3 na 2, bez daljnjih neto promjena kasnije.

55 Za razliku od svih liječenih bolesnika, većina njima pridruženih neliječenih bolesnika s bolešću prirodna tijeka imala je do kraja razdoblja uspoređivanja nereverzibilan pad broja bodova s 3 na 0; to je ukazivalo na progresiju bolesti do potpuna gubitka funkcije hoda i jezika kombinirano. Analiza pridruživanja ukazuje na djelotvornost liječenja u onih bolesnika u kojih se broj bodova (rezultat) bolesti održao te u kojih u početku broj bodova padne, ali se potom stabilizira.

Najsloženiji odgovor (ispitanik 1287-1005) prikazan je na slici 4F. Iako je u toga bolesnika broj bodova brzo pao za 2 boda, od početnoga rezultata od 3 boda na rezultat u studiji od 1 bod tijekom prvoga mjeseca ispitivanja, bio je u stanju vratiti 1 bod i stabilizirati se na 2 boda. Interepretaciju toga slučaja razjasnila je usporedba s bolesnicima s prirodnim tijekom bolesti pridruženim po rezultatu (broju bodova). Klinički napredak bio je lošiji u 15 od 18 neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti i isti u samo dva takva bolesnika pridružena po rezultatu (jedan jedini neliječeni bolesnik s prirodnim tijekom bolesti koji je bio usporediv nije se mogao evaluirati). Klinički se tijek u neliječenih bolesnika uvijek pogoršavao, često s kratkim razdobljem između gubitka važnih ključnih elemenata funkcija. Nikada nije bilo ponovne uspostave izgubljene funkcije niti potom stabilizacije. Stoga, usporedba, pridruživanje s najsloženijim profilom na terapiji također ukazuje na jasnu korist terapije.

Slika 5 prikazuje distribuciju kliničkih promjena u pridruženih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti od stanja na početku studije pa tijekom razdoblja liječenja ispitanika te usporedbu tih promjena s onima u ispitanika. Kao što je ranije navedeno, u 7 od 9 (> 75 %) bolesnika nije bilo nikakvih promjena od početne ocjene bolesti. U svih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti pridruženih tima 7 bolesnika u razdoblju terapije bolest se pogoršala za barem jedan bod, ali češće je bilo pogoršanje za 2 do 4 boda. Kao primjer, bolesnik 1244-1001 imao je jednu pridruženu kontrolu (neliječena bolesnika) koja je izgubila 1 bod, 3 kontrole (pridruženih neliječenih bolesnika) koji su izgubili 2 boda i 14 pridruženih neliječenih bolesnika koji su izgubili sva 3 dostupna boda za ocjenu jezika / hoda. Stoga, u istom razdoblju u bolesnika na terapiji nije bilo nikakvih promjena, ali 14 od 18 (> 75 %) kontrolnih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti izgubilo je sve funkcije hoda i jezika. Kod početnoga rezultata kod ulaska u ispitivanje 3 pojavio se "floor effect", u kojemu su mnogi pridruženi neliječeni bolesnici s bolesti prirodna tijeka izgubili sve dostupne bodove. Ipak, 2 bolesnika s ulaznim rezultatom od 6 bodova (bolesnici 1244-1003 i 1244-1010) pokazala su, što je vrlo važno, kako je i u ovih kontrola došlo do aktivna pogoršanja, u nekih i s padom od 4 i 5 bodova tijekom terapijskoga razdoblja. Ovaj opazaj jasna je klinička potvrda bitnoga djelovanja terapije. Većina je liječene djece održala kliničku ocjenu bolesti dobivenu pri ulasku u ispitivanje, za razliku od pridruženih kontrola, koje su tijekom istoga razdoblja aktivno izgubile jezik i samostalan hod, mnogi do potpuna gubitka funkcije. Preostala dva liječena bolesnika koja su izgubila jedan bod (ispitanici 1287-1005 i 1287-1006) ipak su tijekom razdoblja terapije imala bolje kliničke ocjene od velike većine kontrola. Ukupno, od neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti pridruženih po rezultatu procjene bolesti, 97 % imalo je lošije ocjene od liječenih ispitanika.

Koristeći se kriterijima višestrukoga pridruživanja (npr. početne vrijednosti, dob i genotip), gotovo 100 % usporedaba pokazalo je povoljan učinak liječenja u usporedbi s pridruženim neliječenim bolesnicima s bolesti prirodna tijeka. Prosječna terapijska razlika u svim kriterijima pridruživanja u svih liječenih bolesnika u usporedbi s bolesnicima s prirodnim tijekom bolesti kretala se od 1,9 do 2,1 bodova, ovisno o primijenjenu kriteriju pridruživanja.

Slika 9A pokazuje prosječnu promjenu u ocjeni motorika-jezik u bolesnika liječenih ≥ 48 tjedana ($n = 21$; iscrkana crta) i u kohorti bolesnika s bolesti prirodna tijeka ($n = 41$; puna crta). Srednje pogoršanje u ocjeni bolesti u liječenih bolesnika bilo je 0,43 (standardna devijacija 0,839), sa medijanom pogoršanja od 0,00 bodova tijekom 48 tjedana. Nasuprot tome, srednje pogoršanje u ocjeni bolesti u kohorti bolesnika s prirodnim tijekom bolesti bilo je 2,09 (standardna devijacija 0,966), s medijanom pogoršanja od 1,87 bodova tijekom 48 tjedana. U svemu, postojala je znakovita pošteta ($p < 0,0001$) od 79 % očekivana kliničkoga pogoršanja u liječenih bolesnika. Slika 9B pokazuje promjenu u rezultatima motorika – jezik u bolesnika ($n = 23$) od posljednjega mjerenja prije prve (početne) doze od 300 mg do posljednje doze od 300 mg na ≥ 48 tjedana. Ukupno, u 65 % (15 od 23) bolesnika pojavilo se poboljšanje ili nije bilo napredovanja bolesti tijekom liječenja, a u 87 % (20 od 23) bolesnika pojavilo se poboljšanje (tj., rezultat se poboljšao od -1 ili više) u usporedbi s neliječnim bolesnicima iz skupine bolesti s prirodnim tijekomom. Ove su analize uniformno poduprle zaključak kako su se rezultati procjene CLN2 u liječenih bolesnika snažno i klinički znakovito stabilizirali u usporedbi s pridruženim članovima neliječene skupine s bolesti prirodna tijeka, čiji se rezultati brzo i predvidljivo pogoršavaju.

Učinak terapije na kliničku procjenu vida. U neliječenih bolesnika s CLN2 gubitak vida pojavljuje se kasnije od pogoršanja jezika i hoda. Međutim, kad jednom postane simptomatski, tijek je predvidljivo brz i napreduje do sljepoće. Tako je očuvanje vida važno kao učinak terapije. Gubitak vida može se izmjeriti na podljestvici s bodovima od 0 do 3 na sličan način kao i na ostalim podljestvicama, gdje je 3 normalan vid, a 0 funkcionalna sljepoća. Na području podljestvice vida u većine liječenih bolesnika tijekom perioda liječenja nije bilo nereverzibilna gubitka vida. Kada su liječeni bolesnici pridruženi neliječenim bolesnicima s prirodnim tijekomom bolesti po rezultatima, dobi i genotipu primjenom skupnih podljestvica za mjerenje hoda, jezika i vida (0 do 9 bodova), bilo je jasno kako su neliječeni bolesnici s prirodnim tijekomom bolesti izgubili dodatne bodove u usporedbi sa skupini liječenih ispitanika.

Slike 6A do 6I prikazuju rezultate devet ispitanika liječenih pripravkom rhTPP1 naspram neliječenih bolesnika s bolešću prirodna tijeka pridruženih prema rezultatu procjene bolesti bodovima 0 do 9, sa skupnim podljestvicama za procjenu hoda jezika i vida. Ispitanik 1244-1001 (slika 6A) ispoljio je pad broja bodova od 6 na 5, ali onda ubrzo vratio bod na 6, bez neto promjena nakon toga.

U ispitanika 1244-1002 (slika 6B) ocjena je porasla s 5 na 6 bodova, pa pala sa 6 na 4 boda, porasla sa 4 na 5 bodova, tako da je ukupna ocjena bolesti ostala ista na kraju na kraju ispitivanja u usporedbi s danom 1. Ispitanici 1244-1003 (slika 6C) i 1244-1010 (slika 6I) održali su ocjenu od 9 bodova tijekom čitave studije, što znači da su imali normalan hod, jezičnu funkciju i vid. Ispitanici 1244-1004 (slika 6D) i 1244-1009 (slika 6H) zadržali su ocjenu od 6 bodova tijekom čitava ispitivanja, a ispitanik 1244-1008 (slika 6G) održao je ocjenu 5 bodova tijekom čitava ispitivanja. Ispitanik 1244-1006 (slika 6E) na početku je imao pad bodova za 1, sa 6 na 5 bodova, a nakon toga dalji pad na 4 boda, ali vratio je bod na ocjenu 5, nakon čega nije bilo neto promjena. U ispitanika 1287-1005 (slika 6F) ocjena se smanjila sa 6 na 4 boda, nakon čega je uslijetilo povećanje sa 4 na 5 bodova i smanjenje broja bodova sa 5 na 4; ipak, opet je vratio 1 bod, na konačnu ocjenu 5 bodova.

Dodavanje podljestvice za vid nije izazvalo nikakvih promjena u devet liječenih bolesnika tijekom razdoblja terapije. Međutim, u neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti pridruženih ispitanicima prema rezultatu gubitak vida znakovito je pridonosio ukupnom rezultatu. Bilo je više pridruženih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti u kojih je razlika u usporedbi s liječenim ispitanicima bila veća od 3 boda, što je pokazivalo utjecaj pogoršanja vida na ukupni skupni rezultat tijekom razdoblja ispitivanja. Tako je dodavanje podljestvice za vid povećalo razliku između liječenih bolesnika i pridruženih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti. Budući da nije bilo ireverzibilnih gubitaka bodova u pridruženih neliječenih bolesnika s bolešću prirodna tijeka, promatranje učinka terapije rh TPP1 što se tiče zaustavljanja progresije bolesti i stabiliziranja funkcije može se proširiti s područja motorika / hod i jezik na kliničko područje vida.

Učinak terapije na ukupnu procjenu bolesti. Tijekom trajanja ispitivanja bolesnici su procjenjivani pomoću kombinirane ljestvice s 12 bodova koja je sadržavala sve rezultate hamburške ili WCMC ljestvice. Rezultati na toj ljestvici s 12 bodova bili su zbroj bolesnikovih pojedinačnih bodova za (1) motoriku / hod, (2) jezik, (3) napadaje / mioklonus i (4) vid / hranjenje. Slike 10A do 10L prikazuju rezultate ispitanika liječenih pripravkom rhTPP1 iz prijave dobivene pomoću 12-bodovne kombinirane hamburške (lijevi dijagram) ili WCMC ljestvice (desni dijagram). Šesnaest od 23 bolesnika nije imalo ireverzibilnih pogoršanja barem na jednoj ljestvici, a u 8 rezultat se na kraju razdoblja terapije povisio na barem jednoj ljestvici u odnosu na početni. To potvrđuje ukupnu djelotvornost terapije u bolesnika koji su dobivali rhTPP1.

Učinak terapije na volumen mozga. U procjeni sekundarnih krajnjih točaka primjenjivana je MR. Proces bolesti karakteriziraju atrofija, gubitak stanica i signalne anomalije. Ovi parametri koreliraju individualno ili kao skupni rezultat s bolesnikovom dobi i rezultatom procjene bolesti. Tako postoji opći konsenzus da napredovanje bolesti korelira s indeksom atrofije na MRI-u, a pokazalo se da u CLN2 multipli parametri na MRI-u koreliraju s dobi i intenzitetom bolesti (Dyke i sur., *AJNR Am J Neuroradiol* 2013;34(4):884-9; Paniagua i sur. *Clin Neuroradiol* 2013;23(3):189-96). Podatci snimanja koji podržavaju ove zaključke zasnivaju se na poprečnoj korelaciji velikih brojeva bolesnika; nema, međutim, longitudinalnih stjecanja MR snimaka. Ne postoji, stoga, ista mogućnost da se analiza MR snimaka iz longitudinalnoga istraživanja pridruži na sličan način dobivenoj bazi podataka o bolesnicima s prirodnim tijekom bolesti.

Za analizu liječenih bolesnika standardizirani su parametri za MRI na svim hardware platformama na mjestima provođenja studije. Podatci su prikupljeni lokalno, osobni podatci su zaštićeni i preneseni u središnji radiološki laboratorij. Snimke su randomizirane tako da neovisni radiolog nije znao bolesnički ili vremenski odnos do početnih. Promjene u volumenu mozga rekonstruirane su iz randomizirana neovisnog središnjeg očitavanja. Podatci su analizirani tako da se longitudinalna usporedba studija usporedile s početnim stanjem u čitavoj liječenoj populaciji. Na slici 7 prikazuje se sažetak volumena mozga mjerena MR-em u liječenih bolesnika. Moždana atrofija ima za posljedicu veći volumen i udio intrakranijalne cerebrospinalne tekućine. Povećanje ovih parametara atrofije korelira se u bolesnika od CLN2 s dobi i intenzitetom bolesti. Longitudinalne korelacije volumena i udjela CSF u liječenih bolesnika pokazale su također kako, ako ih uopće ima, ima vrlo malo promjena u vrijednostima parametara cerebrospinalne tekućine. U svih bolesnika mjerenja volumena MR-em činila su se konstantnima i u skladu sa stabilizacijom procjena bolesti.

Slike 8A do 8L prikazuju longitudinalnu procjenu MR-em volumena mozga u liječenih bolesnika. Aktivnu neurodegeneraciju u bolesnika s CLN2 karakterizira predominantni gubitak sive tvari i kompenzatorni porast cerebrospinalne tekućine. Međutim, u mjerenu razdoblju volumeni mozga bili su vrlo stabilni i nije bilo dokaza o neurodegenerativnim procesima u liječenih bolesnika. Volumen sive tvari prikazan na slikama 8A do 8L kao razlika između cerebrospinalne tekućine i grafičkog prikaza sive tvari (iscrtkana linija) i prikaza cerebrospinalne tekućine (puna crta) na svakom gornjem i donjem grafu bila je stabilna tijekom čitava ispitivanja u svakoga ispitanog bolesnika. Promjena volumena kortikalne sive tvari kao postotak ukupnoga moždana volumena od posljednjega mjerenja prije prve doze od 300 mg infuzije (početno) u usporedbi s posljednjim promatranjem ≥ 48 tjedana liječenja prikazuje se na tablici 6.

TABLICA 6

	Ukupno (n = 23)
Promjena od početna do posljednja mjerenja	
N	23
Srednje (SD)	-2,3 (2,01)
Medijan	-2,6
Min, maks	-5,8, 3,1

5 Longitudinalna promjena korikalna volumena iznosi -1 % godišnje u zdrave djece dobi 4 – 12 godina, ali -12,5 % svake godine u neliječenih bolesnika s CLN2. Tijekom liječenja s rhTPP1 volumen cerebrospinalne tekućine sive tvari i bijele tvari ostao je relativno konstantan, umanjujući 89 % gubitak kortikalnoga volumena izazvan bolešću.

10 *Nuspojave.* Jedan se bolesnik povukao iz studije zbog nesposobnosti pridržavanja protokola. Preostala 23 bolesnika ostala su u ispitivanju i podnosila ICV terapiju rhTPP1 pripremom. Nije bilo smrtnih ishoda, povlačenja iz postupka zbog terapije niti prekida ispitivanja zbog škodljivosti. Zbog minimalnoga utjecaja implantacije naprave za davanje lijeka, svi su bolesnici lijek dobili tjedan dana nakon kirurškog zahvata. Od ukupno 325 infuzija, samo 5 (1,5 %) prekinuto je iz bilo kojega razloga, sa samo 2 (0,6 %) od toga zbog nuspojava. Najčešće nuspojave koje nisu bile povezane s CLN2 opažene u ispitivanju bile su pireksija, hipersenzitivnost i infekcije gornjih dišnih putova (svaka u 25 % ukupna broja bolesnika). Općenito, ovi su incidenti bili blagi, samoograničeni i izliječeni. Epizode hipersenzitivnosti što ih je definirao ispitivač bile su povezane s nekoliko perifernih manifestacija. One su izliječene kombinacijom antipiretika, antihistaminika i/ili steroida. Laboratorijski podaci pokazali su da nema klinički važnih promjena u perifernim vrijednostima. U cerebrospinalnoj tekućini u nekoliko se bolesnika pojavila blaga, prolazna pleocitoza bez ikakvih promjena u količini glukoze ili proteina u CSF. Kao sažetak, procjena parametara neškodljivosti pokazala je kako su liječenje prijavljenim pripravkom rh TPP1 ICV infuzijom svi bolesnici podnosili.

Zaključak

25 Kliničko ispitivanje pokazalo je kako svaki bolesnik izložen terapiji dulje od 36 tjedana imao znakovitu kliničku učinkovitost, koju je karakteriziralo potpuno zaustavljanje progresije CLN2, što je bio maksimalan terapijski benefit jer se uspostava funkcija nije bila očekivana u tom vremenskom okviru u bolesnika s umjerenom progresijom i aktivnom degeneracijom.

30 Ovaj je nalaz bio još uvjerljiviji kad su bolesnici pridruženi (uspoređivani) s članovima skupine bolesnika s prirodnim tijekom bolesti na temelju mnogih parametara uključujući početnu ocjenu bolesti, dob i genotip. Ovo pridruživanje otkrilo je kako se u istom razdoblju nakon terapije pripravkom rhTPP1 u liječenih ispitanika zaustavilo napredovanje bolesti, a pridruženi neliječeni bolesnici s prirodnim tijekom bolesti ispoljili su bitan gubitak funkcija. U svih se liječenih bolesnika pokazalo, dakle, zaustavljanje napredovanja bolesti nasuprot aktivna napredovanja bolesti u pridruženih neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti. Medijan stope pogoršanja u neliječenih bolesnika s prirodnim tijekom bolesti procijenjen je na 2,1 bod godišnje na osnovi svih dostupnih podataka o prirodnom tijeku, gdje svaki bod pogoršanja predstavlja znakovit gubitak bitnih ključnih točaka u fiziološkim funkcijama. Za većinu bolesnika uključene u ispitivanje i očuvanje 2 boda znači trajnu neovisnu pokretljivost i smislenu komunikaciju.

40 U svemu, rezultati su pokazali kako pripravak rhTPP1 i metoda liječenja u ovom otkriću imaju prihvatljiv profil neškodljivosti i podnošljivosti. Niti jedan ispitanik nije prekinuo ispitivanje ili terapiju zbog nuspojave. Jedan se ispitanik povukao iz studije nakon jedne doze terapije zbog nemogućnosti da se pridržava protokola. Analiza PK i imunogeničnost otkrili su veliku dostavu u središnji živčani sustav i izostanak stvaranja protutijela u CSF.

45 Gornji Primjeri pokazuju kako su pripravci i metode koji uključuju rhTPP1 ovdje opisani djelotvorni u sprječavanju ili liječenju CLN2 bolesti i /ili jednoga ili više kliničkih simptoma te bolesti. U bolesti čiji klinički tijek karakterizira brzo, neumoljivo i ireverzibilno neurodegenerativno napredovanje bolesti, zaustavljanje napredovanja bolesti, osobito u svakoga liječenog bolesnika velika je i neočekivana klinička korist.

50 Sve publikacije, patenti i prijave patenata navedeni u ovoj specifikaciji uključeni su navođenjem kao da se svaka pojedinačna publikacija ili prijava patenta izričito i pojedinačno zahtjeva. Iako je navedeni izum opisan prilično detaljno ilustracijom i primjerom radi jasnoće i razumijevanja, onima s prosječnim poznavanjem struke bit će odmah jasno u svjetlu zahtjeva iz ove prijave da će možda biti potrebne određene promjene i modifikacije a da se time ne udaljuje od duha ili područja priloženih zahtjeva.

POPIS SEKVENCI

<110> BIOMARIN PHARMACEUTICAL INC.
Lester, et al.

FORMULACIJE TPP1 I POSTUPCI LIJEČENJA BOLESTI CLN2

<120>

<130> 30610/49443/PC

5 <160> 2

<170> PatentIn verzija 3.5

<210> 1

10 <211> 544
<212> PRT
<213> Ljudski

<400> 1

15 Ser Tyr Ser Pro Glu Pro Asp Gln Arg Arg Thr Leu Pro Pro Gly Trp
1 5 10 15

20 Val Ser Leu Gly Arg Ala Asp Pro Glu Glu Glu Leu Ser Leu Thr Phe
20 25 30

Ala Leu Arg Gln Gln Asn Val Glu Arg Leu Ser Glu Leu Val Gln Ala
25 35 40 45

Val Ser Asp Pro Ser Ser Pro Gln Tyr Gly Lys Tyr Leu Thr Leu Glu
30 50 55 60

Asn Val Ala Asp Leu Val Arg Pro Ser Pro Leu Thr Leu His Thr Val
35 65 70 75 80

Gln Lys Trp Leu Leu Ala Ala Gly Ala Gln Lys Cys His Ser Val Ile
85 90 95

40 Thr Gln Asp Phe Leu Thr Cys Trp Leu Ser Ile Arg Gln Ala Glu Leu
100 105 110

Leu Leu Pro Gly Ala Glu Phe His His Tyr Val Gly Gly Pro Thr Glu
45 115 120 125

Thr His Val Val Arg Ser Pro His Pro Tyr Gln Leu Pro Gln Ala Leu
50 130 135 140

Ala Pro His Val Asp Phe Val Gly Gly Leu His Arg Phe Pro Pro Thr
145 150 155 160

HR P20171905 A2

	Ser Ser Leu Arg Gln Arg Pro Glu Pro Gln Val Thr Gly Thr Val Gly		
	165	170	175
5	Leu His Leu Gly Val Thr Pro Ser Val Ile Arg Lys Arg Tyr Asn Leu		
	180	185	190
10	Thr Ser Gln Asp Val Gly Ser Gly Thr Ser Asn Asn Ser Gln Ala Cys		
	195	200	205
15	Ala Gln Phe Leu Glu Gln Tyr Phe His Asp Ser Asp Leu Ala Gln Phe		
	210	215	220
20	Met Arg Leu Phe Gly Gly Asn Phe Ala His Gln Ala Ser Val Ala Arg		
	225	230	235
			240
25	Val Val Gly Gln Gln Gly Arg Gly Arg Ala Gly Ile Glu Ala Ser Leu		
	245	250	255
30	Asp Val Gln Tyr Leu Met Ser Ala Gly Ala Asn Ile Ser Thr Trp Val		
	260	265	270
35	Tyr Ser Ser Pro Gly Arg His Glu Gly Gln Glu Pro Phe Leu Gln Trp		
	275	280	285
40	Leu Met Leu Leu Ser Asn Glu Ser Ala Leu Pro His Val His Thr Val		
	290	295	300
45	Ser Tyr Gly Asp Asp Glu Asp Ser Leu Ser Ser Ala Tyr Ile Gln Arg		
	305	310	315
			320
50	Val Asn Thr Glu Leu Met Lys Ala Ala Ala Arg Gly Leu Thr Leu Leu		
	325	330	335
55	Phe Ala Ser Gly Asp Ser Gly Ala Gly Cys Trp Ser Val Ser Gly Arg		
	340	345	350
60	His Gln Phe Arg Pro Thr Phe Pro Ala Ser Ser Pro Tyr Val Thr Thr		
	355	360	365
65	Val Gly Gly Thr Ser Phe Gln Glu Pro Phe Leu Ile Thr Asn Glu Ile		
	370	375	380
70	Val Asp Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Phe Ser Asn Val Phe Pro Arg Pro		
	385	390	395
			400

HR P20171905 A2

Ser Tyr Gln Glu Glu Ala Val Thr Lys Phe Leu Ser Ser Ser Pro His
 405 410 415

5 Leu Pro Pro Ser Ser Tyr Phe Asn Ala Ser Gly Arg Ala Tyr Pro Asp
 420 425 430

10 Val Ala Ala Leu Ser Asp Gly Tyr Trp Val Val Ser Asn Arg Val Pro
 435 440 445

15 Ile Pro Trp Val Ser Gly Thr Ser Ala Ser Thr Pro Val Phe Gly Gly
 450 455 460

Ile Leu Ser Leu Ile Asn Glu His Arg Ile Leu Ser Gly Arg Pro Pro
 465 470 475 480

20 Leu Gly Phe Leu Asn Pro Arg Leu Tyr Gln Gln His Gly Ala Gly Leu
 485 490 495

25 Phe Asp Val Thr Arg Gly Cys His Glu Ser Cys Leu Asp Glu Glu Val
 500 505 510

30 Glu Gly Gln Gly Phe Cys Ser Gly Pro Gly Trp Asp Pro Val Thr Gly
 515 520 525

35 Trp Gly Thr Pro Asn Phe Pro Ala Leu Leu Lys Thr Leu Leu Asn Pro
 530 535 540

40

<210> 2
 <211> 368
 <212> PRT
 45 <213> Ljudski

<400> 2

50 Leu His Leu Gly Val Thr Pro Ser Val Ile Arg Lys Arg Tyr Asn Leu
 1 5 10 15

55 Thr Ser Gln Asp Val Gly Ser Gly Thr Ser Asn Asn Ser Gln Ala Cys
 20 25 30

60 Ala Gln Phe Leu Glu Gln Tyr Phe His Asp Ser Asp Leu Ala Gln Phe
 35 40 45

HR P20171905 A2

Met Arg Leu Phe Gly Gly Asn Phe Ala His Gln Ala Ser Val Ala Arg
50 55 60

5 Val Val Gly Gln Gln Gly Arg Gly Arg Ala Gly Ile Glu Ala Ser Leu
65 70 75 80

10 Asp Val Gln Tyr Leu Met Ser Ala Gly Ala Asn Ile Ser Thr Trp Val
85 90 95

15 Tyr Ser Ser Pro Gly Arg His Glu Gly Gln Glu Pro Phe Leu Gln Trp
100 105 110

20 Leu Met Leu Leu Ser Asn Glu Ser Ala Leu Pro His Val His Thr Val
115 120 125

25 Ser Tyr Gly Asp Asp Glu Asp Ser Leu Ser Ser Ala Tyr Ile Gln Arg
130 135 140

30 Val Asn Thr Glu Leu Met Lys Ala Ala Ala Arg Gly Leu Thr Leu Leu
145 150 155 160

35 Phe Ala Ser Gly Asp Ser Gly Ala Gly Cys Trp Ser Val Ser Gly Arg
165 170 175

40 His Gln Phe Arg Pro Thr Phe Pro Ala Ser Ser Pro Tyr Val Thr Thr
180 185 190

45 Val Gly Gly Thr Ser Phe Gln Glu Pro Phe Leu Ile Thr Asn Glu Ile
195 200 205

50 Val Asp Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Phe Ser Asn Val Phe Pro Arg Pro
210 215 220

55 Ser Tyr Gln Glu Glu Ala Val Thr Lys Phe Leu Ser Ser Ser Pro His
225 230 235 240

60 Leu Pro Pro Ser Ser Tyr Phe Asn Ala Ser Gly Arg Ala Tyr Pro Asp
245 250 255

65 Val Ala Ala Leu Ser Asp Gly Tyr Trp Val Val Ser Asn Arg Val Pro
260 265 270

70 Ile Pro Trp Val Ser Gly Thr Ser Ala Ser Thr Pro Val Phe Gly Gly
275 280 285

Ile Leu Ser Leu Ile Asn Glu His Arg Ile Leu Ser Gly Arg Pro Pro

HR P20171905 A2

290
295
300

5 Leu Gly Phe Leu Asn Pro Arg Leu Tyr Gln Gln His Gly Ala Gly Leu
305 310 315 320

10 Phe Asp Val Thr Arg Gly Cys His Glu Ser Cys Leu Asp Glu Glu Val
325 330 335

15 Glu Gly Gln Gly Phe Cys Ser Gly Pro Gly Trp Asp Pro Val Thr Gly
340 345 350

Trp Gly Thr Pro Asn Phe Pro Ala Leu Leu Lys Thr Leu Leu Asn Pro
355 360 365

PATENTNI ZAHTJEVI

- 5 1. Pripravak koji sadržava rekombinantnu humanu tripeptidil peptidazu-1 (rhTPP1), **naznačen time da** je za intracerebroventrikularnu, intratekalnu ili intraokularnu primjenu.
2. Pripravak prema zahtjevu 1, **naznačen time da** rhTPP1 sadrži sekvenciju aminokiselina SEQ ID NO: 1 ili jedan njezin fragment.
3. Pripravak prema zahtjevu 1 ili 2, **naznačen time da** pripravak sadržava rhTPP1 u koncentraciji od oko 25 mg/mL do oko 35 mg/mL.
- 10 4. Pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-3, **naznačen time da** pripravak ima pH oko 6,5.
5. Pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-4, **naznačen time da** nadalje sadržava kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, i kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL.
- 15 6. Pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-5, **naznačen time da** nadalje sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL i natrijev klorid u koncentraciji od oko 1 mg/mL do oko 20 mg/mL.
- 20 7. Pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-6, **naznačen time da** sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL i kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL.
8. Pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-7, **naznačen time da** je pripravak bez konzervansa.
- 25 9. Pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-8, **naznačen time da** je pripravak stabilan na oko 5 °C barem 6 mjeseci.
10. Postupak za liječenje neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2 bolesti), **naznačen time da** sadrži davanje pripravka prema bilo kojem od zahtjeva 1-9 onome kome je potreban.
11. Smjesa, **naznačena time da** sadrži pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-9 za primjenu u liječenju neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
- 30 12. Primjena pripravka prema bilo kojem od zahtjeva 1-9, **naznačena time da** je za dobivanje lijeka za liječenje neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
13. Postupak za liječenje neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koji obuhvaća davanje oko 10 mL smjese koja sadržava dozu od oko 300 mg rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna, **naznačen time da** se smjesa daje otprilike 4 sata.
- 35 14. Postupak liječenja neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koji obuhvaća davanje rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna u dozi od oko 300 mg, **naznačen time da** se doza daje brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/sat.
15. Postupak liječenja neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koji obuhvaća davanje rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna u dozi od oko 300 mg, **naznačen time da** se doza daje brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/2,5 mL/sat.
- 40 16. Postupak prevencije simptoma neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koji obuhvaća davanje oko 10 mL smjese koja sadržava dozu od otprilike 300 mg rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna, **naznačen time da** se smjesa daje osobi u trajanju od oko 4 sata.
17. Postupak sprječavanja simptoma neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koji obuhvaća davanje rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna u dozi od oko 300 mg, **naznačen time da** se doza osobi daje brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/sat.
- 45 18. Postupak sprječavanja simptoma neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koji obuhvaća davanje rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna u dozi od oko 300 mg, **naznačen time da** se doza osobi daje brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/2,5 mL/sat.
- 50 19. Smjesa koja sadrži rekombinantnu humanu tripeptidil peptidazu-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za primjenu u liječenju neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) ili sprječavanju simptoma CLN2 u bolesnika koja sadržava:
 - i. oko 10 mL smjese koja sadržava dozu od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se doza mora dati bolesniku tijekom razdoblja od oko 4 sata; ili
 - ii. doza od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se doza mora dati bolesniku brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/sat; ili
 - 55 iii. doza od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se doza mora dati bolesniku brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/2,5 mL/sat.
20. Primjena rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za pripremu lijeka za liječenje neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) ili sprječavanje simptoma CLN2 u bolesnika pri čemu lijek sadržava:
 - i. oko 10 mL smjese koja sadržava dozu od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se doza mora dati bolesniku tijekom razdoblja od oko 4 sata; ili
 - 60

- ii. dozu od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se doza mora osobi dati brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/sat; ili
 - iii. dozu od oko 300 mg rhTPP1, pri čemu se doza mora osobi dati brzinom manjom od ili jednakom 75 mg/2,5 mL/sat.
21. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-20, **naznačen time da** osoba ima bolest CLN2 prirodna tijeka.
 22. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-21, **naznačen time da** rhTPP1 sadržava sekvenciju aminokiselina SEQ ID NO: 1 ili fragment te sekvencije.
 23. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-22, **naznačen time da** se pripravak, smjesa ili doza daje svaki drugi tjedan.
 24. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-23, **naznačen time da** se pripravak, smjesa ili doza daje intracerebroventrikularno.
 25. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-23, **naznačen time da** se pripravak, smjesa ili doza daje intratekhalno.
 26. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-23, **naznačen time da** se pripravak, smjesa ili doza daje intraokularno.
 27. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-23, **naznačen time da** se pripravak, smjesa ili doza daje intracerebroventrikularno ili intraokularno.
 28. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-23, **naznačen time da** se pripravak, smjesa ili doza daje intratekhalno ili intraokularno.
 29. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-28, **naznačen time da** još obuhvaćaju davanje otopine za ispiranje bolesniku nakon davanja pripravka, smjese ili doze što sadržavaju rhTPP1.
 30. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema zahtjevu 29, **naznačen time da** obuhvaćaju davanje bolesniku oko 0,5 mL do oko 5 mL otopine za ispiranje.
 31. Postupak, smjesa za davanje, ili primjena prema zahtjevu 29 ili 30, **naznačen time da** otopina za ispiranje sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL te kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL.
 32. Postupak liječenja neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), **naznačen time da** obuhvaća davanje rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna u dozi rhTPP1 djelotvornoj da održi koju fiziološku funkciju ili uspori ili reducira pogoršanje fiziološke funkcije u bolesnika, pri čemu je fiziološka funkcija jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja.
 33. Smjesa koja sadržava rekombinantnu humanu tripeptidil peptidazu-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za primjenu u liječenju neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koja sadržava dozu rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) djelotvornu da održi koju fiziološku funkciju ili uspori ili reducira pogoršanje fiziološke funkcije u bolesnika, pri čemu je fiziološka funkcija jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja.
 34. Upotreba rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je izradu lijeka za liječenje neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) u bolesnika, pri čemu lijek sadržava dozu rhTPP1 djelotvornu da održi koju fiziološku funkciju ili uspori ili reducira pogoršanje fiziološke funkcije u bolesnika, pri čemu je fiziološka funkcija jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja.
 35. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-34, **naznačen time da** je doza djelotvorna da očuva jezičnu funkciju ili uspori ili reducira pogoršanje jezične funkcije u bolesnika.
 36. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-35, **naznačen time da** je doza djelotvorna da očuva motoričku funkciju ili uspori ili reducira pogoršanje motoričke funkcije u bolesnika.
 37. Postupak za održavanje jezične funkcije ili za usporavanje ili reduciranje pogoršanja jezične funkcije u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), **naznačen time da** obuhvaća davanje terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1).
 38. Postupak za održavanje motoričke funkcije ili za usporavanje ili reduciranje pogoršanja motoričke funkcije u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), **naznačen time da** obuhvaća davanje terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1).
 39. Smjesa **naznačena time da** sadržava terapijski djelotvornu dozu rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) za primjenu u:
 - i. održavanju jezične funkcije ili u usporavanju ili reduciranju pogoršanja jezične funkcije u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2); ili
 - ii. održavanju motoričke funkcije ili u usporavanju ili reduciranju pogoršanja motoričke funkcije u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
 40. Primjena terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za dobivanje lijeka za:
 - i. održavanje jezične funkcije ili za usporavanje ili reduciranje pogoršanja jezične funkcije u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2); ili
 - ii. održavanje motoričke funkcije ili za usporavanje ili reduciranje pogoršanja motoričke funkcije u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).

41. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-40, **naznačen time da** je pogoršanje jezične funkcije ili motoričke funkcije redukcija za barem jedan bod u usporedbi s prethodnim ocjenjivanjem provedenim prije ili tijekom liječenja mjereno ljestvicama za procjenu bolesti Weill Cornell Medical College ili hamburškom.
- 5 42. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-41, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna za održanje vida ili usporavanje ili redukciju pogoršanja vida u bolesnika.
43. Postupak održanja vida ili usporavanja ili redukcije pogoršanja vida kod oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), **naznačen time da** obuhvaća davanje bolesniku terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1).
- 10 44. Smjesa **naznačena time da** sadrži terapijski djelotvornu dozu rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) za primjenu u održavanju vida ili usporavanju ili reduciranju pogoršanja vida u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
45. Primjena terapijski djelotvorne količine rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za proizvodnju lijeka za održanje vida ili usporavanje ili reduciranje pogoršanja vida u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
- 15 46. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 42-45, **naznačen time da** je pogoršanje vida smanjenje za barem jedan bod u usporedbi s početnim pri primjeni hamburške ljestvice za procjenu bolesti.
47. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-46, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da održi funkciju hranjenja ili uspori ili reducira pogoršanje funkcije hranjenja u bolesnika.
- 20 48. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema zahtjevu 47, **naznačen time da** je pogoršanje funkcije hranjenja sniženje za barem jedan bod u usporedbi s početnim rezultatom, mjereno Weill Cornell Medical College ljestvicom za procjenu bolesti.
49. Postupak liječenja neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), **naznačen time da** obuhvaća davanje rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) onome kome je potrebna u dozi djelotvornoj da poboljša fiziološku funkciju u osobe, pri čemu je fiziološka funkcija jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja.
- 25 50. Smjesa koja sadržava rekombinantnu humanu tripeptidil peptidazu-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za primjenu u liječenju neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), a koja sadržava dozu rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) djelotvornu da poboljša fiziološku funkciju u bolesnika, pri čemu je fiziološka funkcija jezična funkcija, motorička funkcija, vid ili funkcija hranjenja.
- 30 51. Uporaba rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za pripremanje lijeka za liječenje neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) pri čemu lijek sadržava dozu rhTPP1 koja je djelotvorna da poboljša jezičnu funkciju, motoričku funkciju, vid ili funkciju hranjenja.
52. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 49-51, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna u omogućavanju poboljšanja jezične funkcije u oboljeloga.
- 35 53. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 49-52, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da omogući poboljšanje motoričke funkcije u oboljeloga.
54. Postupak poboljšanja jezične funkcije i/ili motoričke funkcije kod oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) **naznačen time da** obuhvaća davanje terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1).
- 40 55. Smjesa koja sadržava terapijski djelotvornu dozu rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za primjenu u poboljšanju jezične funkcije i / ili motoričke funkcije u osobe oboljele od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
56. Primjena terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za proizvodnju lijeka za poboljšanje jezične funkcije i / ili motoričke funkcije u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
- 45 57. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 49-56, **naznačen time da** je poboljšanje jezične funkcije ili motorne funkcije povećanje jednako ili više od jednoga boda kad se mjeri Weill Cornell Medical College ili hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti.
- 50 58. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 49-57, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da osigura poboljšanje vida.
59. Postupak za poboljšanje vida kod oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), **naznačen time da** postupak obuhvaća davanje bolesniku terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1).
- 55 60. Smjesa koja sadržava terapijski djelotvornu dozu rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je primjenu u poboljšanju vida u osobe oboljele od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
61. Primjena terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za pripremu lijeka za poboljšanje vida kod oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
62. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema kojem od zahtjeva 58-61, **naznačen time da** je poboljšanje vida povećanje koje je jednako ili veće za jedan bod kada se mjeri hamburškom ljestvicom za procjenu bolesti.
- 60 63. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema kojem od zahtjeva 49-62, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da pruži poboljšanje funkcije hranjenja.

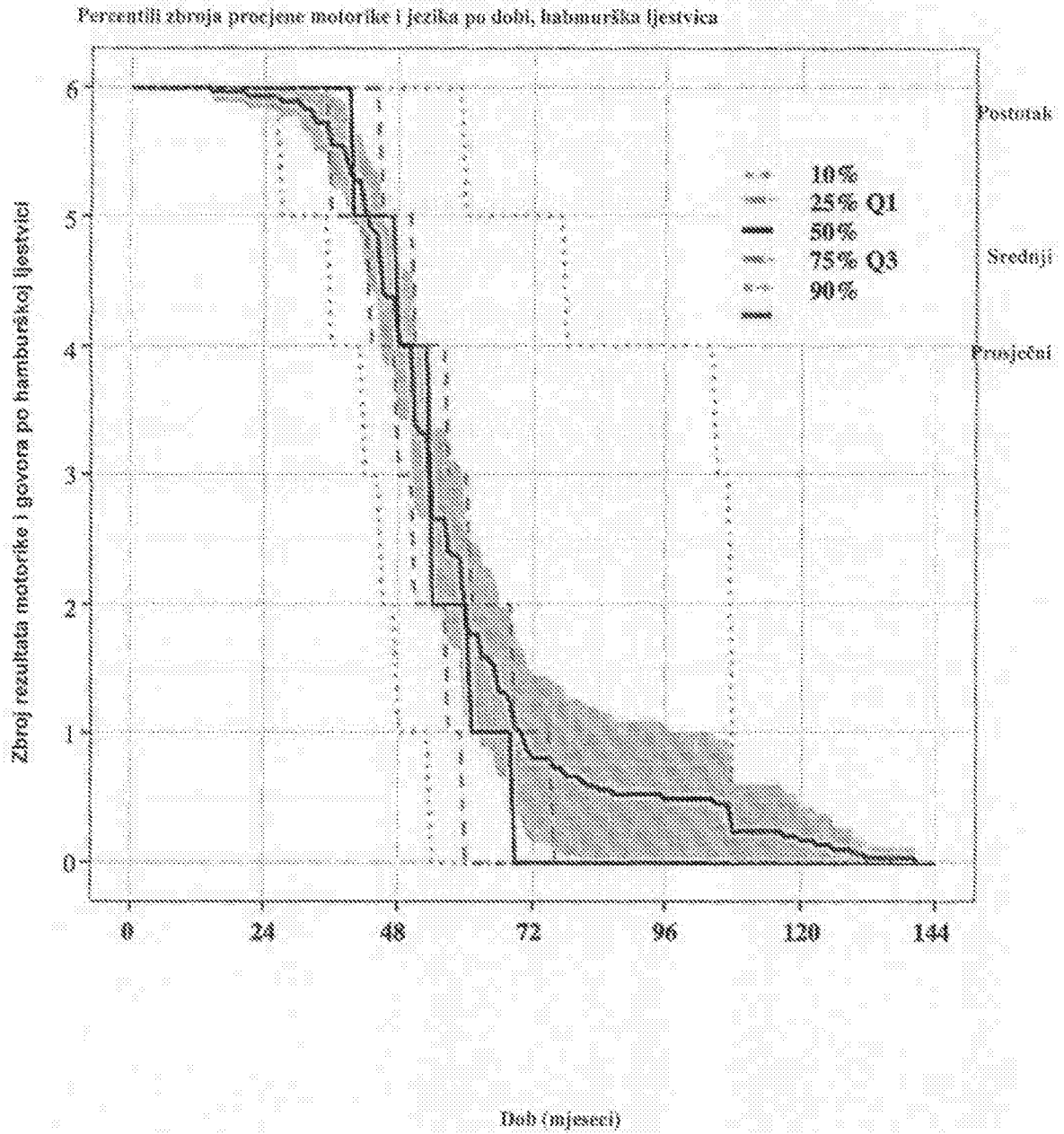
64. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema zahtjevu 63, **naznačen time da** je poboljšanje funkcije hranjenja povećanje koje je jednako ili veće za 1,0 kada se mjeri Weill Cornell Medical College ljestvicom za procjenu bolesti.
65. Postupak liječenja neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) koja obuhvaća davanje rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) osobi kojoj je potrebna u dozi koja djelotvorno sprječava ili poboljšava koji neurološki simptom bolesti, **naznačen time da** je neurološki simptom smanjenje moždana volumena, smanjenje sive tvari u mozgu, napadaj ili povećanje volumena kranijalne cerebrospinalne tekućine.
66. Smjesa koja sadržava rekombinantnu humanu tripeptidil peptidazu-1 (rhTPP1) za primjenu u liječenju neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2) u dozi rhTPP1 djelotvornoj da spriječi ili poboljša neurološki simptom bolesti, **naznačena time da** je neurološki simptom smanjenje moždanog volumena, smanjenje sive tvari u mozgu, napadaj ili porast kranijalne cerebrospinalne tekućine.
67. Primjena rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) za izradu lijeka za liječenje neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2), **naznačena time da** lijek sadržava dozu rhTPP1 djelotvornu da spriječi ili poboljša neurološki simptom bolesti, pri čemu je neurološki simptom smanjenje moždana volumena, smanjenje sive tvari u mozgu, napadaj ili porast kranijalne cerebrospinalne tekućine.
68. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 65-67, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da održi volumen mozga ili uspori i reducira smanjenje moždana volumena u bolesnika.
69. Postupak održavanja volumena mozga ili usporavanja ili reduciranja smanjenja volumena mozga u osobe s neuronalnom ceroidnom lipofuscinozom (CLN2), **naznačen time da** obuhvaća davanje terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1) bolesniku.
70. Smjesa koja sadržava terapijski djelotvornu dozu rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za primjenu u održavanju moždanog volumena ili u usporavanju ili reduciranju smanjenja moždana volumena u oboljeloga od neuronalne ceroidne lipofuscinoze (CLN2).
71. Primjena terapijski djelotvorne doze rekombinantne humane tripeptidil peptidaze-1 (rhTPP1), **naznačena time da** je za pripremu lijeka za održavanje volumena mozga ili usporavanje ili reduciranje smanjenja moždana volumena u bolesnika s neuronalnom ceroidnom lipofuscinozom (CLN2).
72. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 65-71, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da održi sivu tvar ili uspori i reducira pogoršanje sive tvari u mozgu oboljeloga.
73. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 65-72, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da kod bolesnika smanji mjesečni broj napadaja.
74. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 65-73, **naznačen time da** je doza rhTPP1 djelotvorna da kod bolesnika održi volumen kranijalne cerebrospinalne tekućine ili uspori povećanje volumena kranijalne cerebrospinalne tekućine.
75. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-74, **naznačen time da** rhTPP1 sadržava sekvenciju aminokiselina SEQ ID NO: 1 ili fragment te sekvencije.
76. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-75, **naznačen time da** je doza smjese koja sadržava oko 300 mg rhTPP1 oko 10 mL a daje se bolesniku u vremenu od 4 sata.
77. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-76, **naznačen time da** se doza rhTPP1 od 300 mg daje bolesniku brzinom manjom ili jednakom oko 75 mg/sat.
78. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-77, **naznačen time da** se doza rhTPP1 od 300 mg daje bolesniku brzinom manjom ili jednakom oko 75 mg/2,5 mL/sat.
79. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-78, **naznačen time da** se doza daje svaki drugi tjedan.
80. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-79, **naznačen time da** se doza daje intracerebroventrikularno.
81. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-79, **naznačen time da** se doza daje intratekalno.
82. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 80-81, **naznačen time da** se doza daje bez uklanjanja cerebrospinalne tekućine iz tijela bolesnika neposredno prije davanja doze rhTPP1.
83. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-79, **naznačen time da** se doza daje intraokularno.
84. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-79, **naznačen time da** se doza daje intracerebroventrikularno i intraokularno.
85. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-84, **naznačen time da** se doza daje u pripravku koji sadržava kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL i kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,1 mg/mL do oko 1 mg/mL.
86. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-85, **naznačen time da** se doza daje u pripravku koji sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,01 mg/mL do oko 1 mg/mL i natrijev klorid u koncentraciji od oko 1 mg/mL do oko 20 mg/mL.

87. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 10-86, **naznačen time da** se doza daje u pripravku koji sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL do oko 20 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL i kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL.
88. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema bilo kojem od zahtjeva 32-87, **naznačen time da** nadalje obuhvaća davanje bolesniku otopine za ispiranje nakon doze koja sadržava rhTPP1.
89. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema zahtjevu 88, **naznačen time da** obuhvaća davanje oko 0,5 mL do oko 5 mL otopine za ispiranje bolesniku.
90. Postupak, smjesa za primjenu ili primjena prema zahtjevu 88 ili 89, **naznačen time da** otopina za ispiranje sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL i kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL.
91. Pribor **naznačen time da** sadrži pripravak prema bilo kojem od zahtjeva 1-9 i otopinu za ispiranje.
92. Pribor prema zahtjevu 91, **naznačen time da** otopina za ispiranje sadržava natrijev fosfat dibazični heptahidrat u koncentraciji od oko 0,11 mg/mL, natrijev fosfat monobazični monohidrat u koncentraciji od oko 0,08 mg/mL, natrijev klorid u koncentraciji od oko 8,77 mg/mL, kalijev klorid u koncentraciji od oko 0,22 mg/mL, magnezijev klorid heksahidrat u koncentraciji od oko 0,16 mg/mL, i kalcijev klorid dihidrat u koncentraciji od oko 0,21 mg/mL.
93. Pribor prema zahtjevu 91 ili 92, **naznačen time da** nadalje sadržava rezervoar za implantaciju i kateter.
94. Pribor prema bilo kojem od zahtjeva 91-93, **naznačen time da** nadalje sadržava jedan ili više elemenata odabranih iz skupine koja se sastoji od produžne linije, in-line filtra, portne igle, šprice, igle za špricu i kombinacije navedenoga.

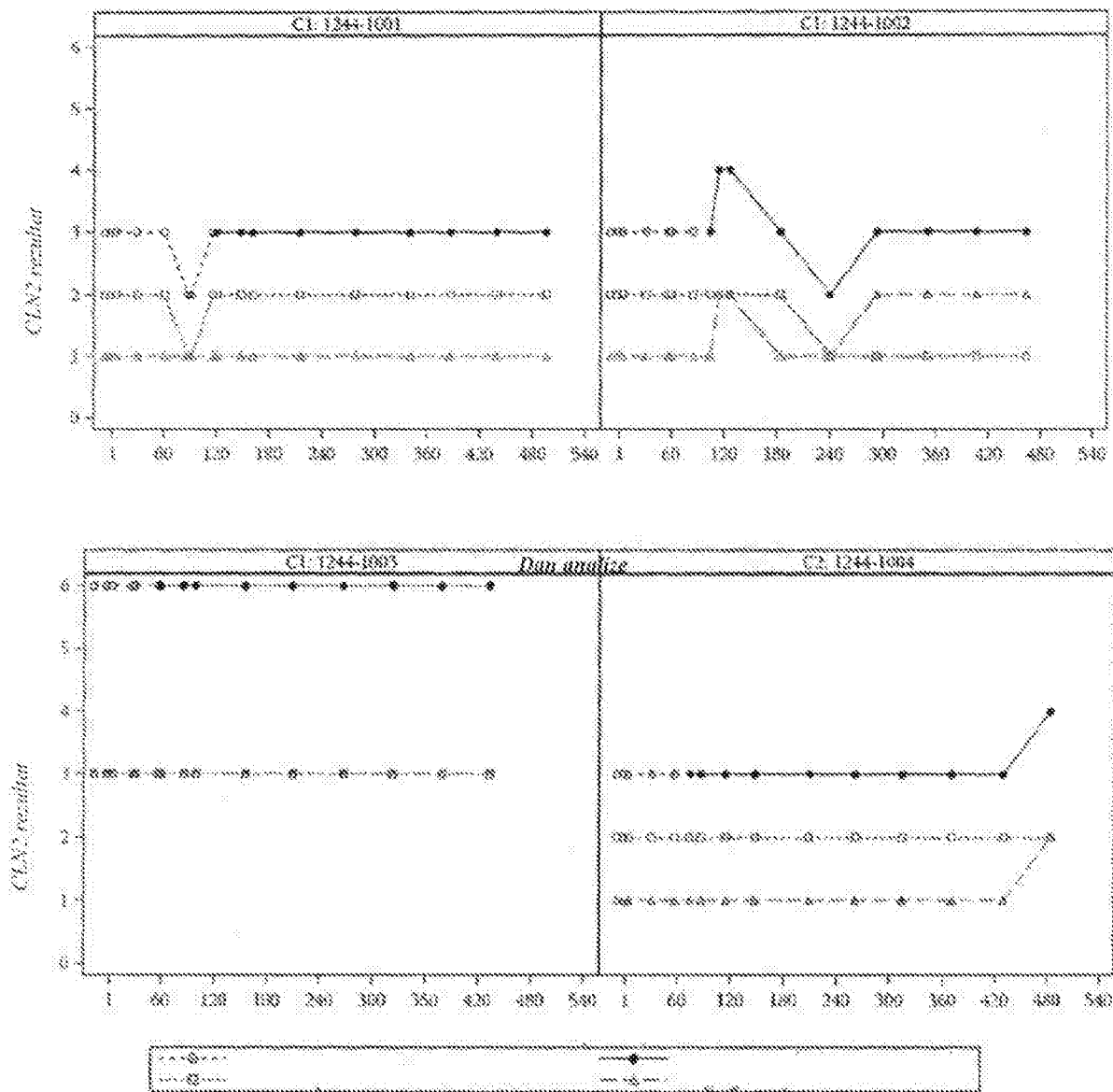
25

1 SYSPEPDQRR TLPPGWVSLG RADPEEELS L TFALRQCNVE RLSELVQAVS
 51 DPSSPQYGKY LTLENVADLV RPSPLTLHTV QKWLLAAGAQ KCHSVITQDF
 101 LTCWLSIRQA ELLLPGAEFH HYVGGPTETH VVRSPPHYQL PQALAPHVDF
 151 VGGLHRFPPT SSLRQRPEPQ VTGTVGLHLG VTPSVIRKRY NLTSQDVGSG
 201 TSNNSQACAQ FLEQYFHDS D LAQFMRLFGG NFAHQASVAR VVGQQGRGRA
 251 GIEASLDVQY LMSAGANIST WVYSSPGRHE GQEPFLQWLM LLSNESALPH
 301 VHTVSYGDDE DSLSSAYIQR VNTELMKAAA RGLTLLFASG DSGAGCWSVS
 351 GRHQFRPTFP ASSPYVTTVG GTSFQEPFLI TNEIVDYISG GGFSNVFPRP
 401 SYQEEAVTKF LSSSPHLPPS SYFNASGRAY PDVAALSDGY WVVSNRVPIF
 451 WVSGTSASTP VFGGILSLIN EHRILSGRPP LGFLNPRLYQ QHGAGLFDVT
 501 RGCHESCLDE EVEGQGFCSG PGWDPVTGWG TPNFPALLKT LLNP

SLIKA 1



SLIKA 2

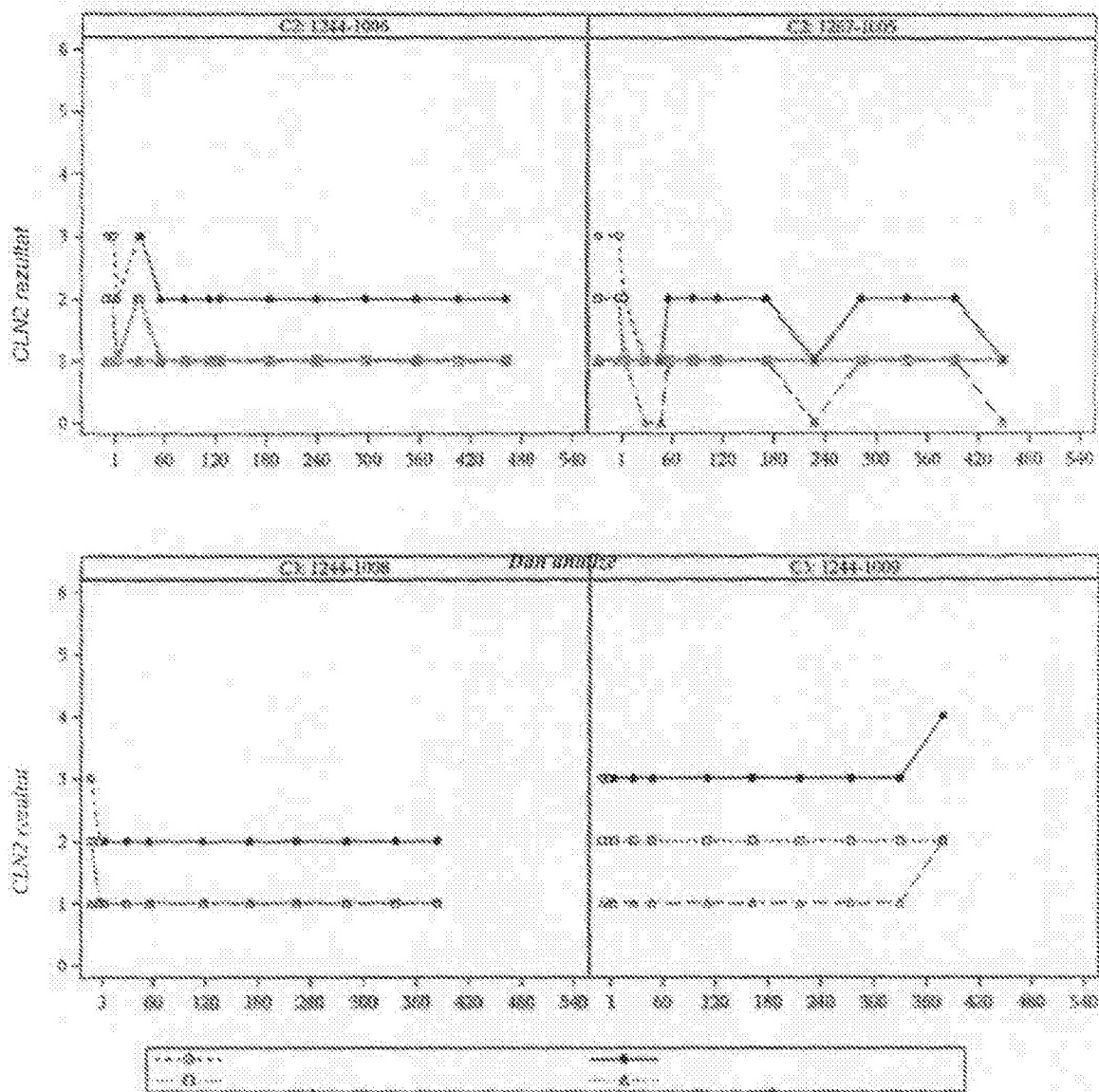


Dan analize

*CLN2 rezultat na ili prije 300 mg infuzije
Motorička komponenta*

*CLN2 rezultat poslije prve 300 mg
infuzije
Jezična komponenta*

SLIKA 3A

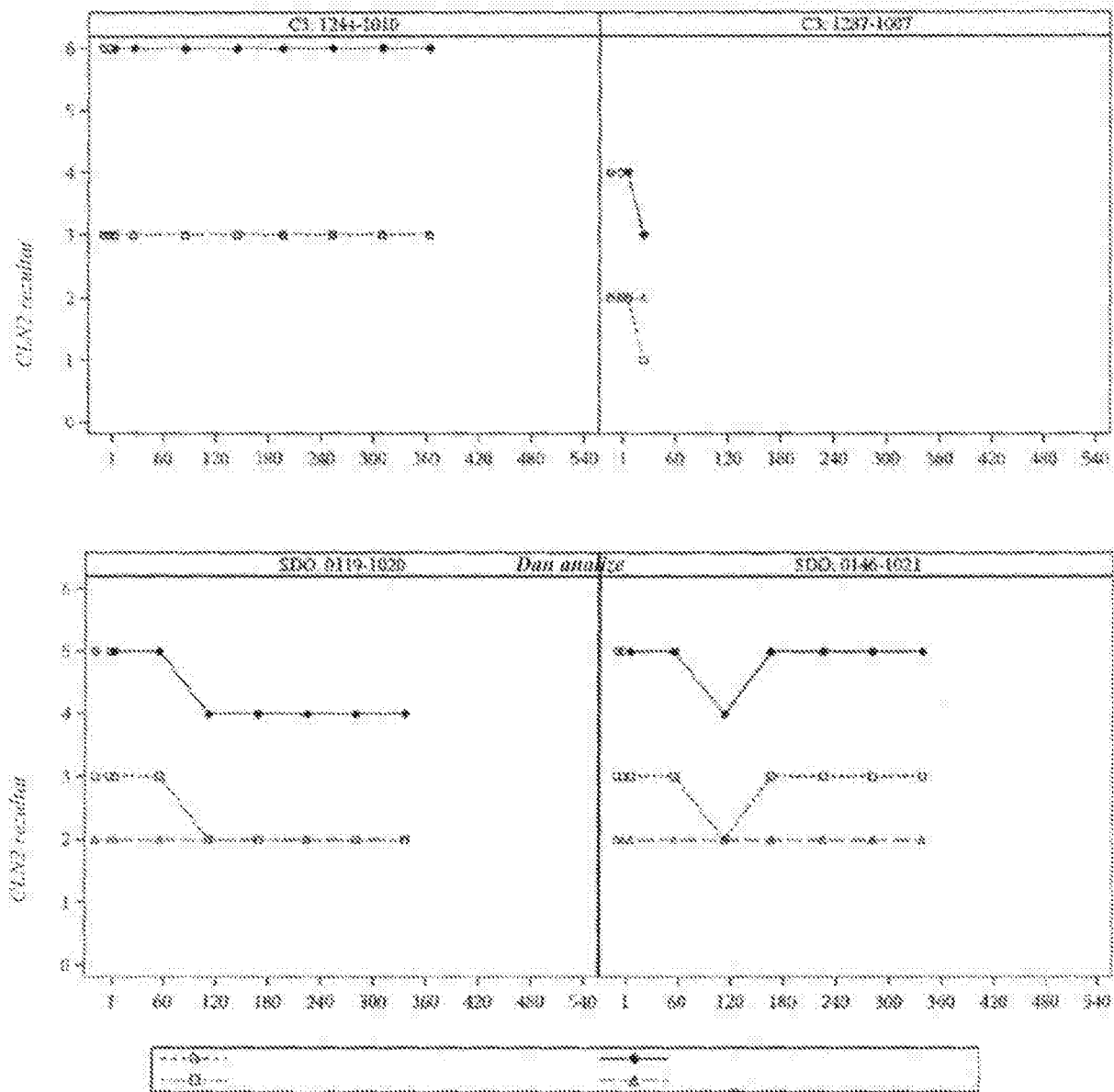


CLN2 rezultat na ili prije prve 300 mg infuzije
Matorička komponenta

Dan analize

CLN2 rezultat poslije prve 300 mg
infuzije
Jezična komponenta

SLIKA 3B

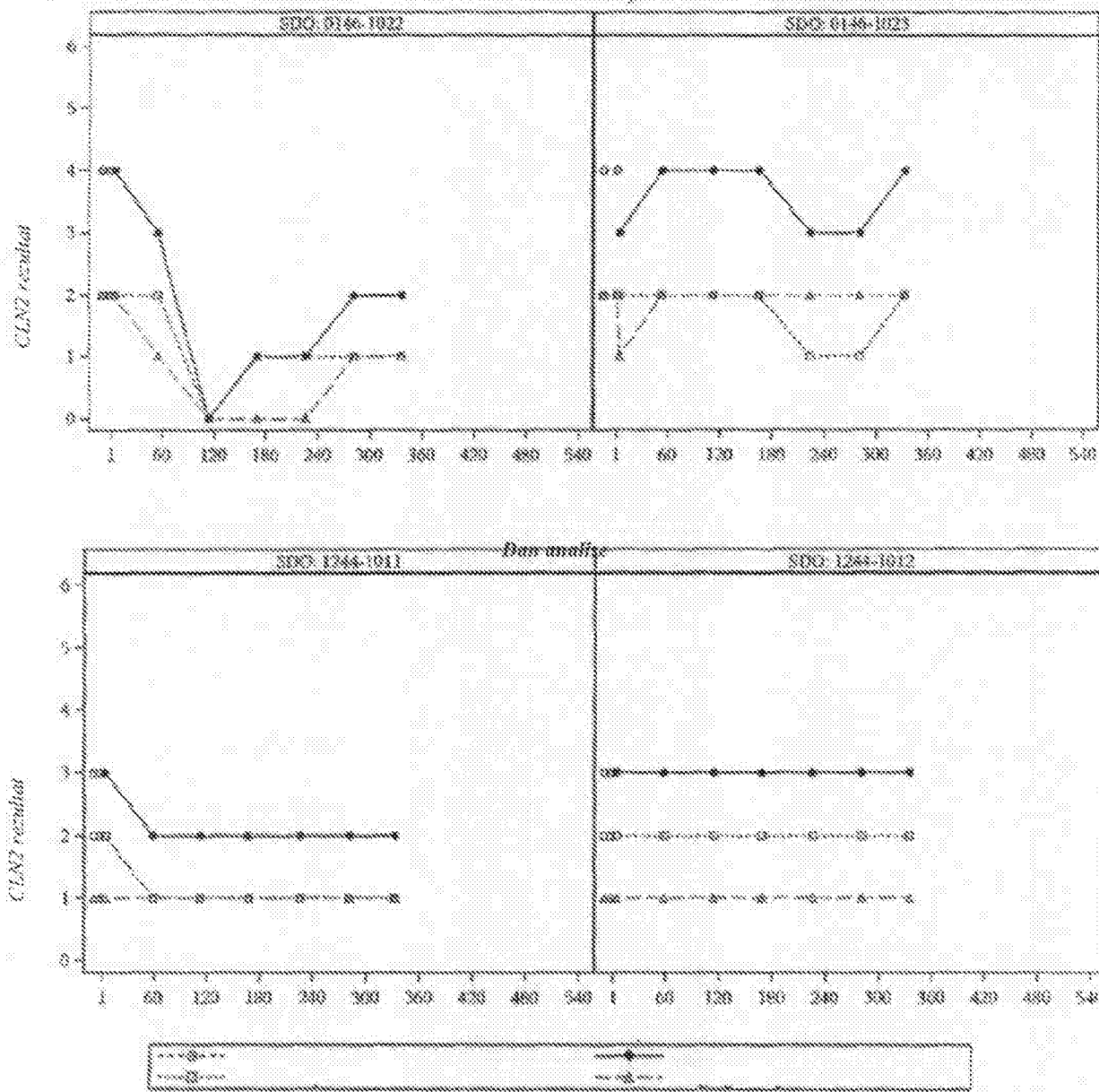


Dan analize

*CLN2 rezultat na ili prije prve 300 mg infuzije
Motorička komponenta*

*CLN2 rezultat poslije prve 300 mg
infuzije
Je:ćna komponenta*

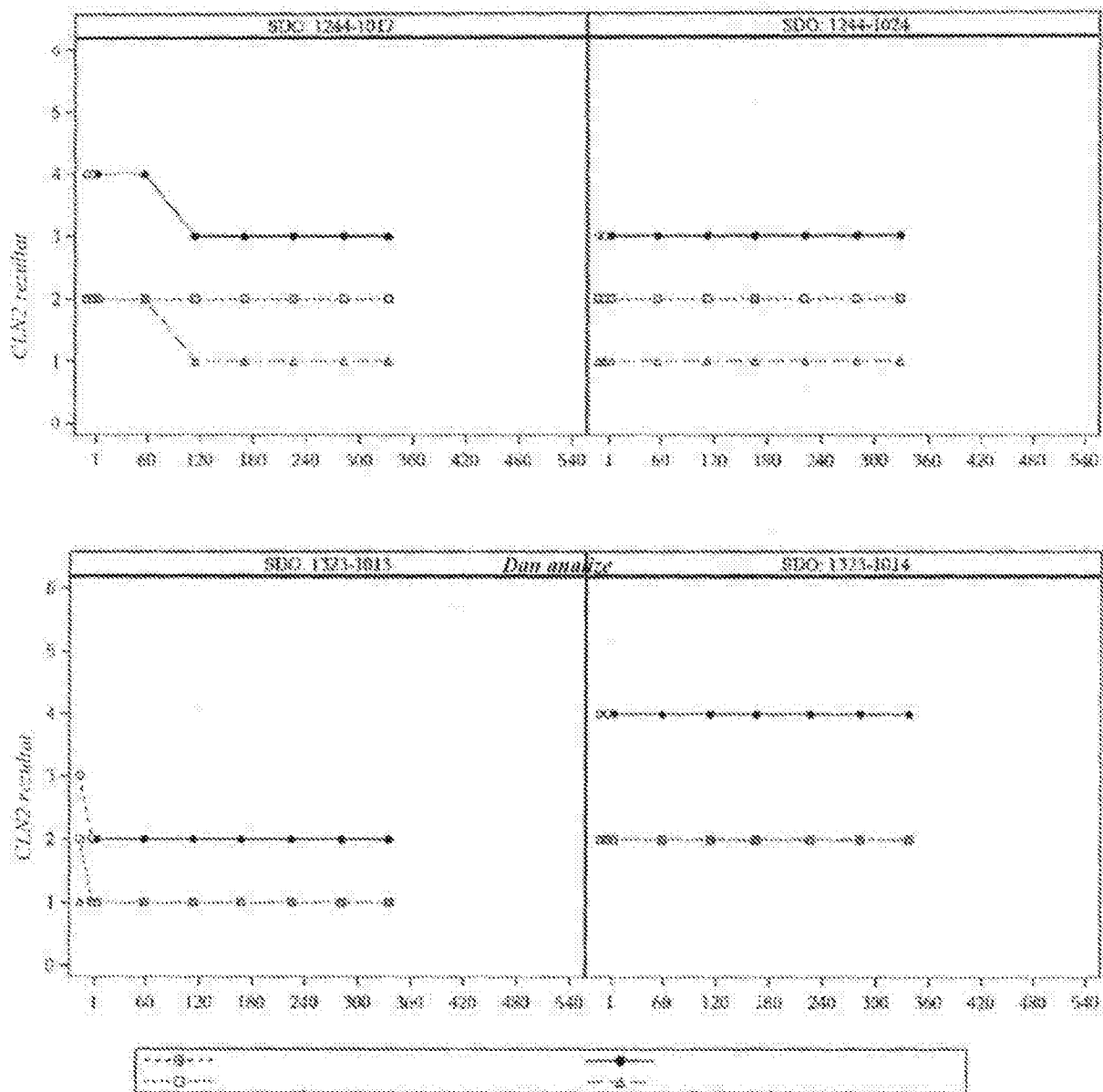
SLIKA 3C



CLN2 rezultat na ili prije prve 300mg infuzije
Motorička komponenta

CLN2 rezultat poslije prve 300 mg
infuzije
Jezična komponenta

SLIKA 3D

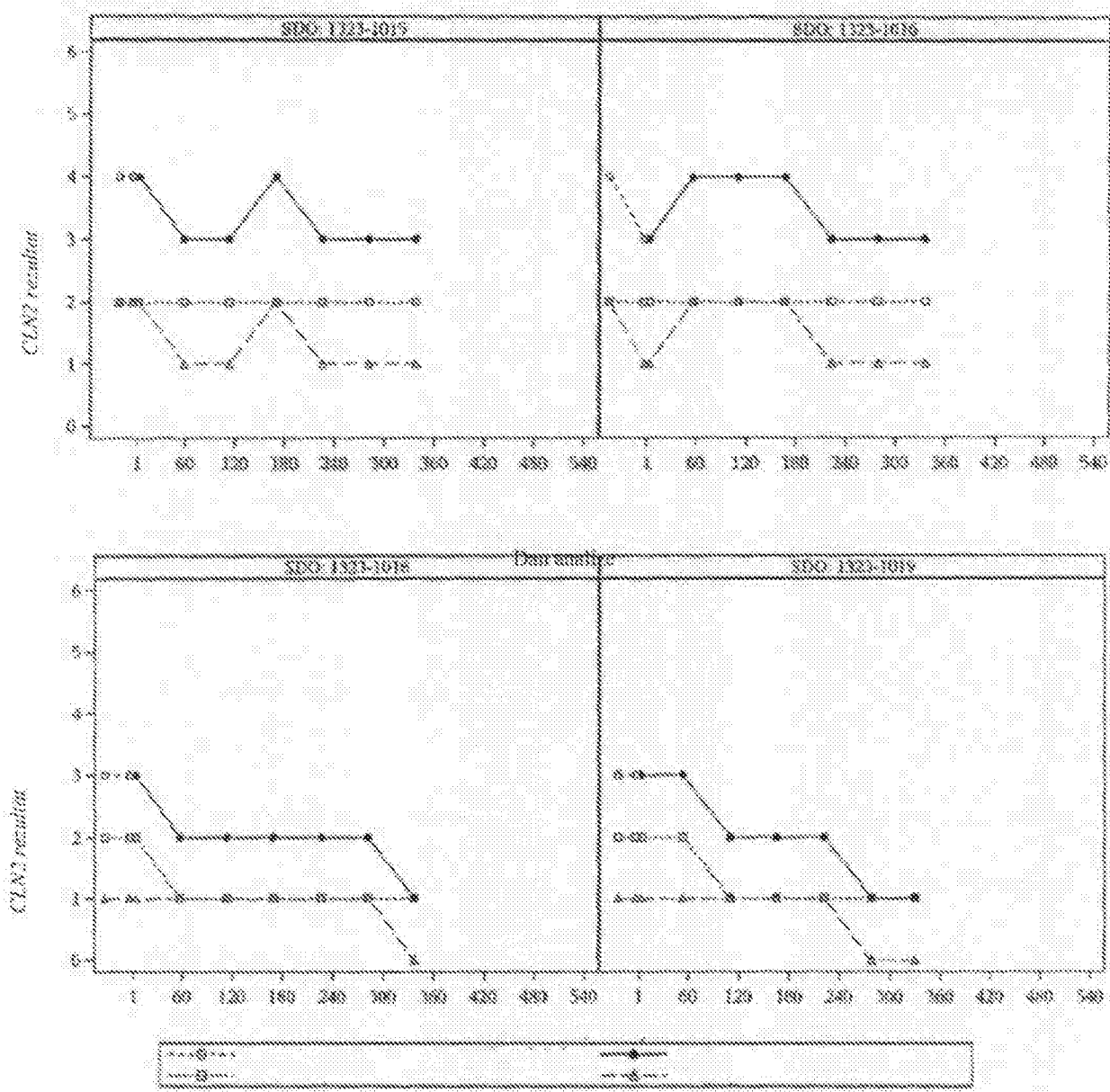


Dan analize

*CLN2 rezultat na ili prije prve 300 mg infuzije
Motorička komponenta*

*CLN2 rezultat poslije prve 300 mg
infuzije
Jakićne komponente*

SLIKA 3E



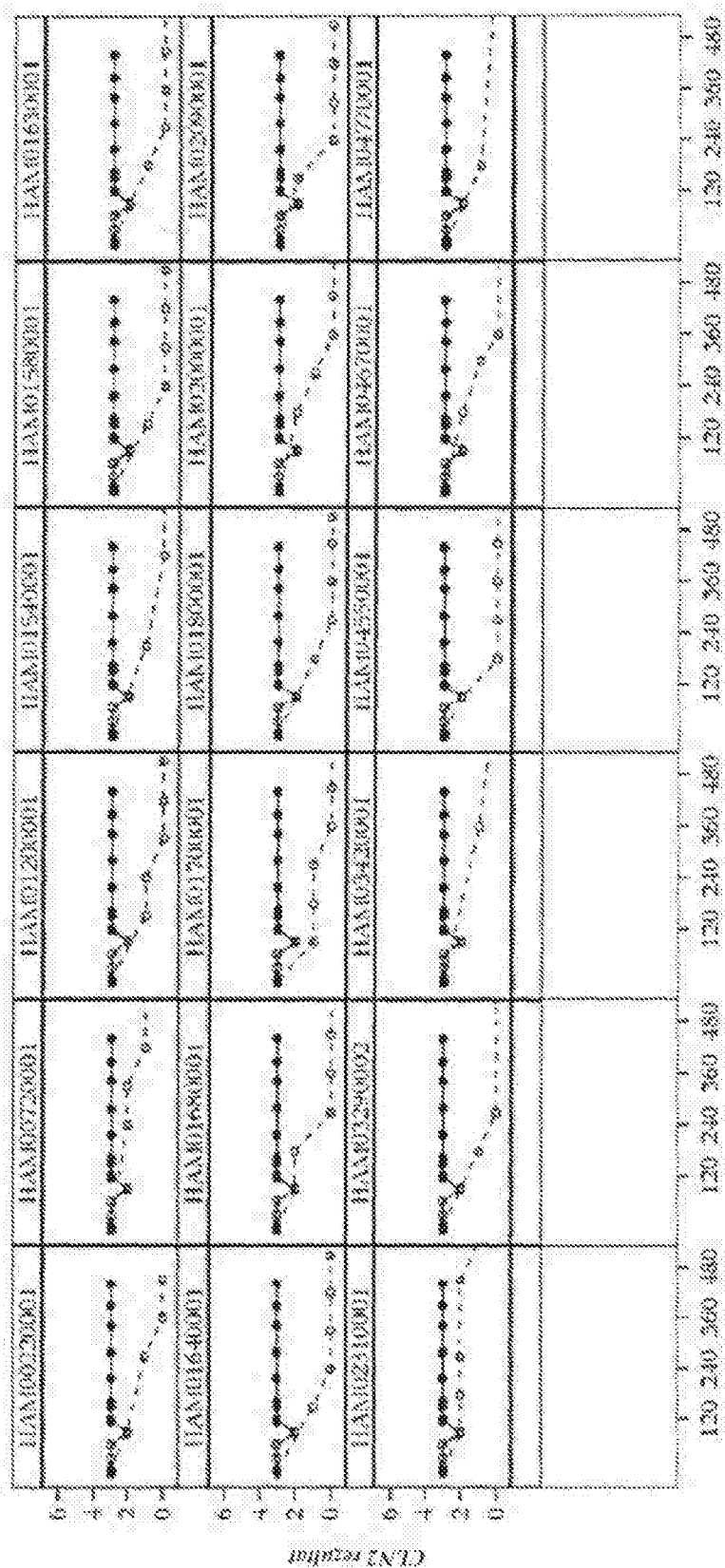
CLN2 rezultat na ili prije prve 300 mg infuzije
Motorička komponenta

Dan analize

CLN2 rezultat poslije prve 300 mg
infuzije
Jezična komponenta

SLIKA 3F

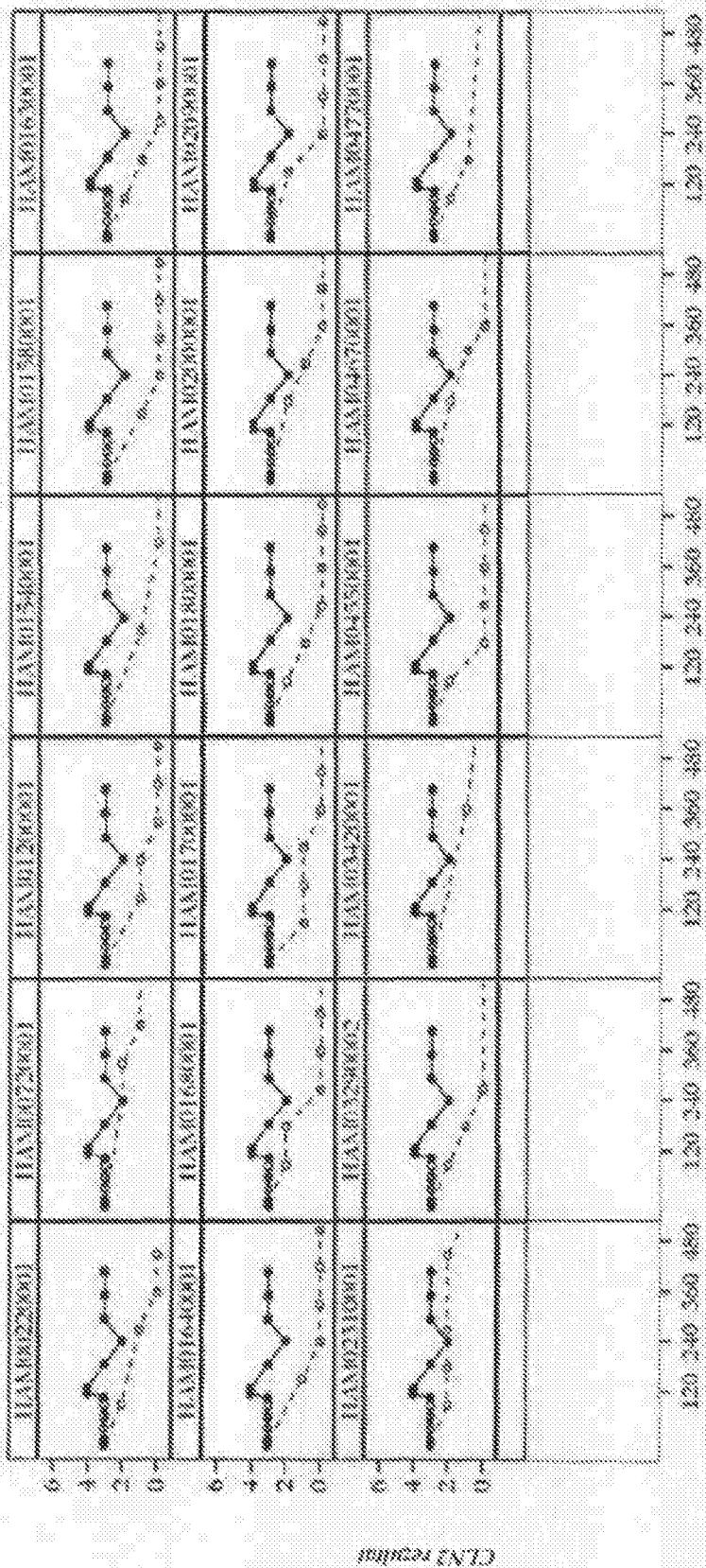
CLN2 rezultat nastuprot dana Analize
 s uparenim pacijentima prethodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C11244-1001



Dan istraživanja

SLIKA 4A

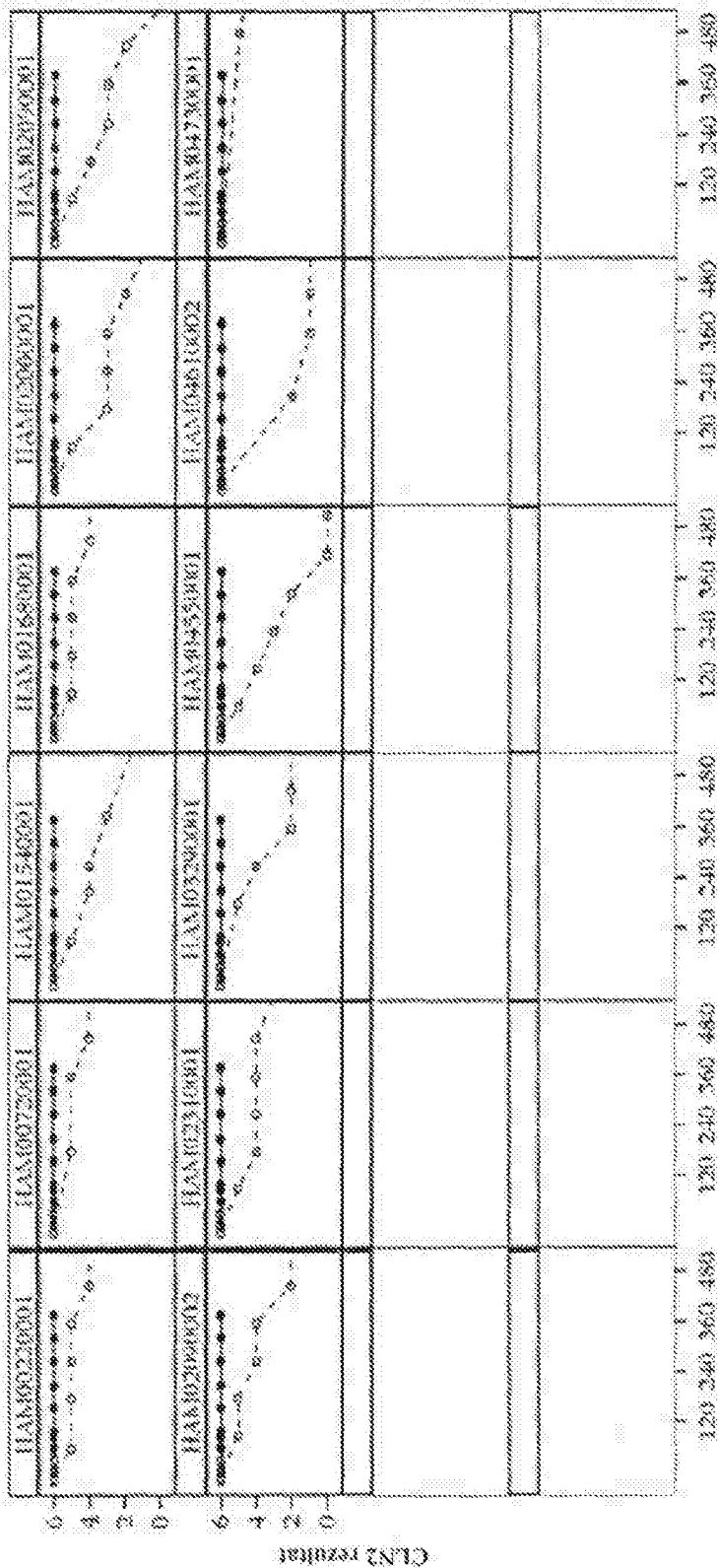
CLN2 rezultat usuprot dana Analize
 s uparenim pacijentima priložne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C1:1244-1002



Dan isražavanja

SLIKA 4B

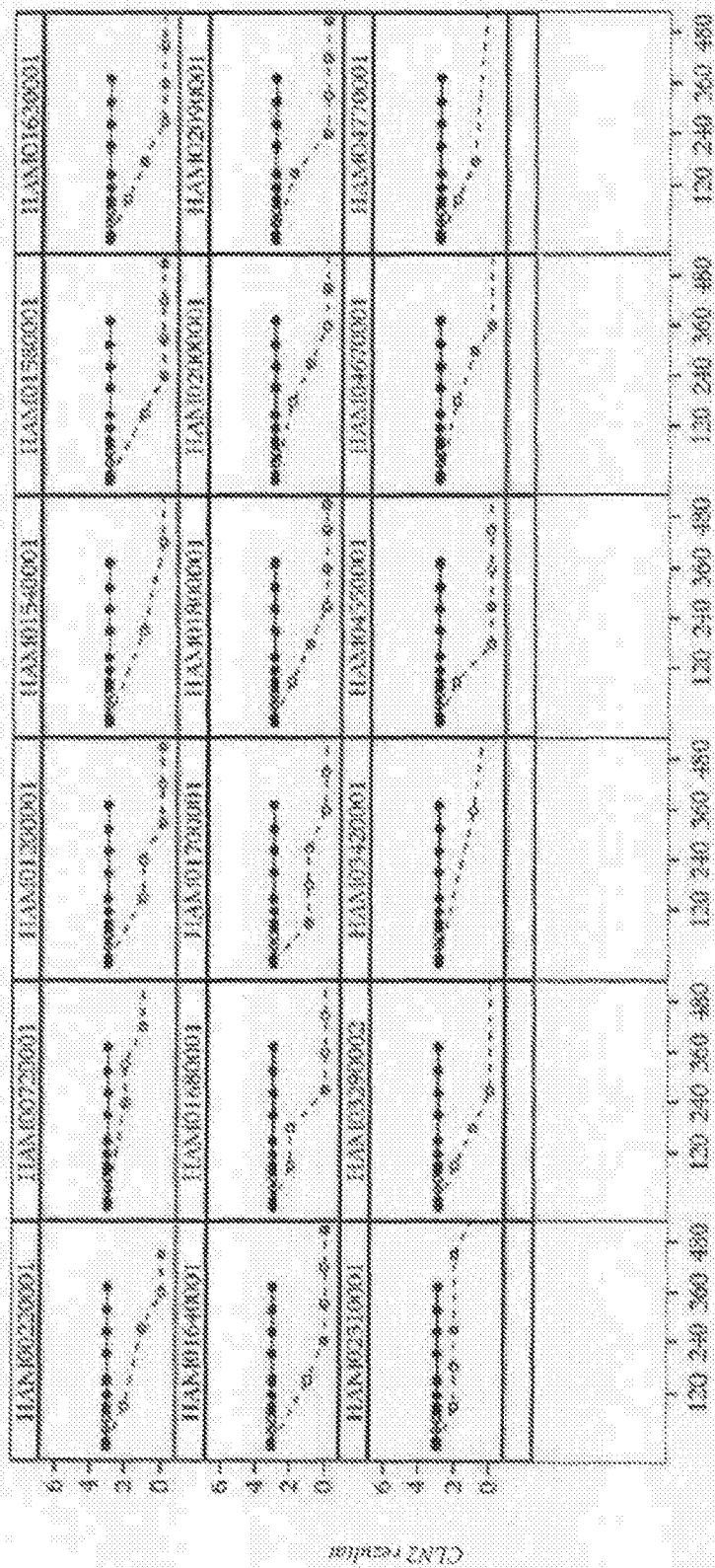
CLN2 rezultat nasprotno dana Analize
 s uparenim pacijentima prirodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C11244-1003



Dati istraživanja

SLIKA 4C

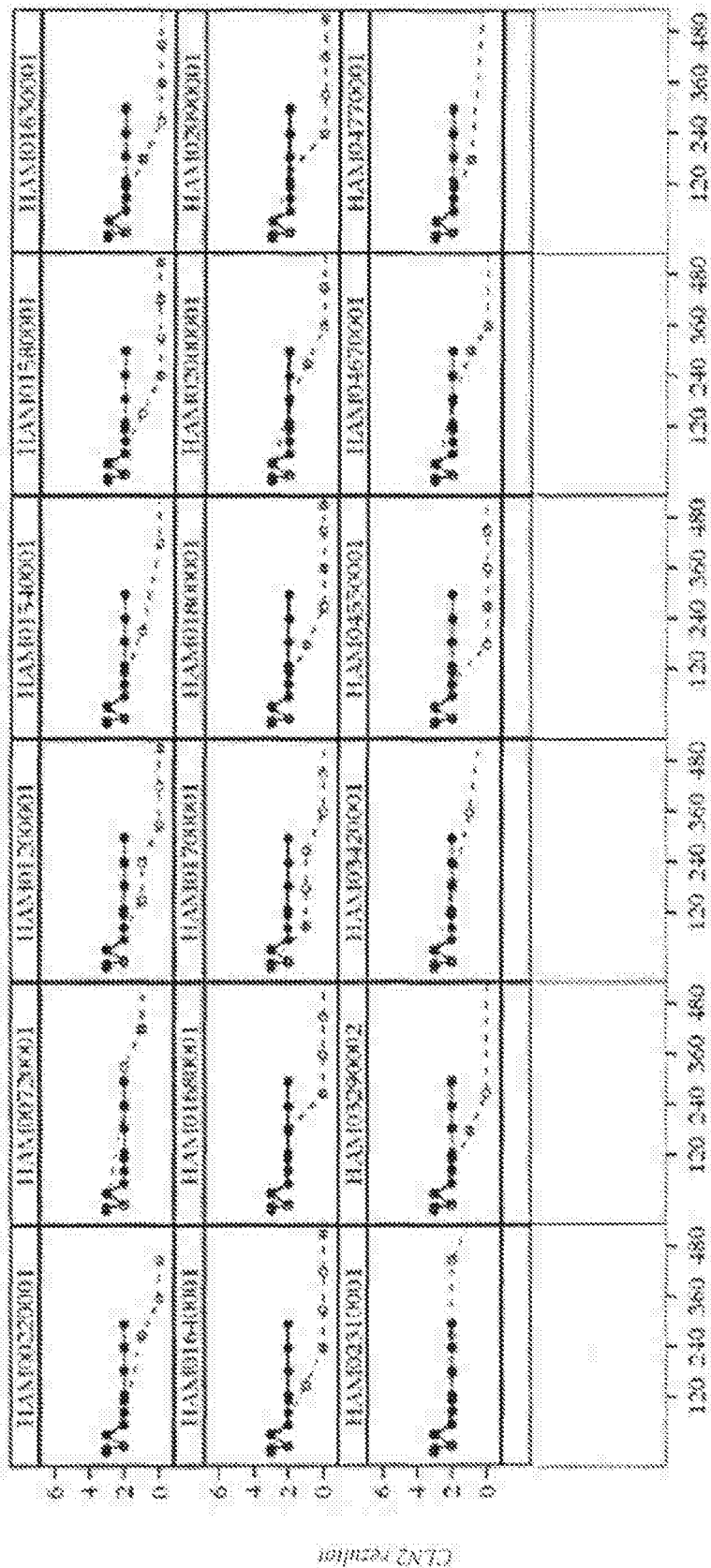
CLN2 rezultati nasuprot dana Analize
 s uparenim pacijentima prirodbne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C11214-1004



Dan istraživanja

SLIKA 4D

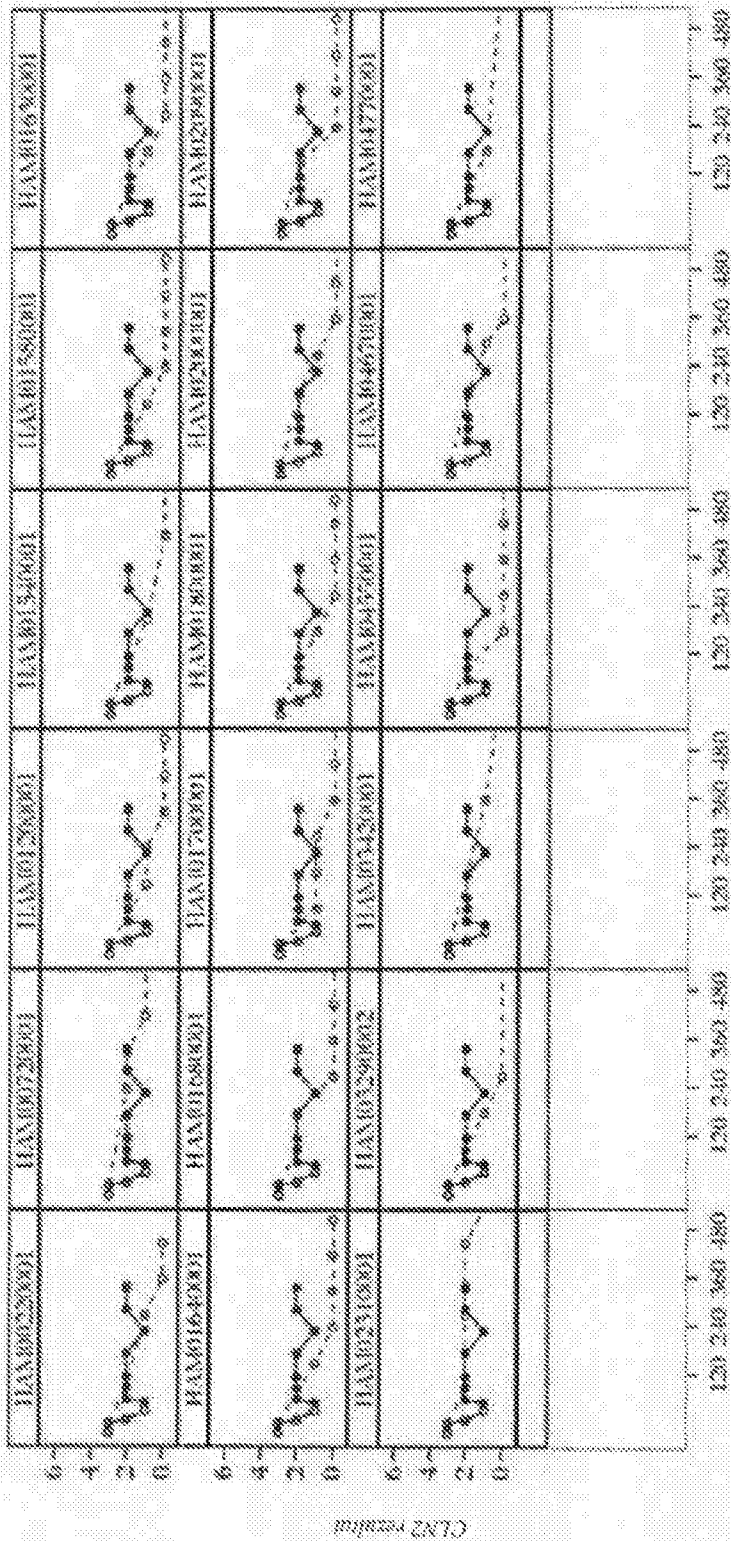
CLN2 rezultat nasuprot dana Analize
 3 aparatima pacijentima procedurama povijesti, poravnanjima na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjeka: C11244-1006



Dan izrađivanja

SLIKA 4E

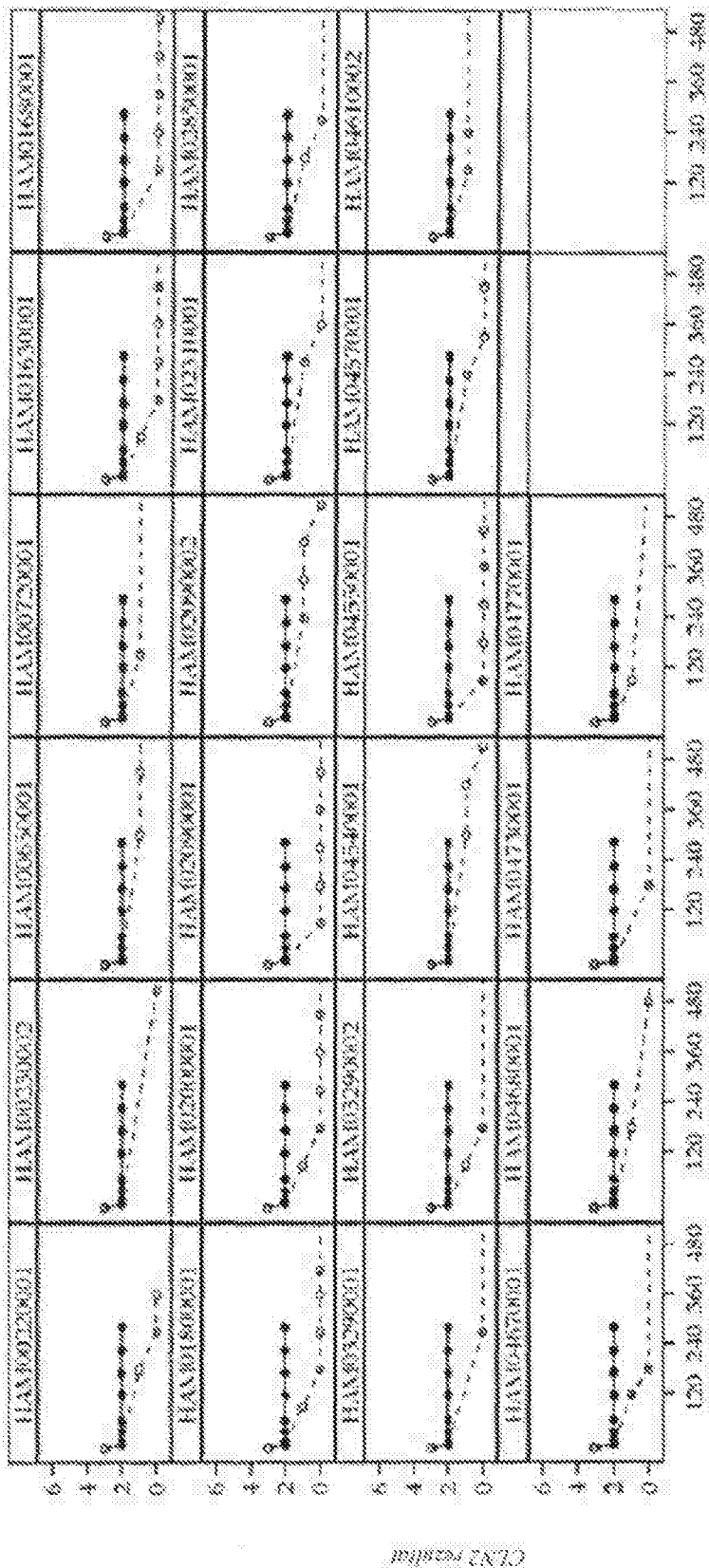
CLN2 rezultati anketni dan Analize
 s uparenim pacijentima prirodne pojave, poravnani na temelje osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: CI:1244-1105



Dan istraživanja

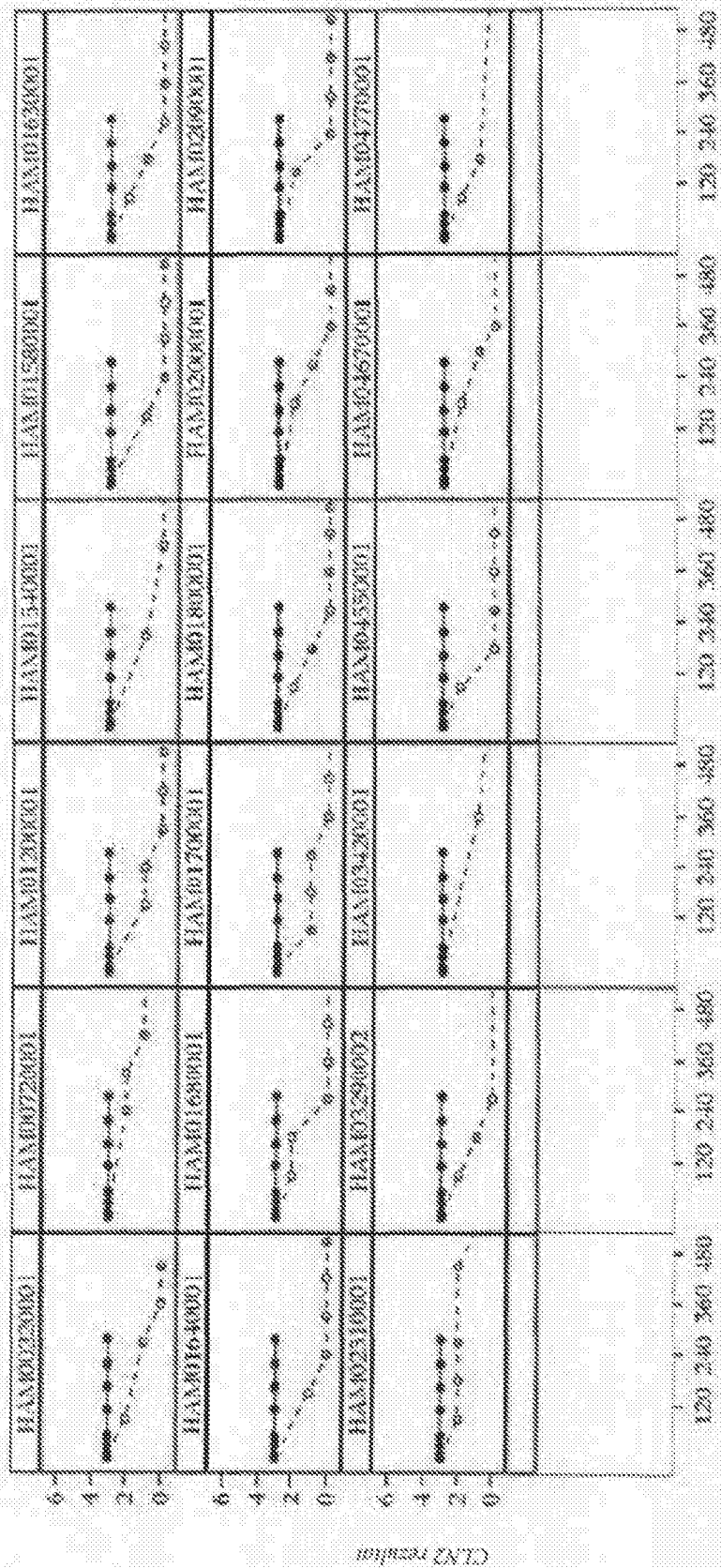
SLIKA 4F

suparnicim
 CLN2 rezultati nasuprot dana Analize
 pacijentima cirkohe povijesti, poravnati na krenulju
 osnovnog rezultata lapitanika
 Subject: C1:1244-1008



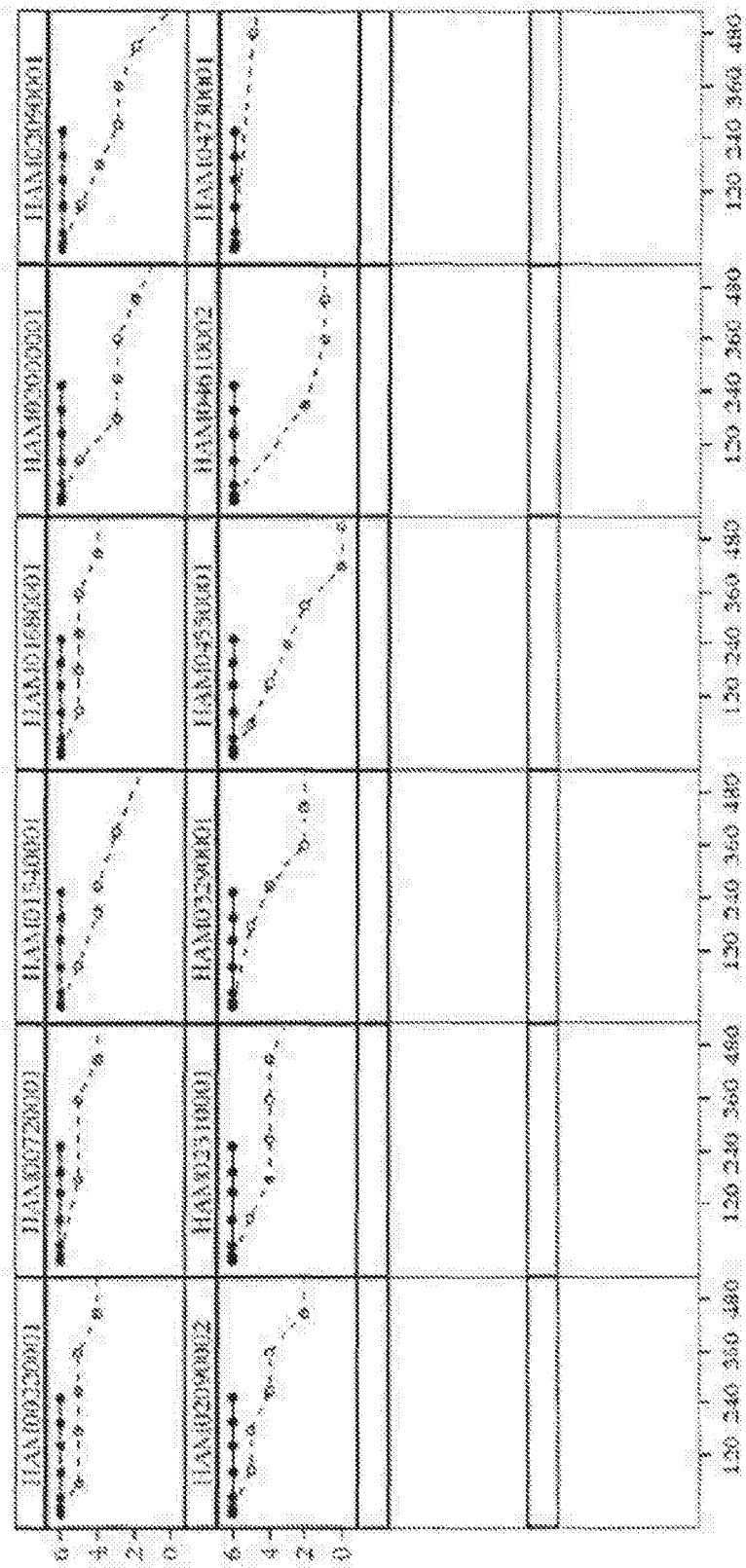
Dan istraživanja
 SUIKA 4G

CLN2 rezultati nasuproti dapa Analize
 s uporenim pacijentima prirodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C1:1244-1009



Dan istraživanja
 SLIKA 4H

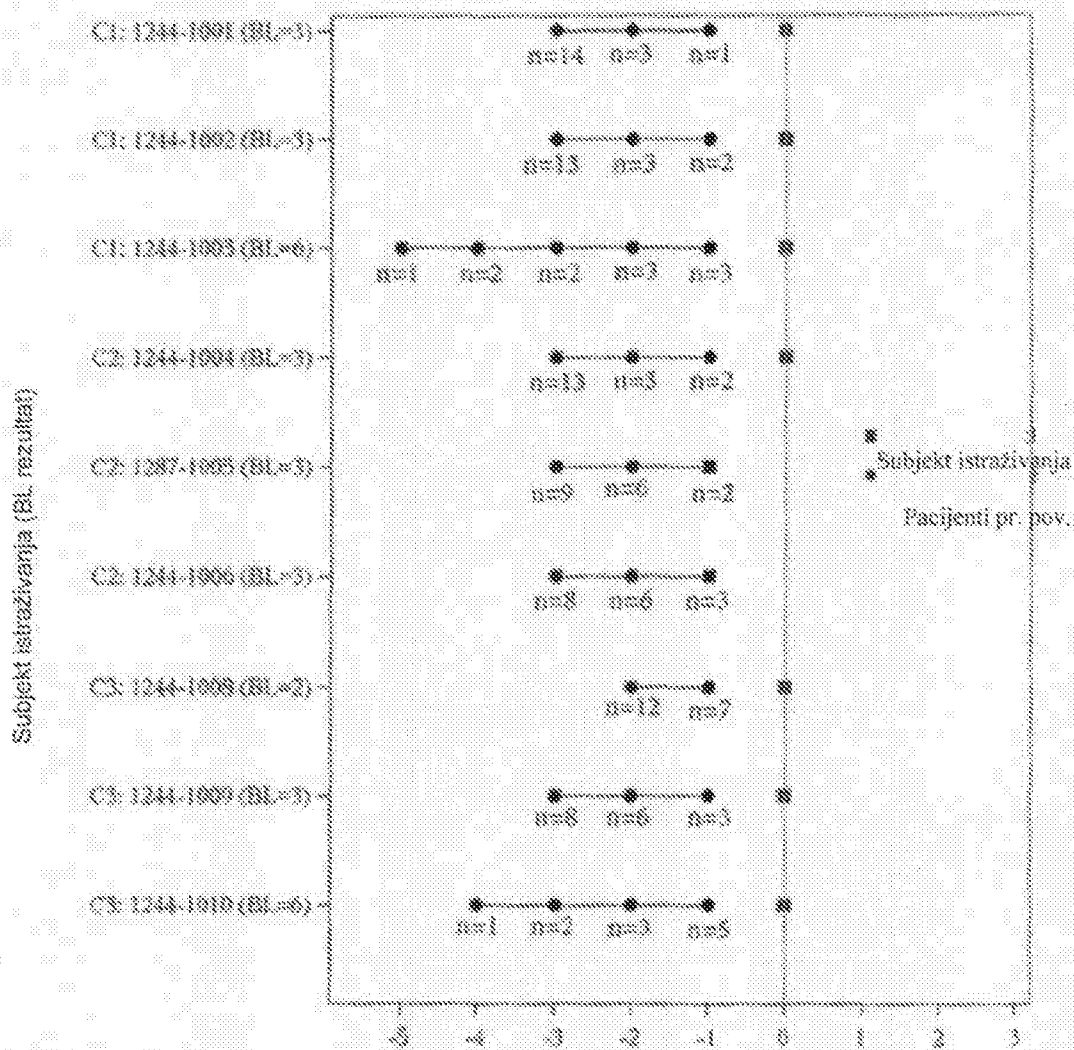
CLN2 rezultati masaprot dana Analize
 s uparenim pacificutima preodne poziciji, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C1: E244-1010



CLN2 rezultati

Dan istraživanja
 SLIKA 41

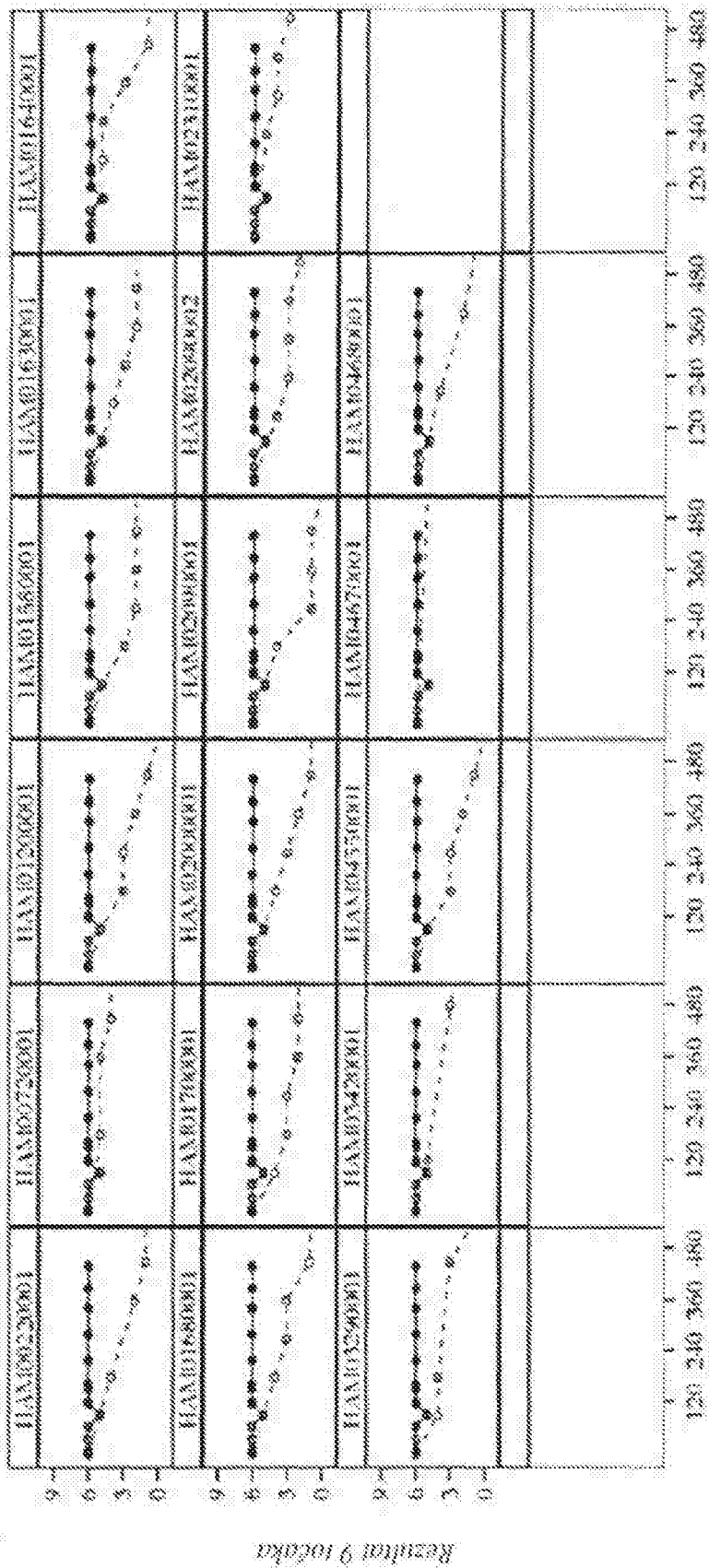
Upareni pacijenti prirodne povijesti, poravnati na temelju rezultata ispitanika



Promjena od osnovne linije

SLIKA 5

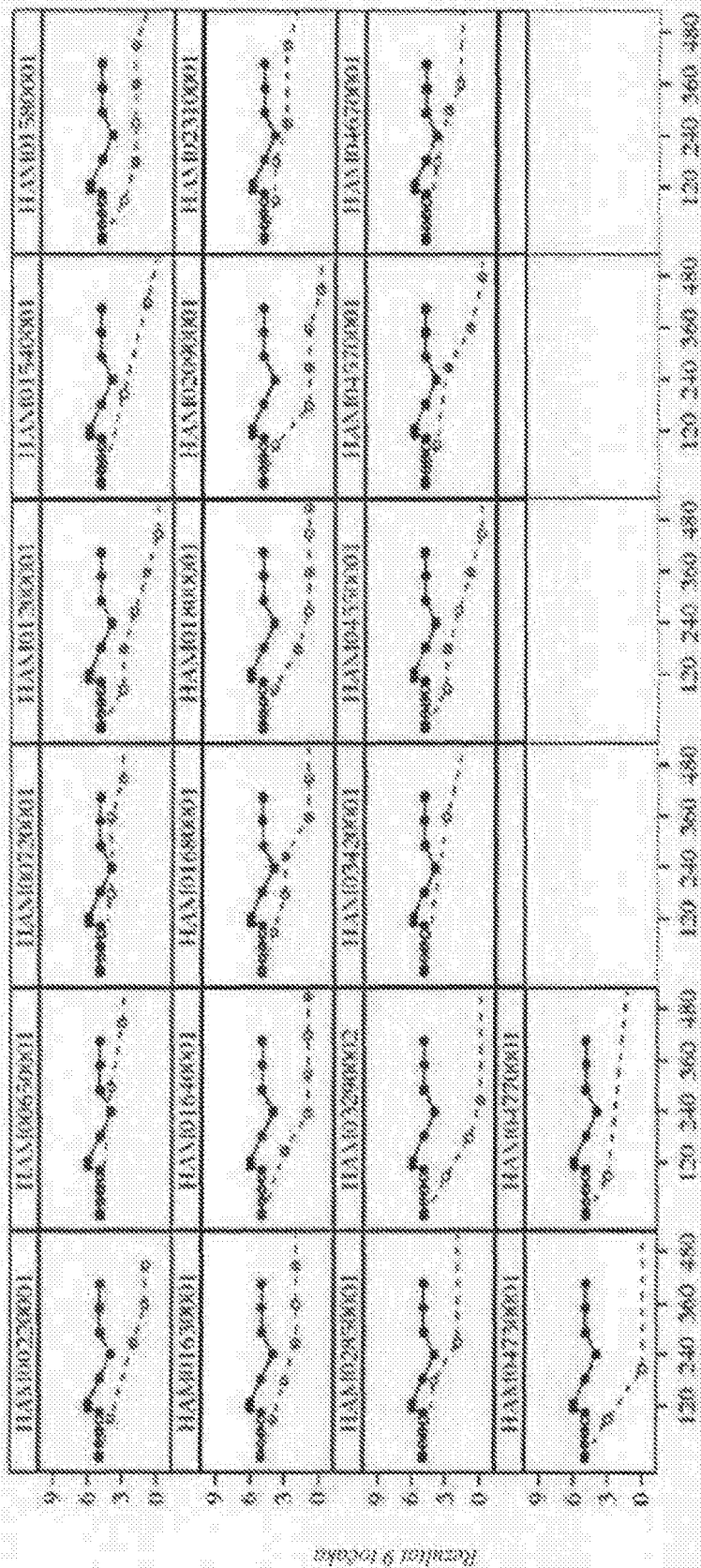
Rezultati 9 točaka nasuprot danu Analize
 3 uparena pacijentima primodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C11244-1001



Dan istraživanja

SLIKA 6A

Rezultati 9 točaka nasuprost dana analize
 s upacemim pacijentima prirodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C1:1244-1002

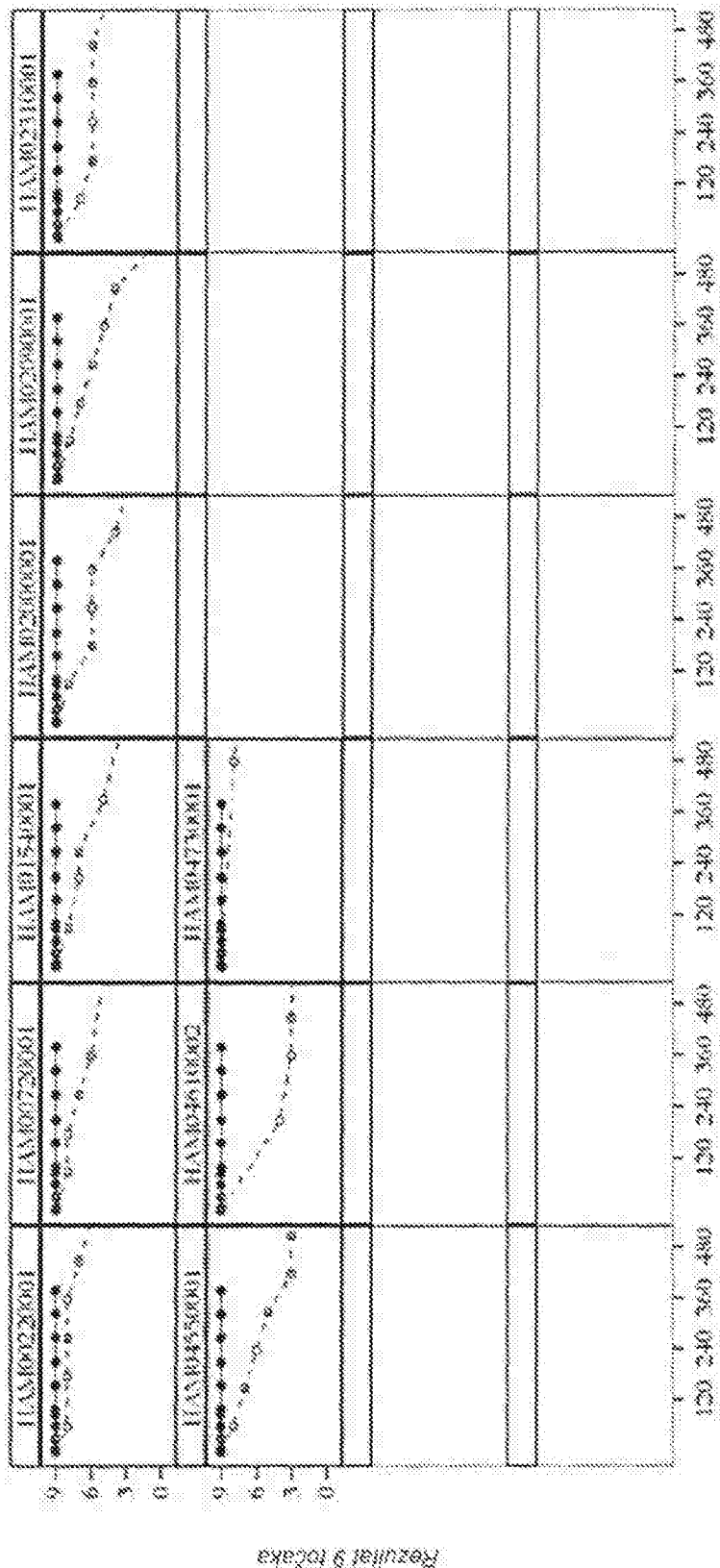


Dan istraživanja

SLIKA 6B

Rezultati 9 točaka nasuprot dana analize

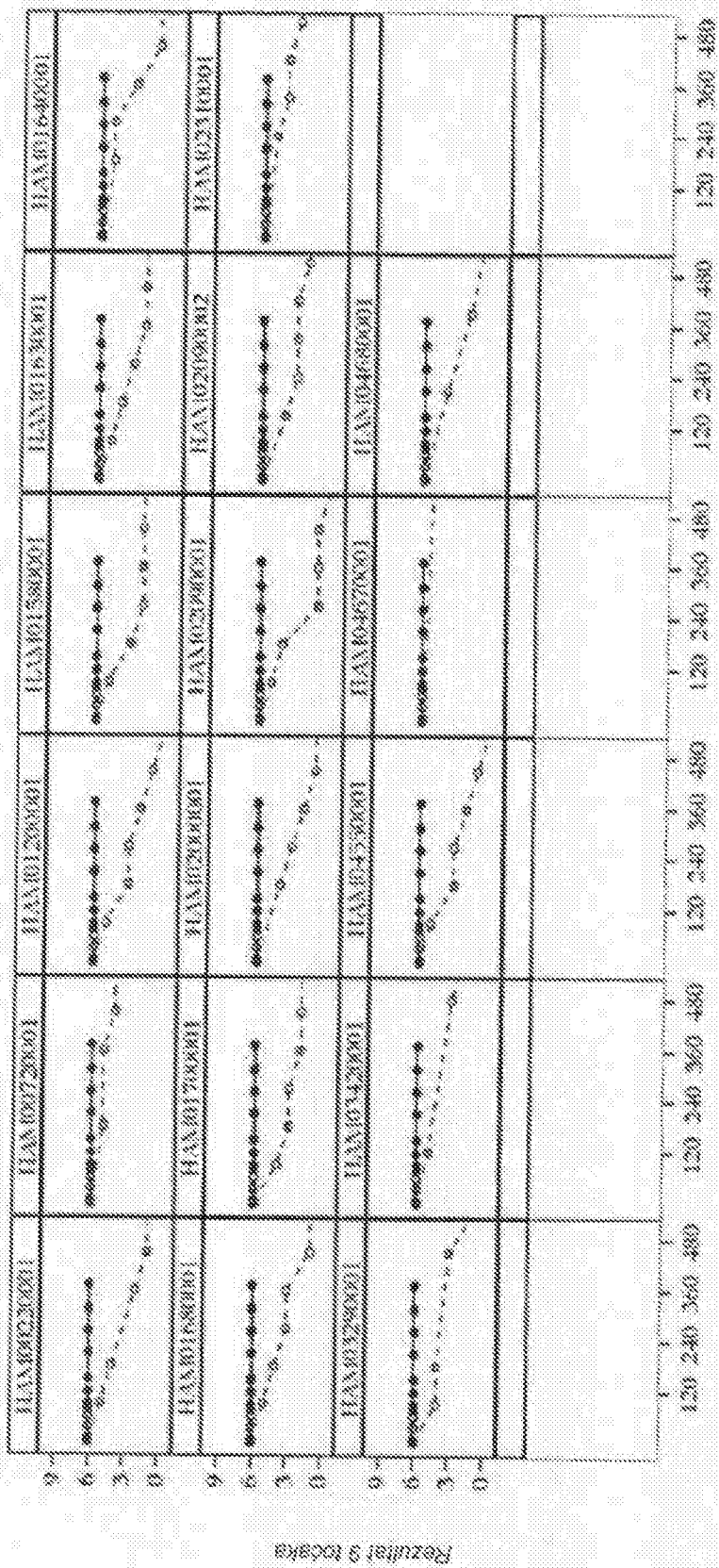
s uparenim pacijentima prirodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: CU1244-1003



Dat. istraživanja

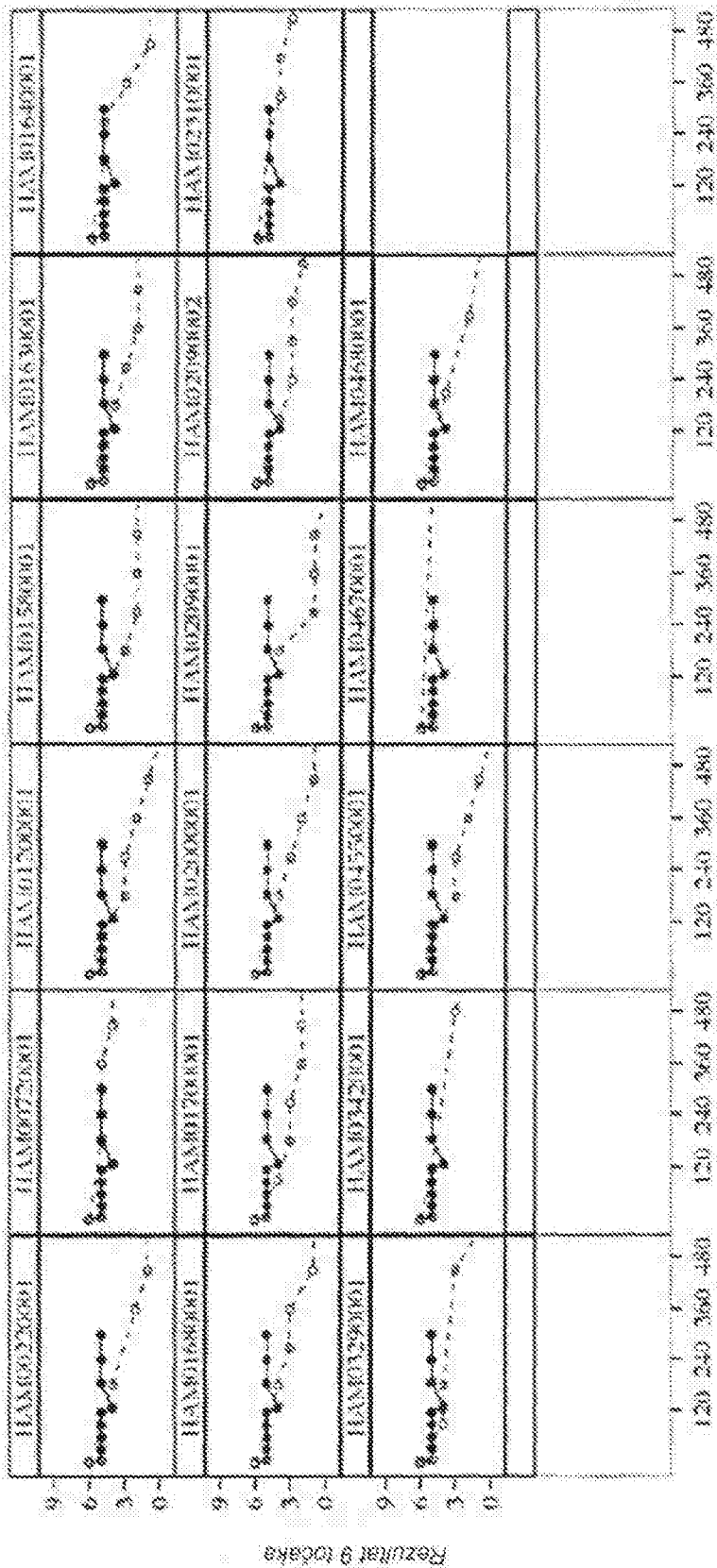
SLIKA 6C

Rezultati 9 točaka nasuprot dana analize
 s uparenim pacijentima priložne povjesci, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C2.1244.1004



Dan tetraživanja
 SLIKA 6D

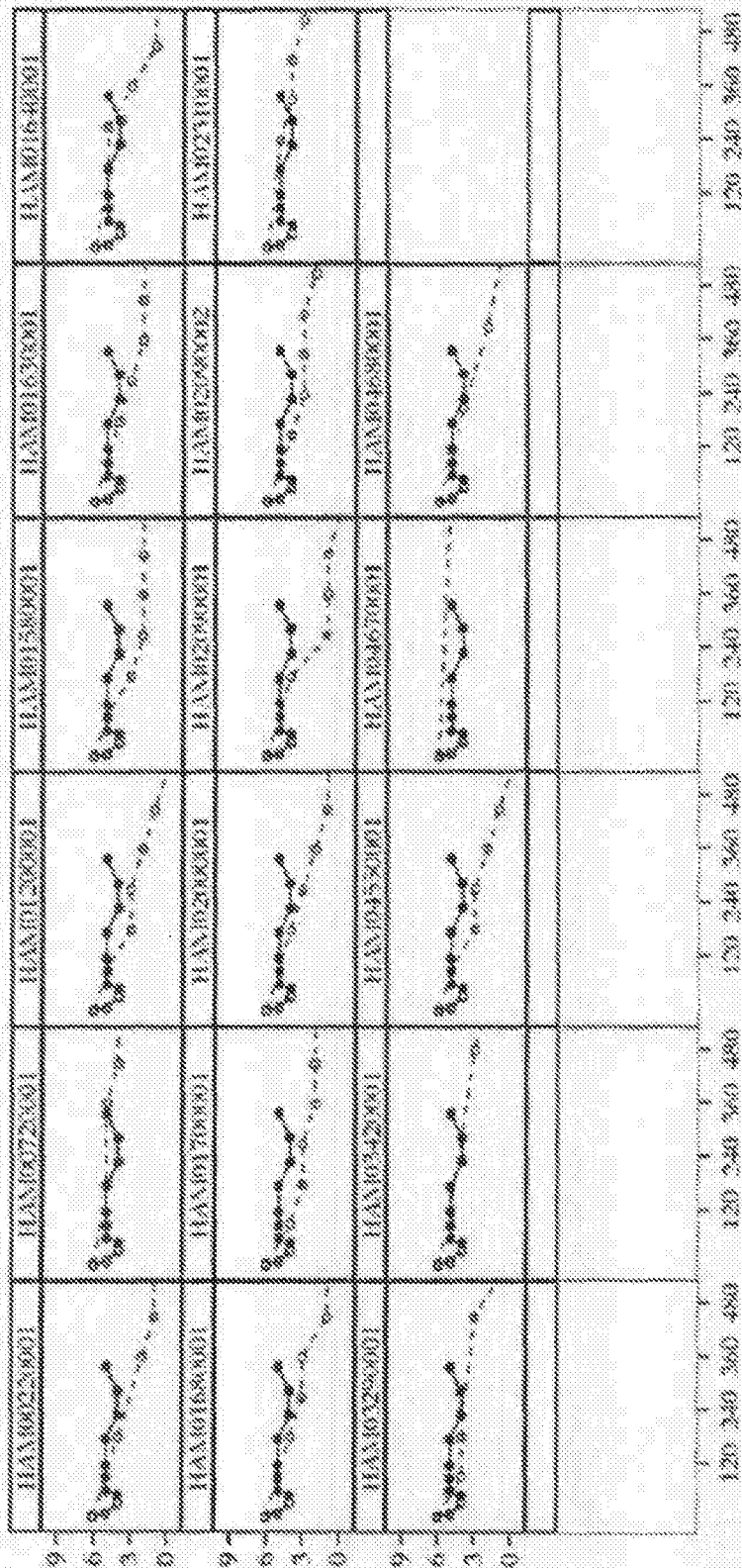
Rezultat 9 točaka nasuprot dana analize
 s uparenim pacijentima proodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C2:1244-1006



Dan istraživanja

SUNA 6E

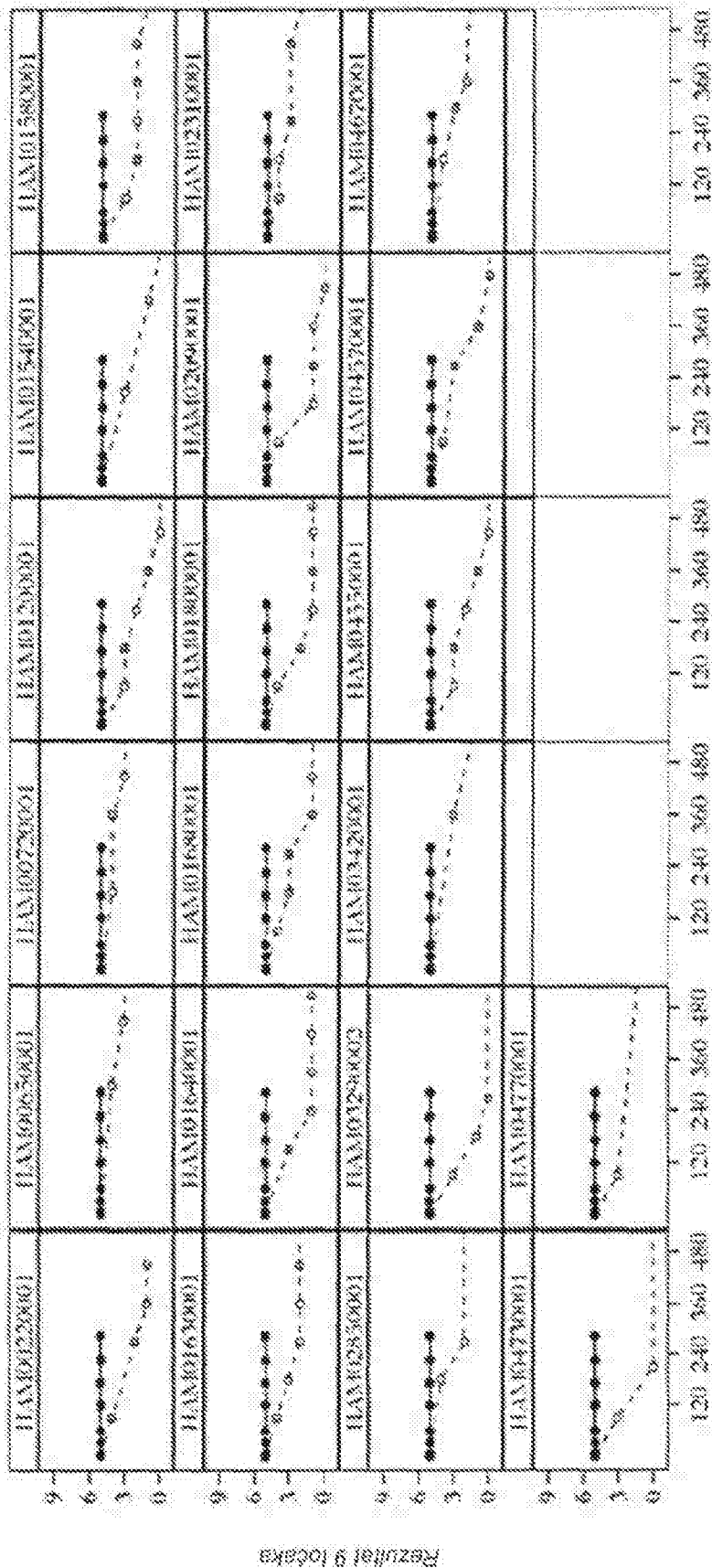
Rezultat 9 točaka nasuproti dva analiza
 s uparenim pacijentima prirodnog povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C2:1287-1005



Rezultat 9 točaka

Dan istraživanja
 SLIKA 6F

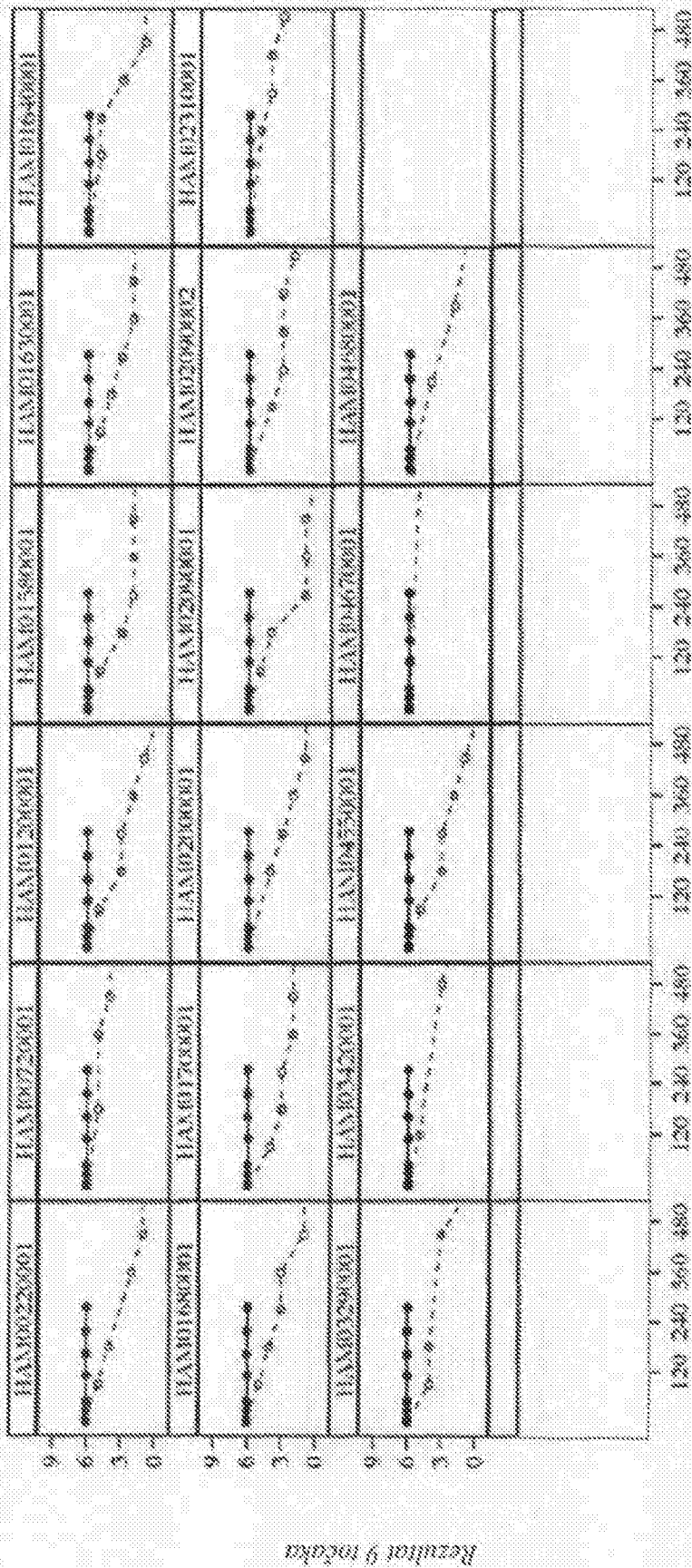
Rezultat 9 točaka naprotirot dana analize
 s uparenim pacijentima prirodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Sažbjek: C3-1244-1008



Dan istraživanja

SLIKA 6G

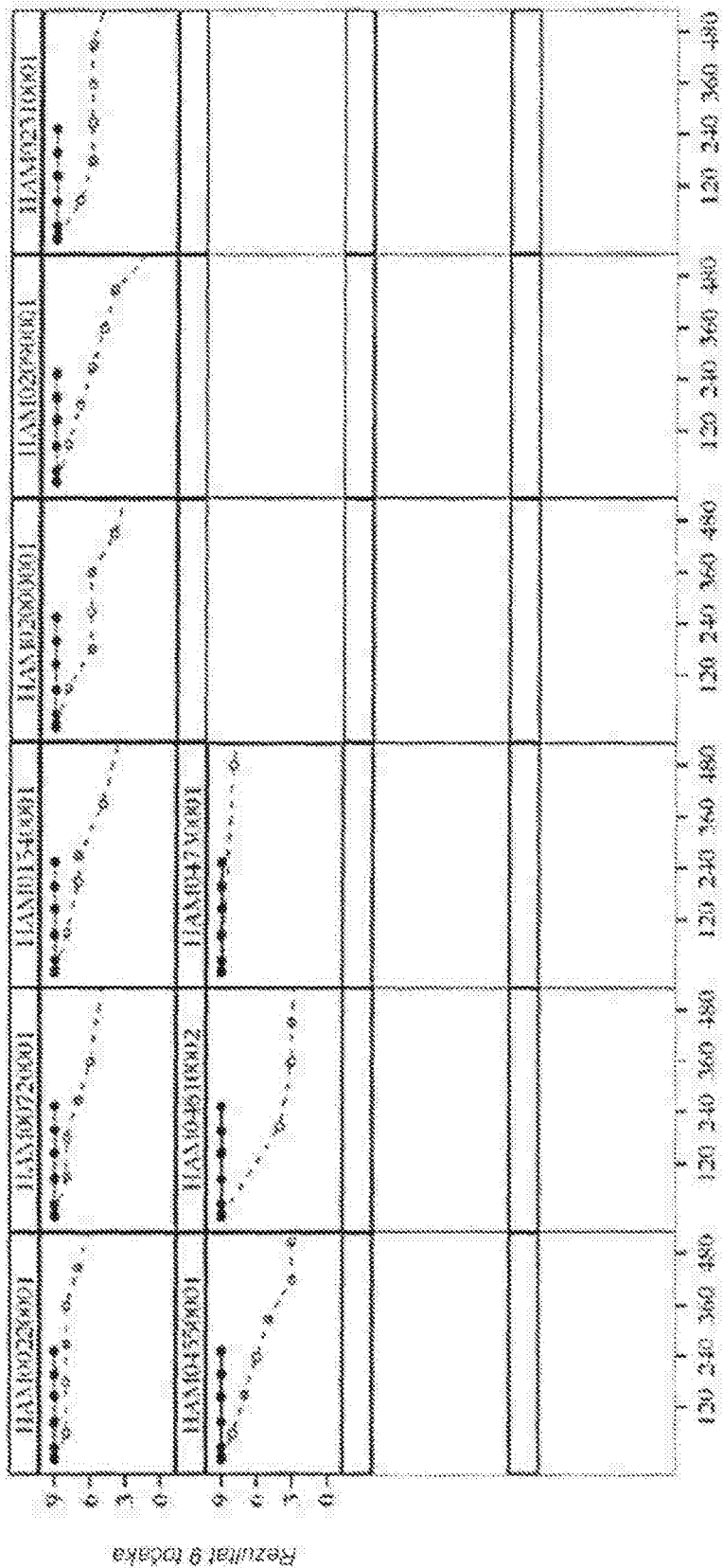
Rezultat 9 točaka nusuprot dana analize
 s uparenim pacijentima proučene povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C3:1244-1009



Dan istraživanja

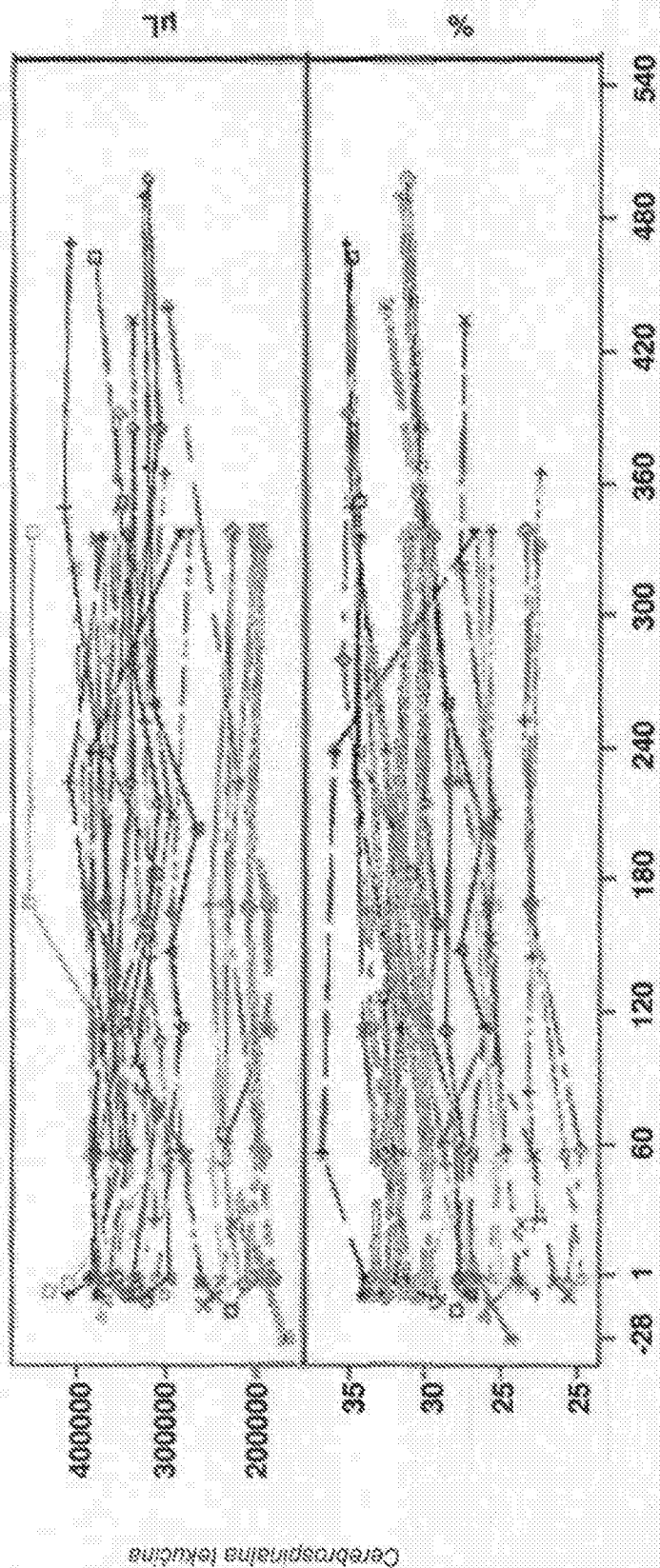
SLIKA 6H

Rezultat 9 točaka nasuprot dana analize
 s uparenim pacijenatima prirodne povijesti, poravnati na temelju osnovnog rezultata ispitivanja
 Subjekt: C3-124a-1010



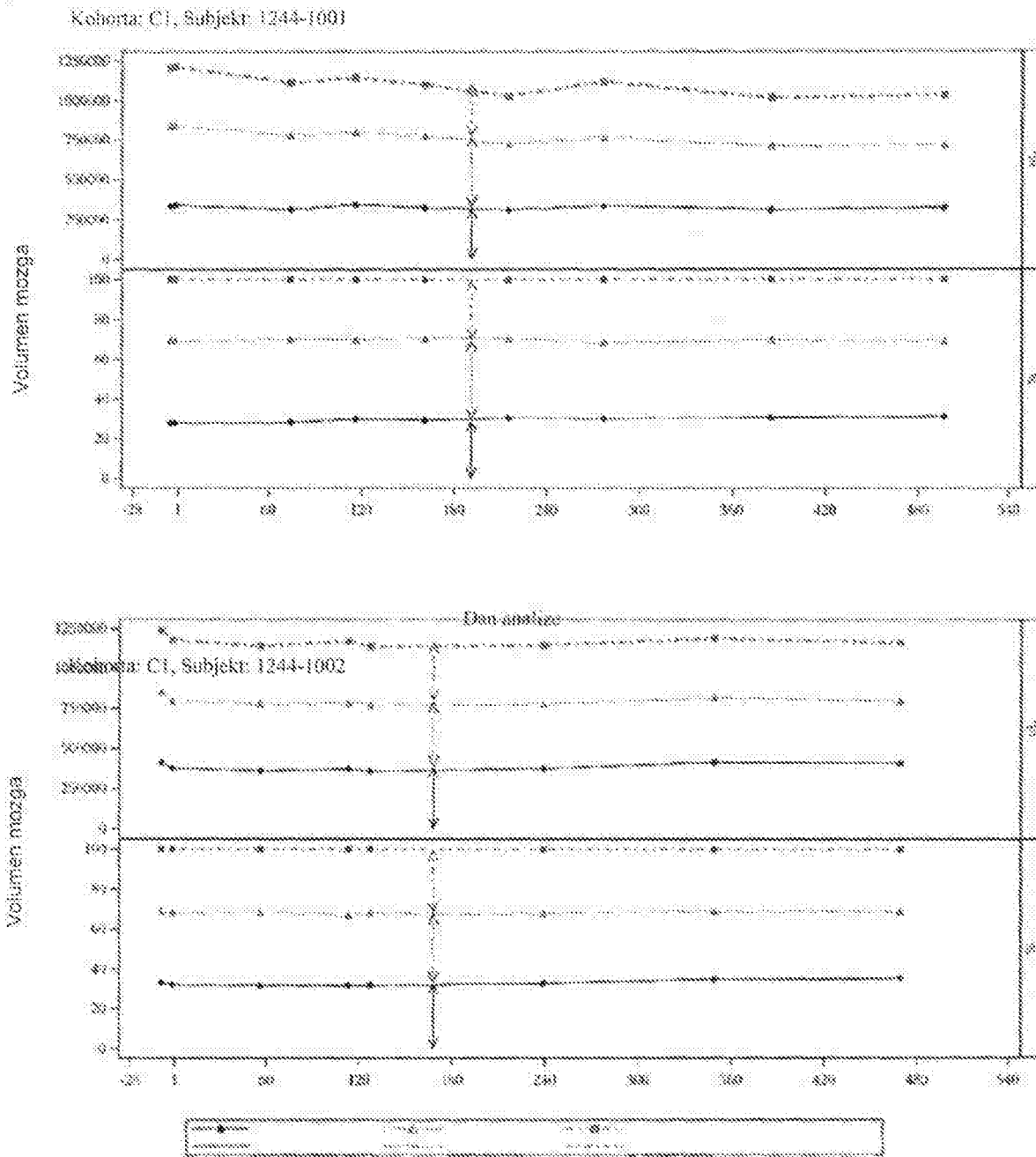
Dan istraživanja

SLIKA 6f



Dan analize 1 je dan prve infuzije
Vrijednosti su prosjek dva štaca

SLIKA 7



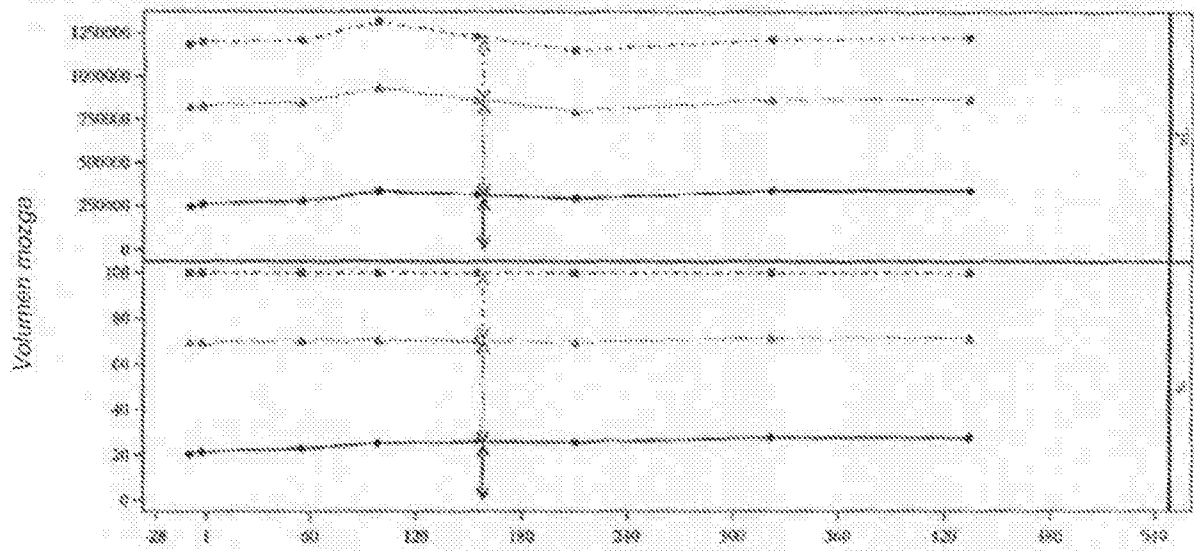
Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

Dan analize
CSF + Siva tvar
Siva tvar

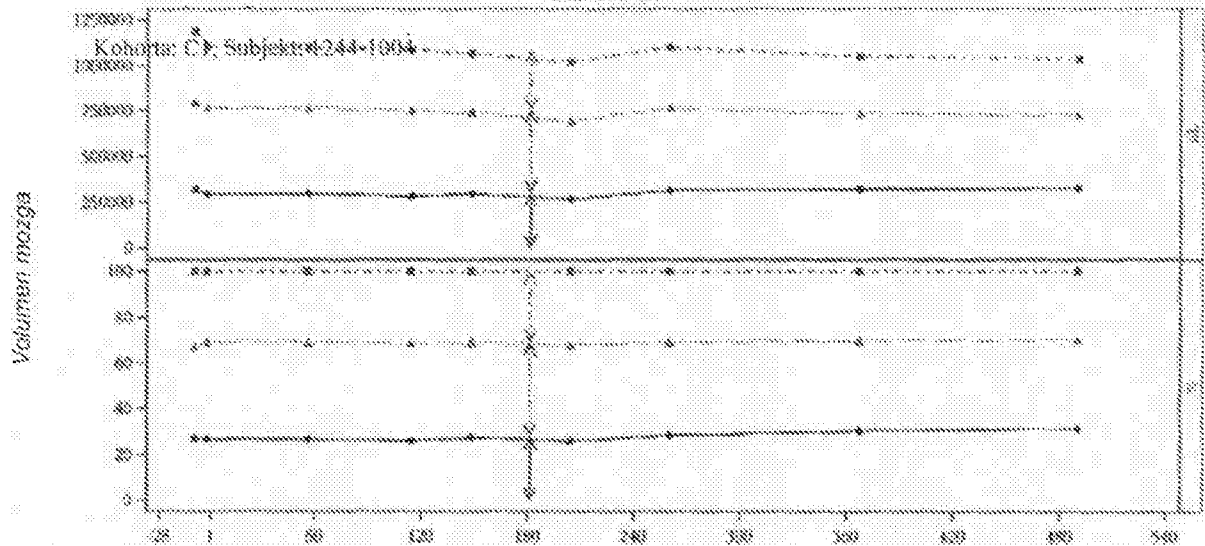
Cijeli volumen mozga (SP+Siva+Bijela) Bijela tvar

SLIKA 8A

Kohorta: C1, Subjekt: 1244-1003



Dan analize



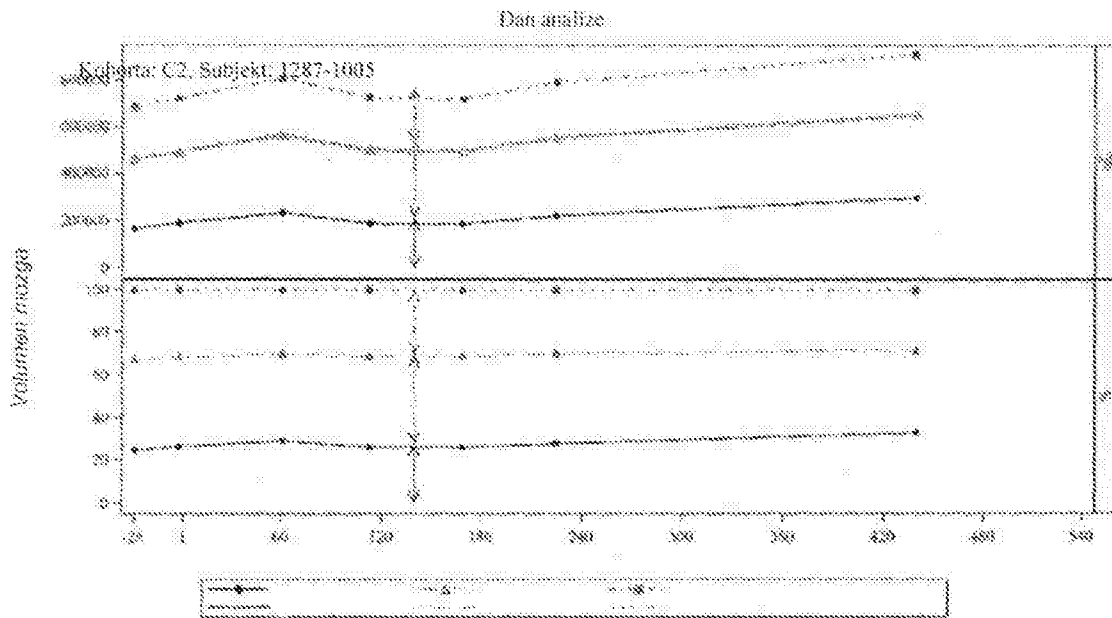
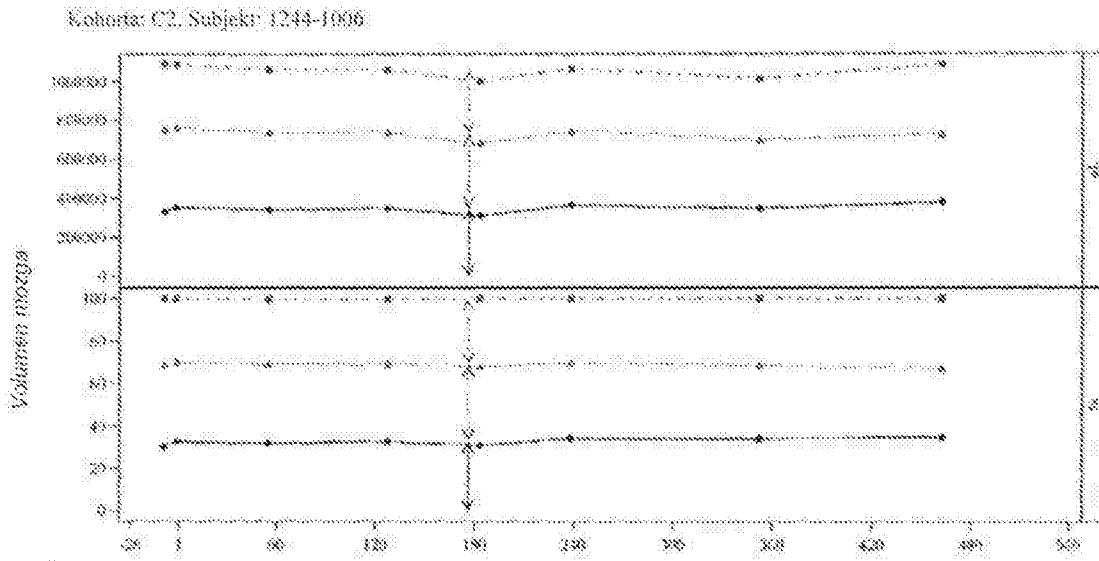
Dan analize

Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

CSF + Siva
a tvar
Siva tvar

Cijeli volumen mozga (CSF + siva tvar +
bijela) Bijela tvar

SLIKA 8B



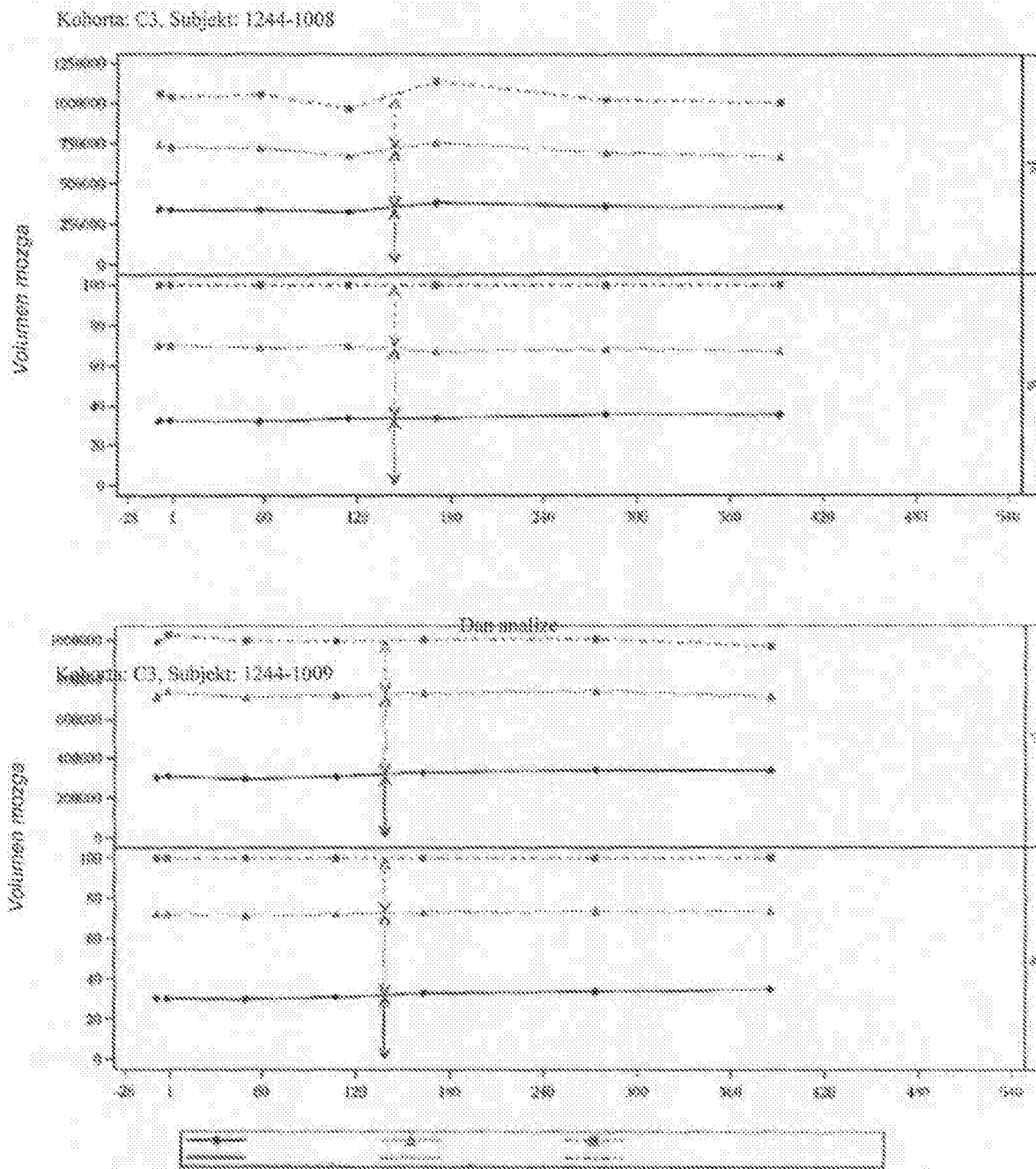
Dan analize

Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

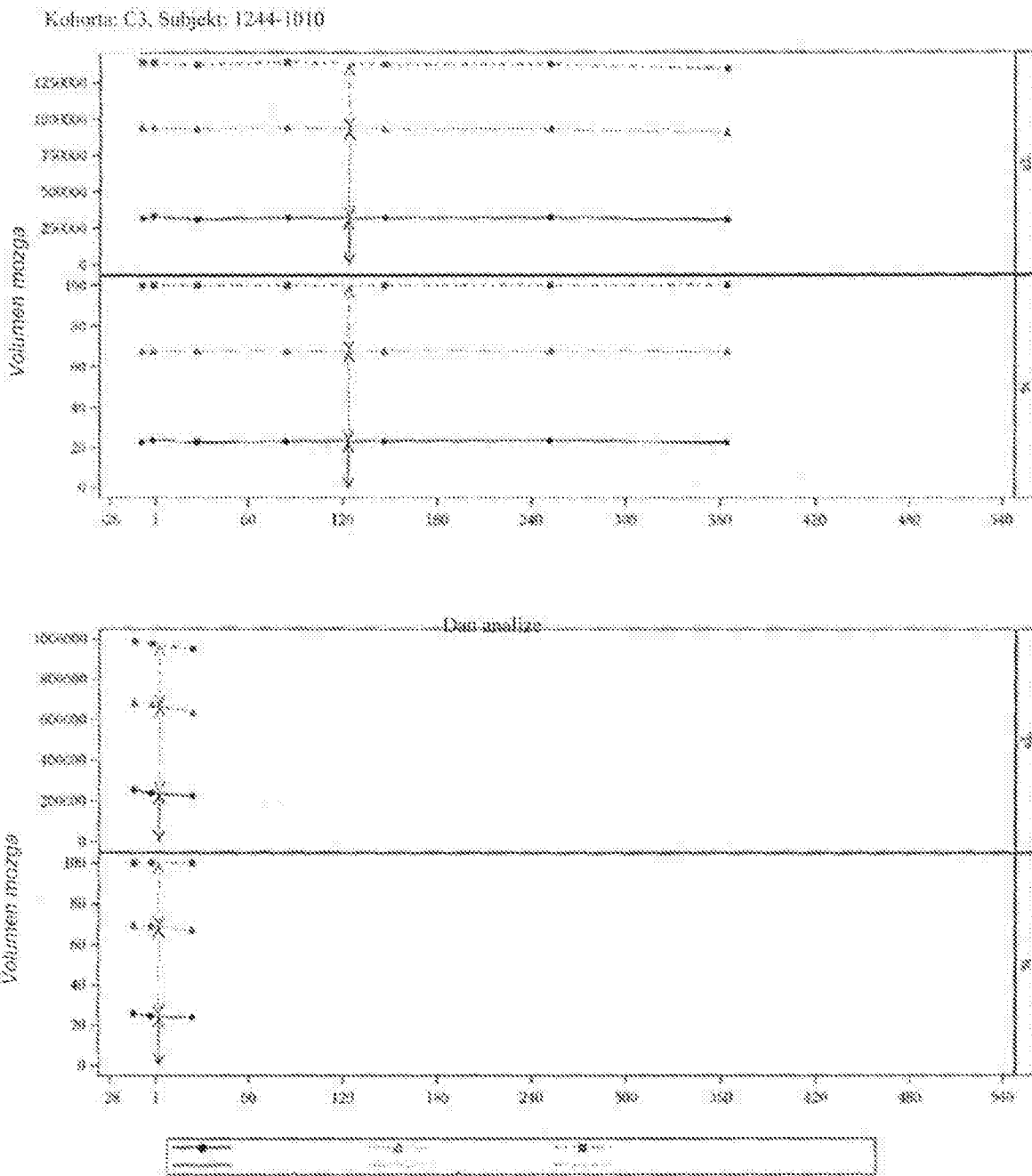
CSF - Siva tvar
Siva tvar

Cijeli volumen mozga (CSF + bijela +
siva) Bijela tvar

SLIKA 8C



SLIKA 8D



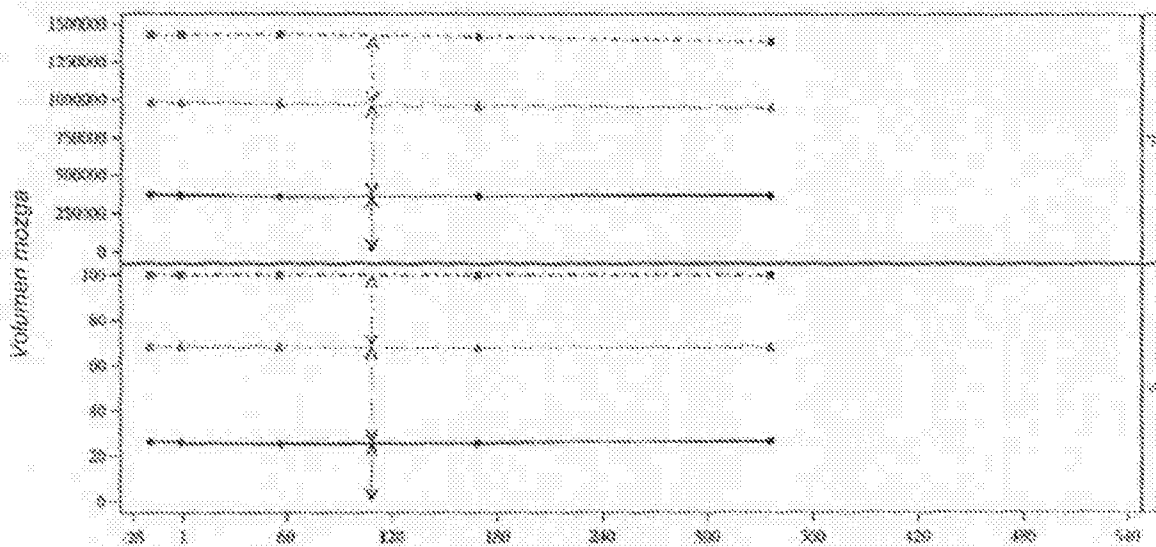
Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

Dan analize
CSF - Siva tvar
Siva tvar

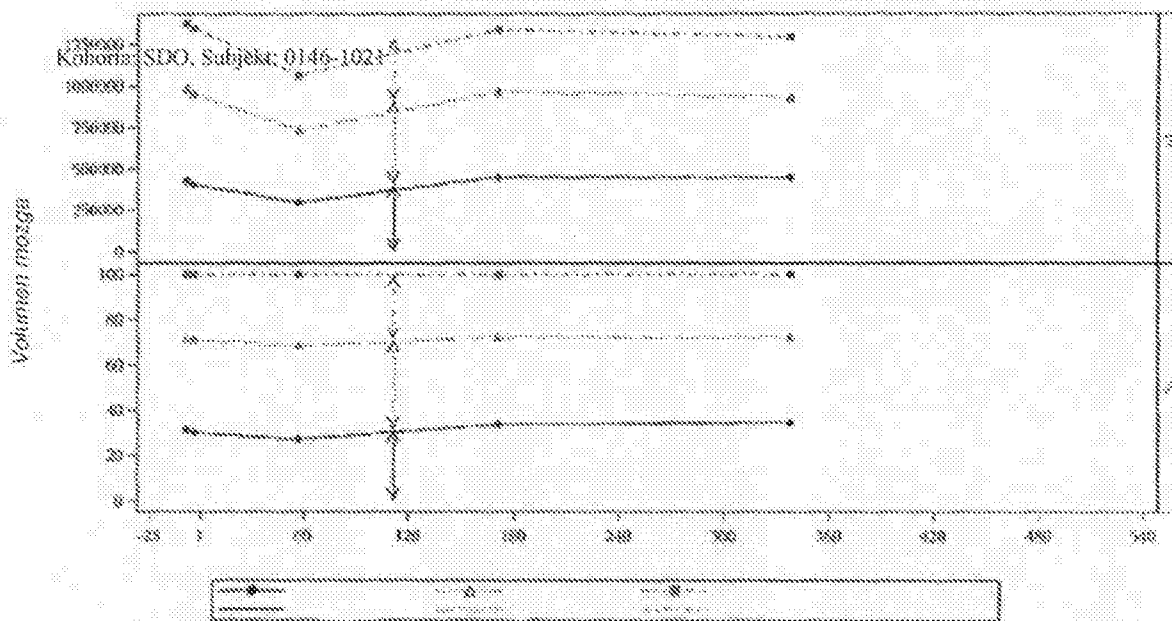
Cijeli volumen mozga (CSF + siva + bijela) / Bijela tvar

SLIKA 3E

Kohorta: SDO, Subjekt: 0119-1020



Dan analize



Dan analize

Cerebrospinalna tekućina

CSF+ siva tvar

Cijeli volumen mozga

Cerebrospinalna tekućina

(CSF+ siva+ bijela)

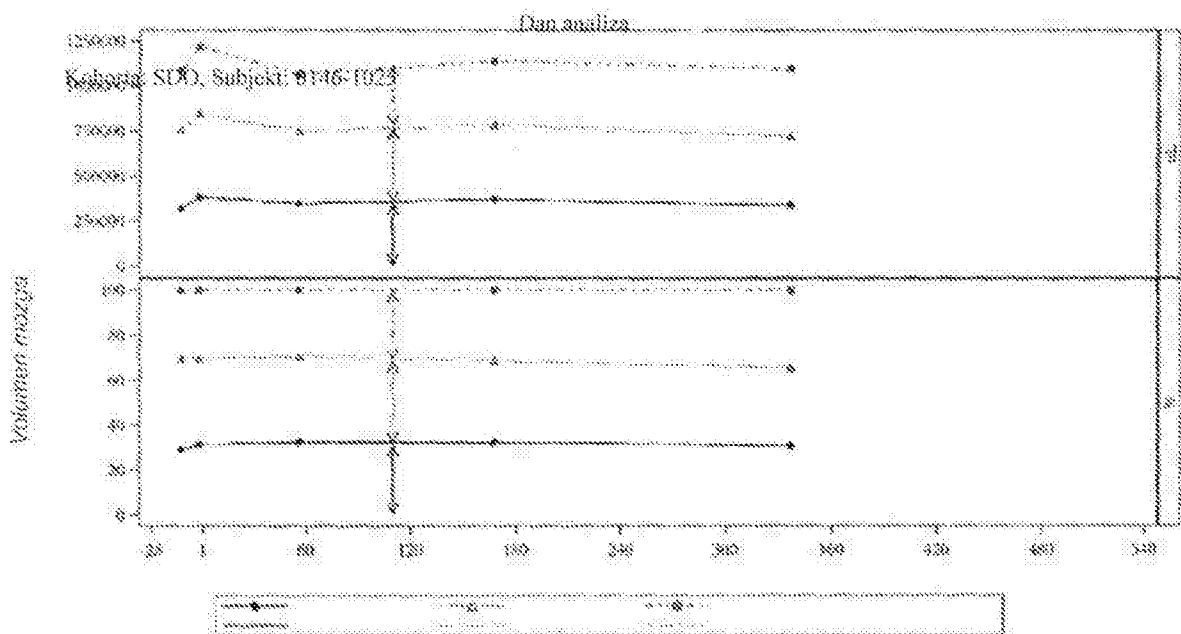
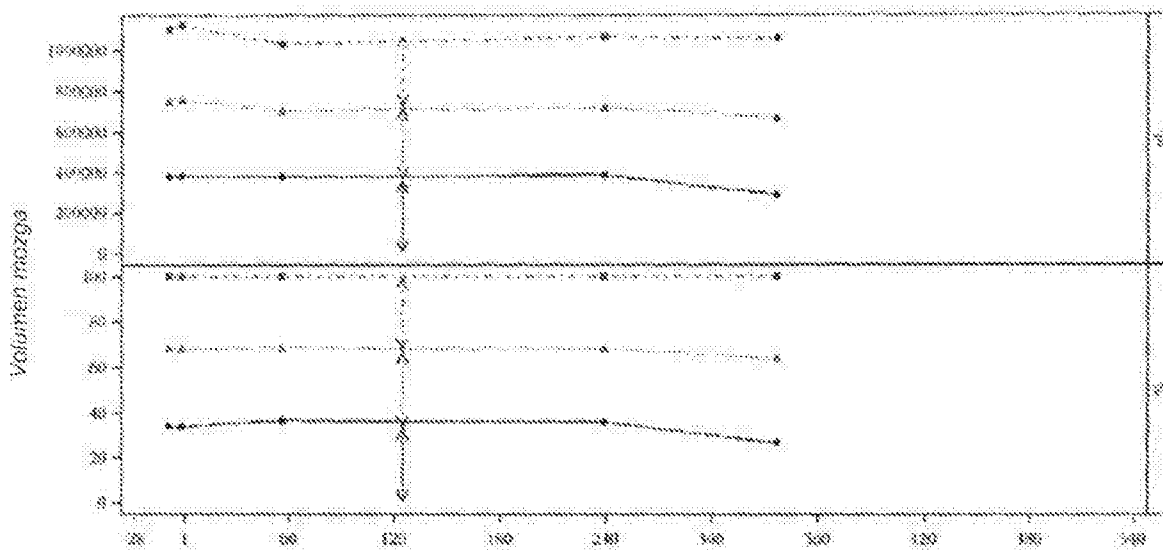
Bijela tvar

Siva

tvar

SUKA SF

Kohorta: SDO, Subjekt: 0146-1022



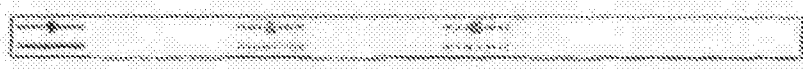
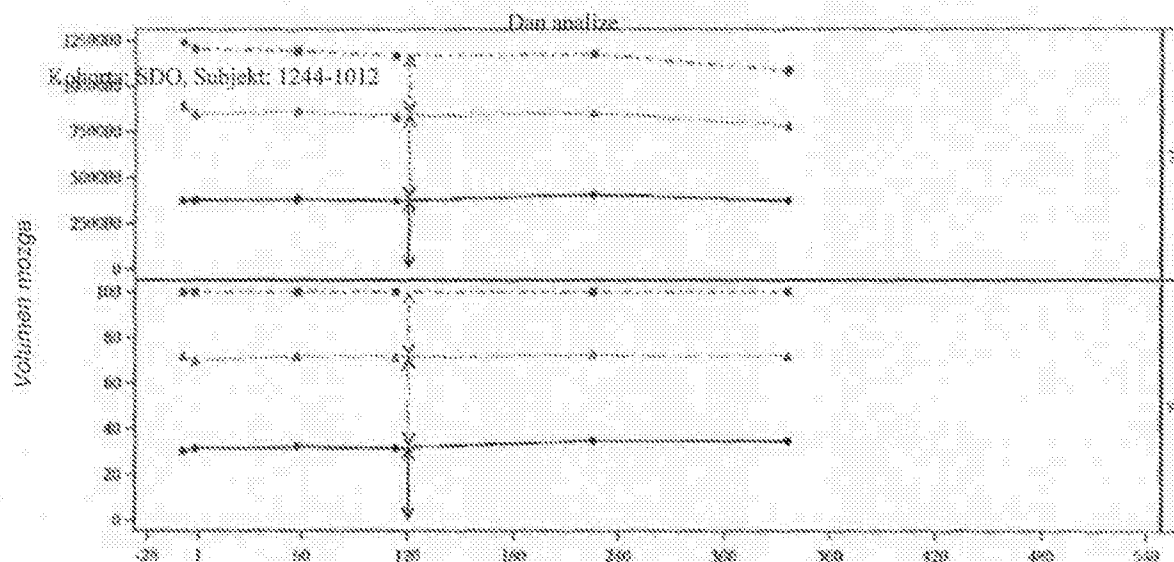
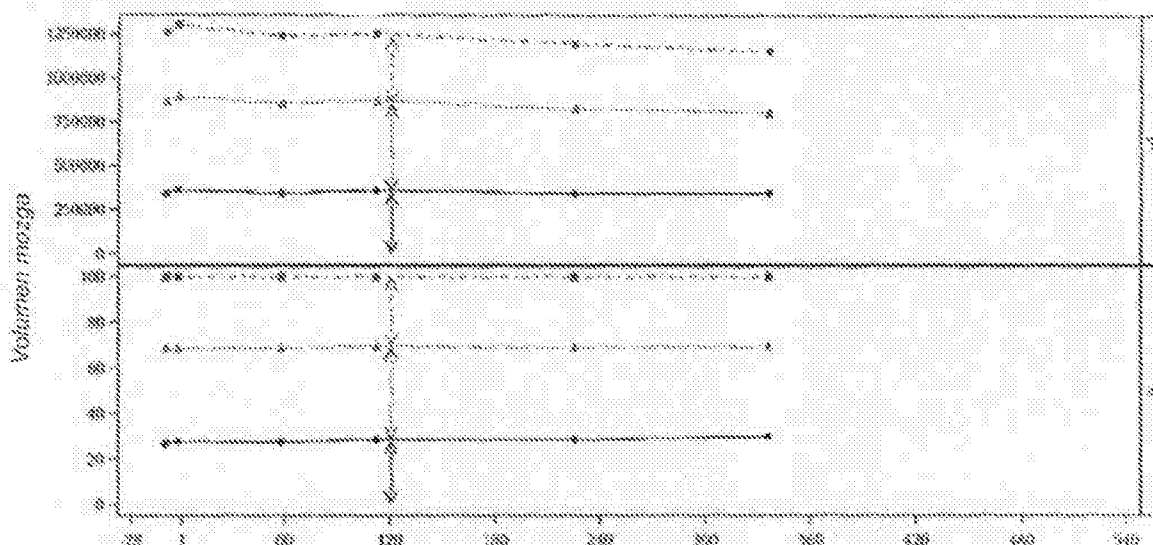
Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

Dsa analiza
CSF + Siva tvar
Siva tvar

Cijeli volumen mozga
(CSF + siva + bijela tvar)
Bijela tvar

SLIKA 8G

Kohorta: SDO, Subjekt: 1244-1011



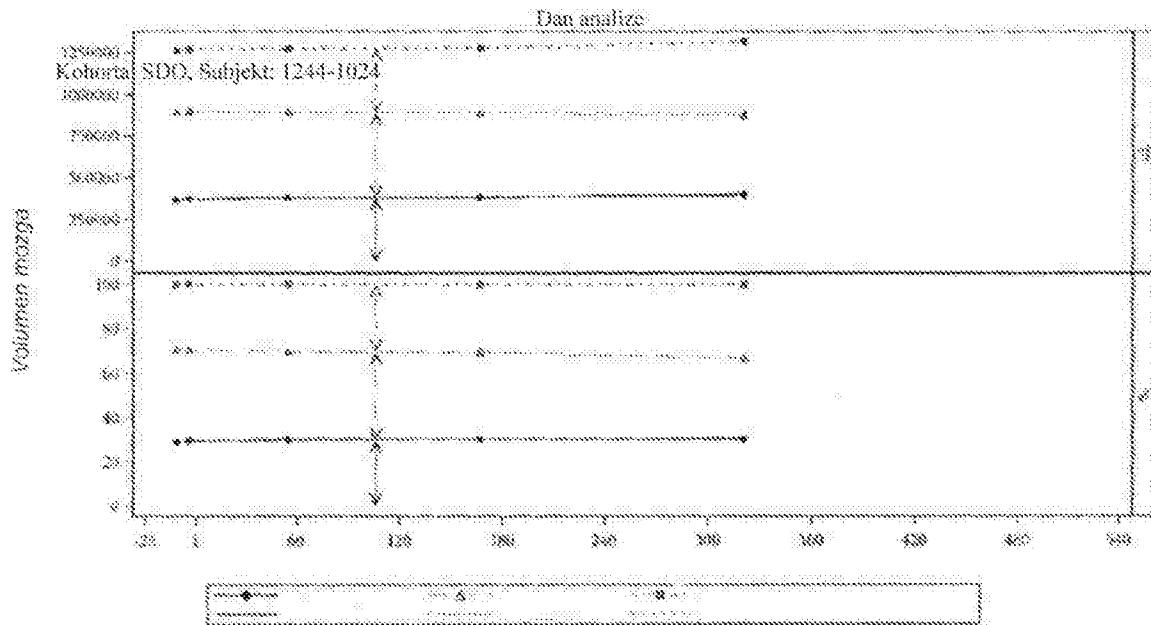
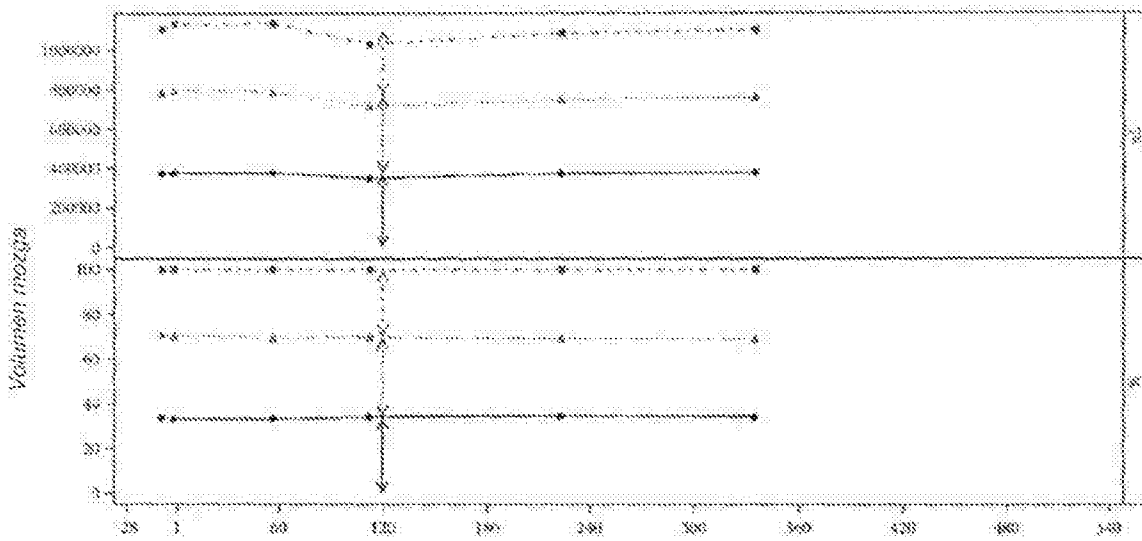
Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

Dan analize
CSF + siva
tvar
siva tvar

Cijeli volumen
mozga (CSF + siva + bijela) Bijela tvar

SLJEA RH

Kohorta: SDO, Subjekt: 1244-1017



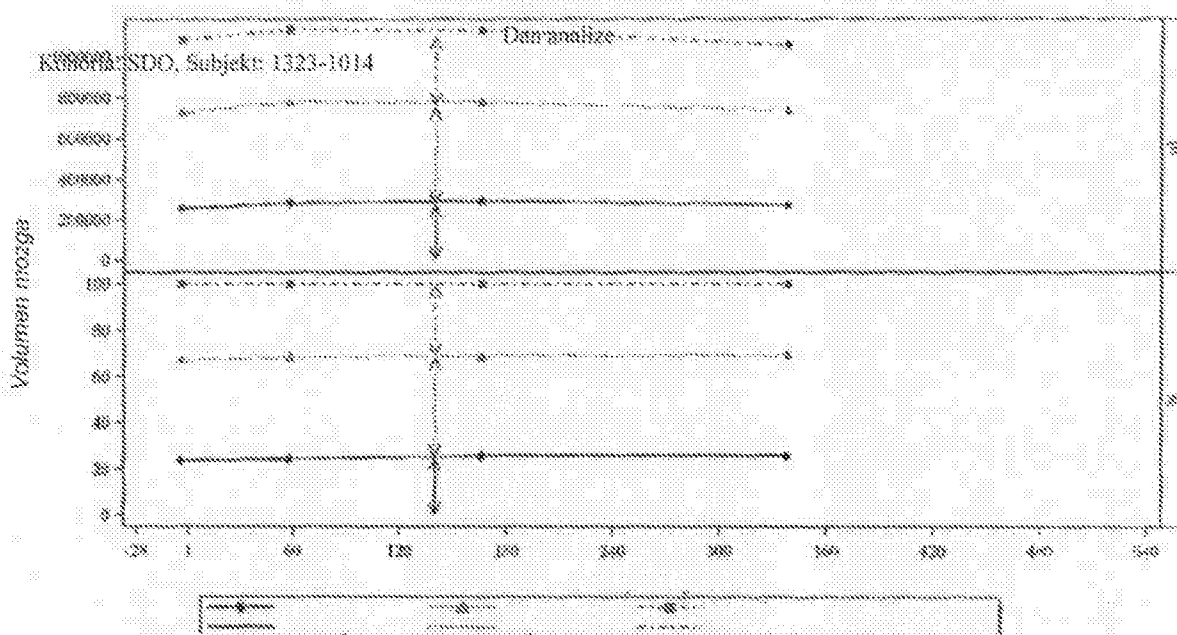
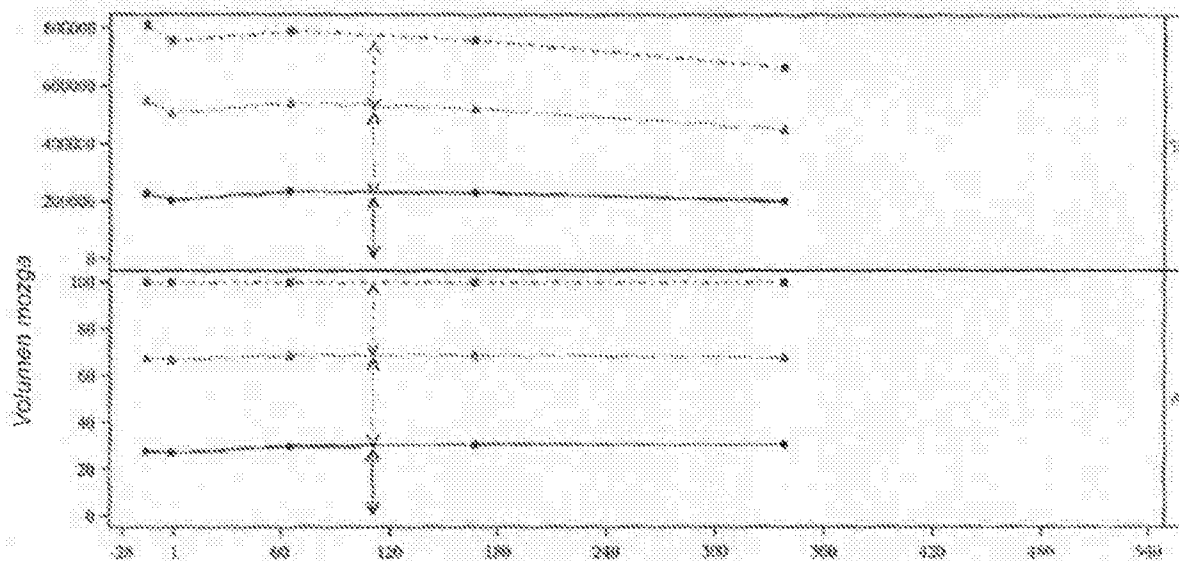
Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

Dan analize
 CSF + Siva
 tvar
 Siva tvar

Bijeli volumen mozga
(CSF + siva + bijela) Bijela tvar

SLIKA 8f

Kohorta: SDO, Subjekt: 1323-1013



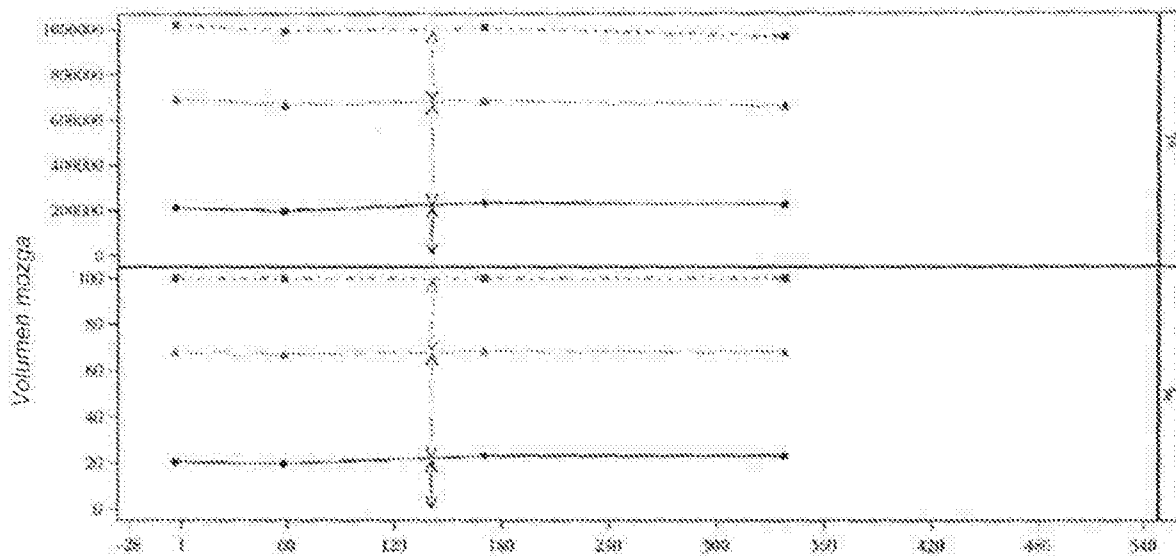
Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

Dan analize
CSF+Siva
tvar
Siva tvar

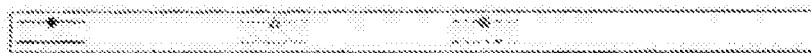
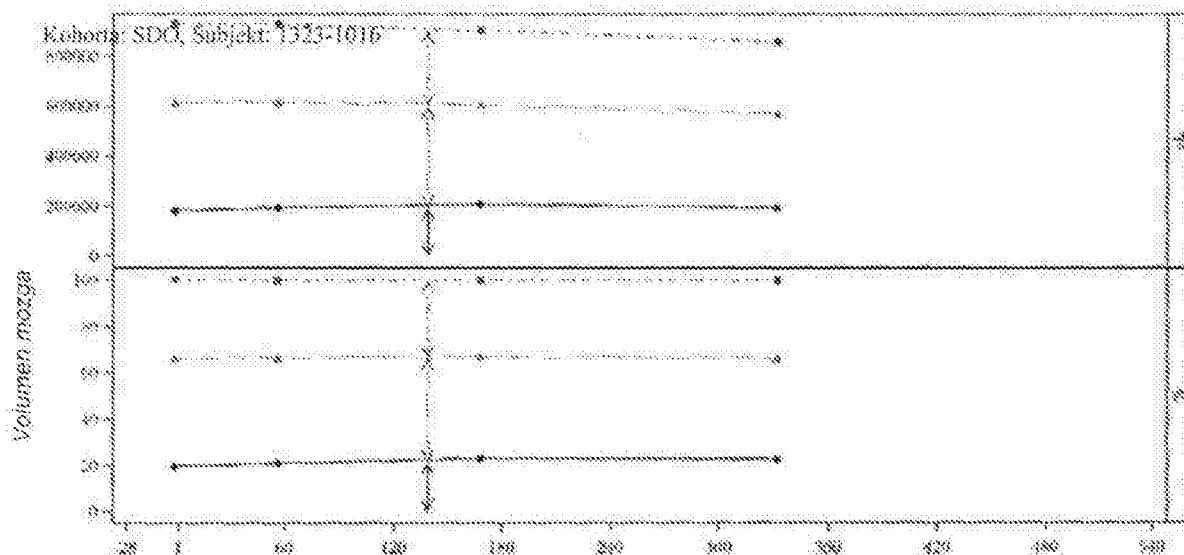
Cijeli volumen mozga
(CSF+siva+bijela) Bijela tvar

SLIKA 81

Kohorta: SDO, Subjekt: 1323-1015



Dan analize



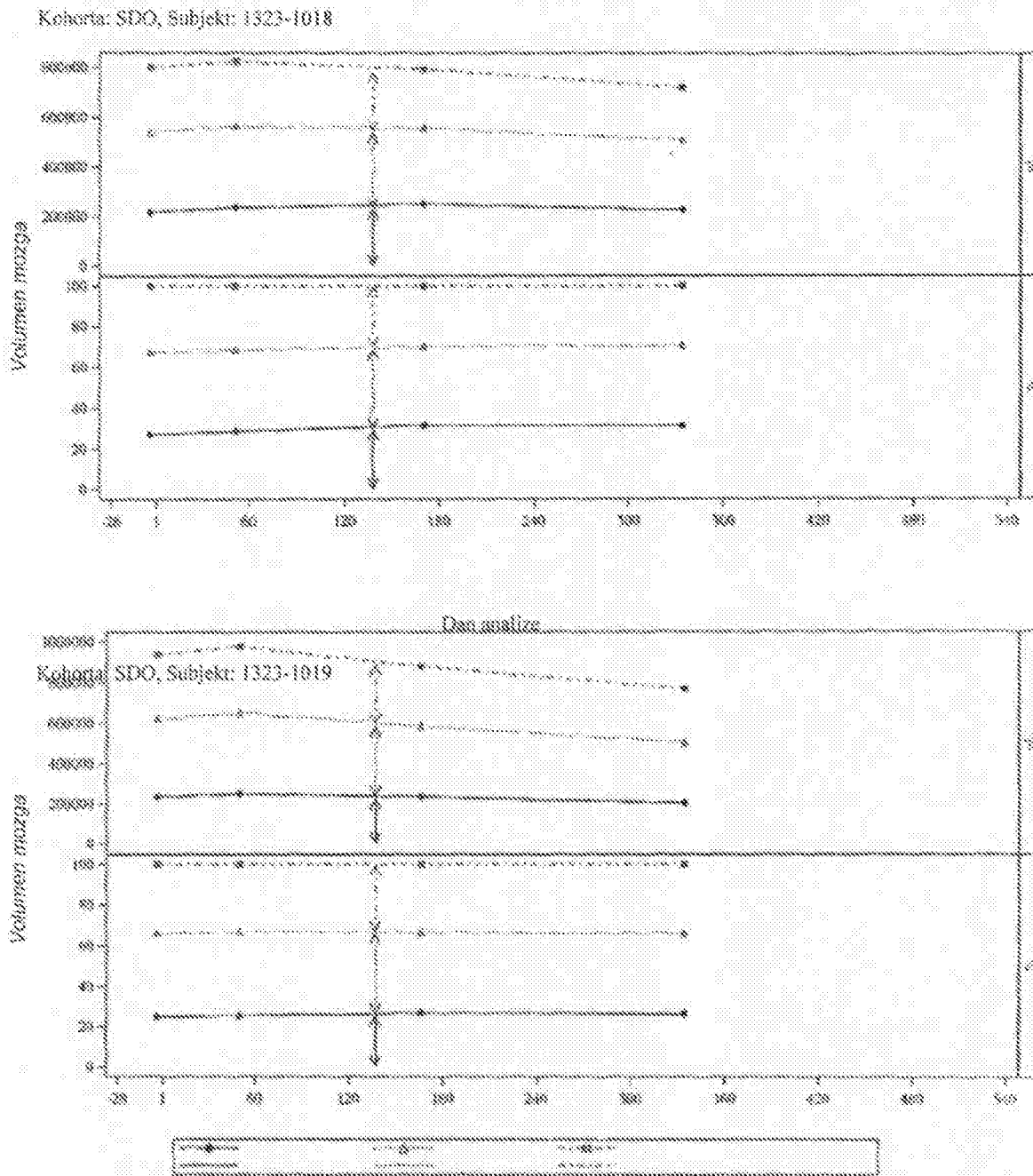
Dan analize

Cerebrospinalna tekućina
Cerebrospinalna tekućina

CSF + siva tvar
Siva tvar

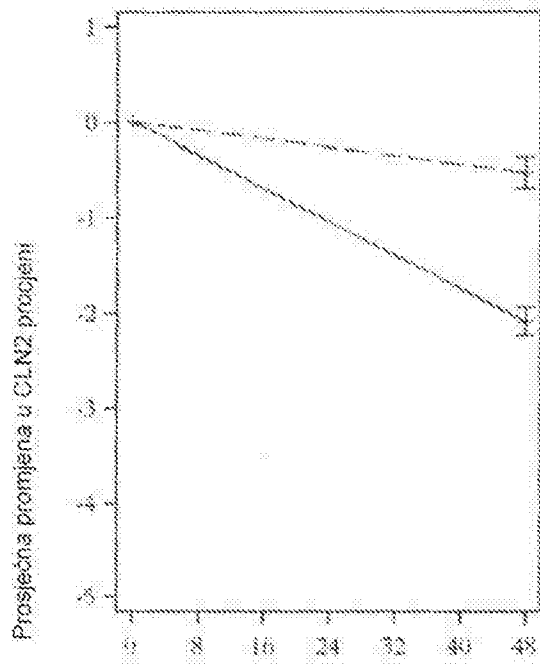
Bijeli volumen mozga
(CSF + siva + bijela) Bijela tvar

SLIKA 8K

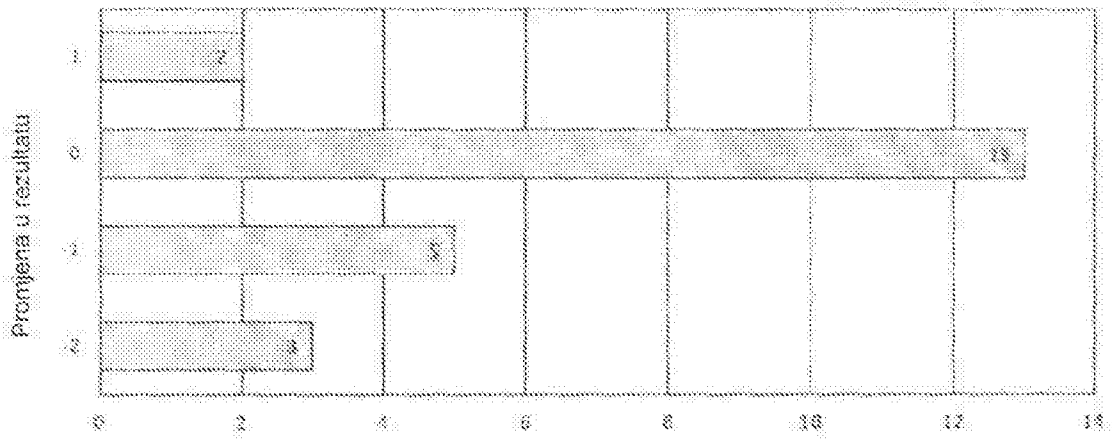


Dan analize
 Cerebrospinalna tekućina CSF+Siva tvar Cijeli volumen mozga
 Cerebrospinalna tekućina (CSF+siva+bijela) Siva tvar Bijelo tvar

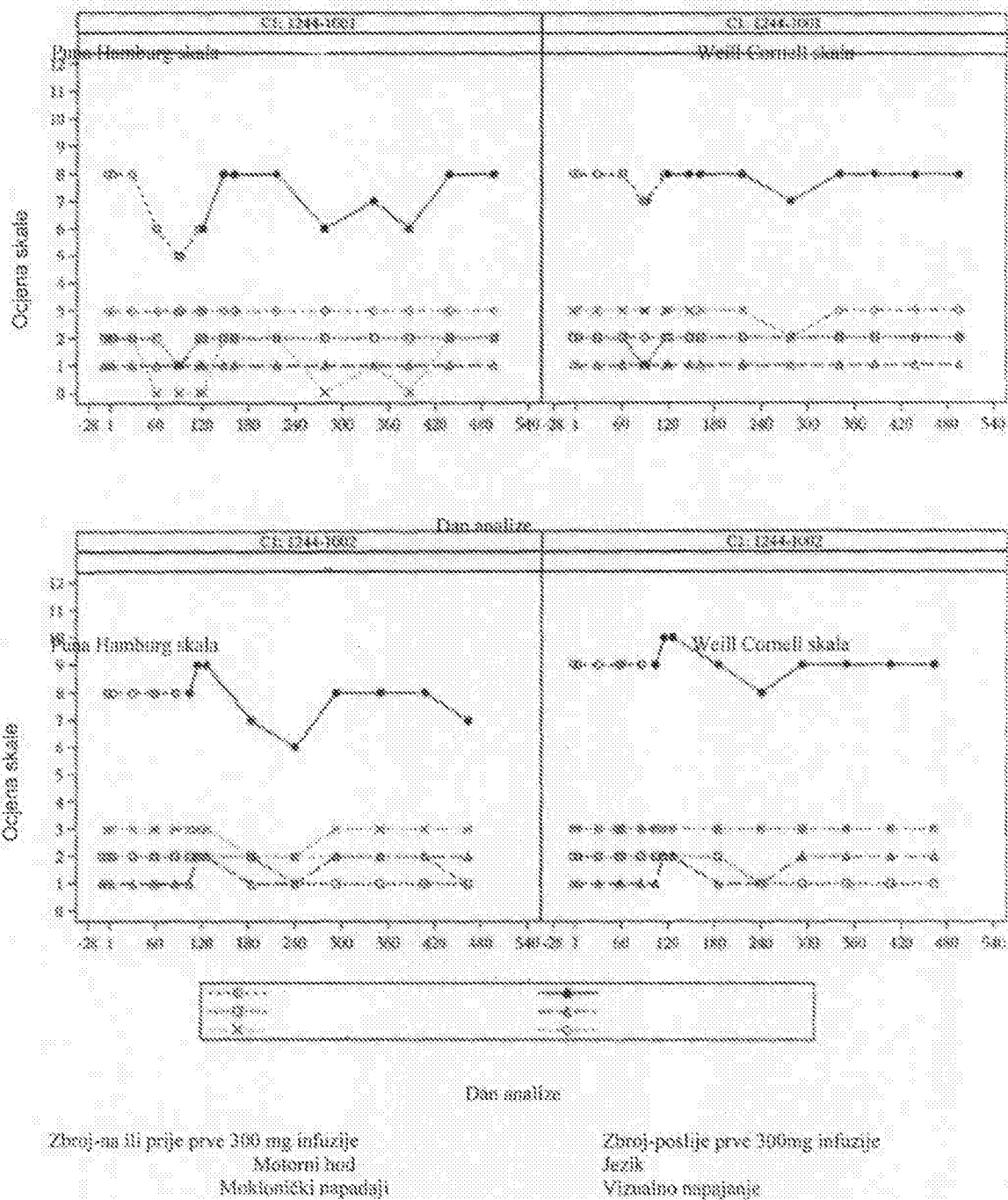
SLIKA 8L



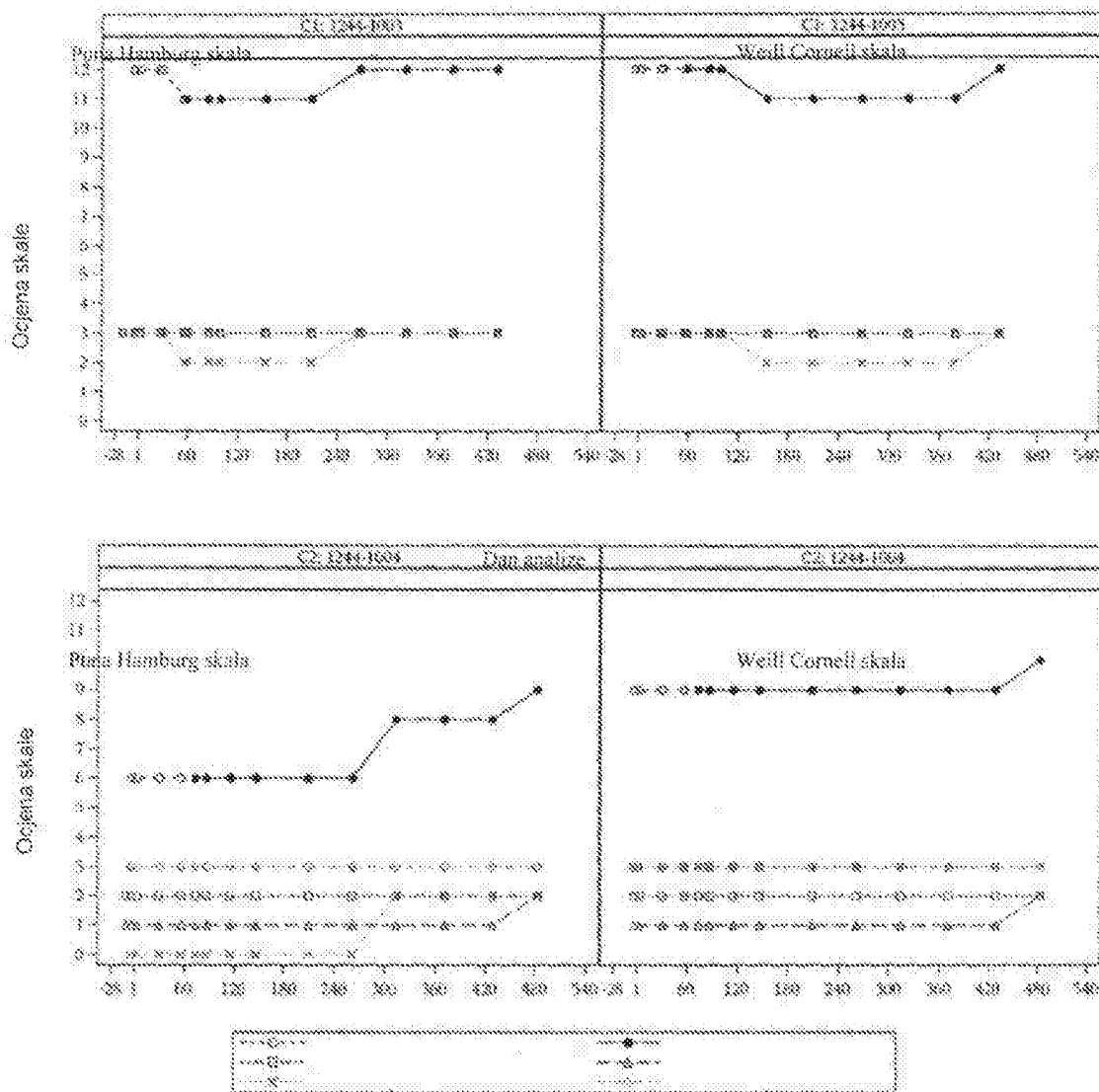
Tjedni
SLIKA 9A



Broj subjekata
SLIKA 9B



SLIKA 10A



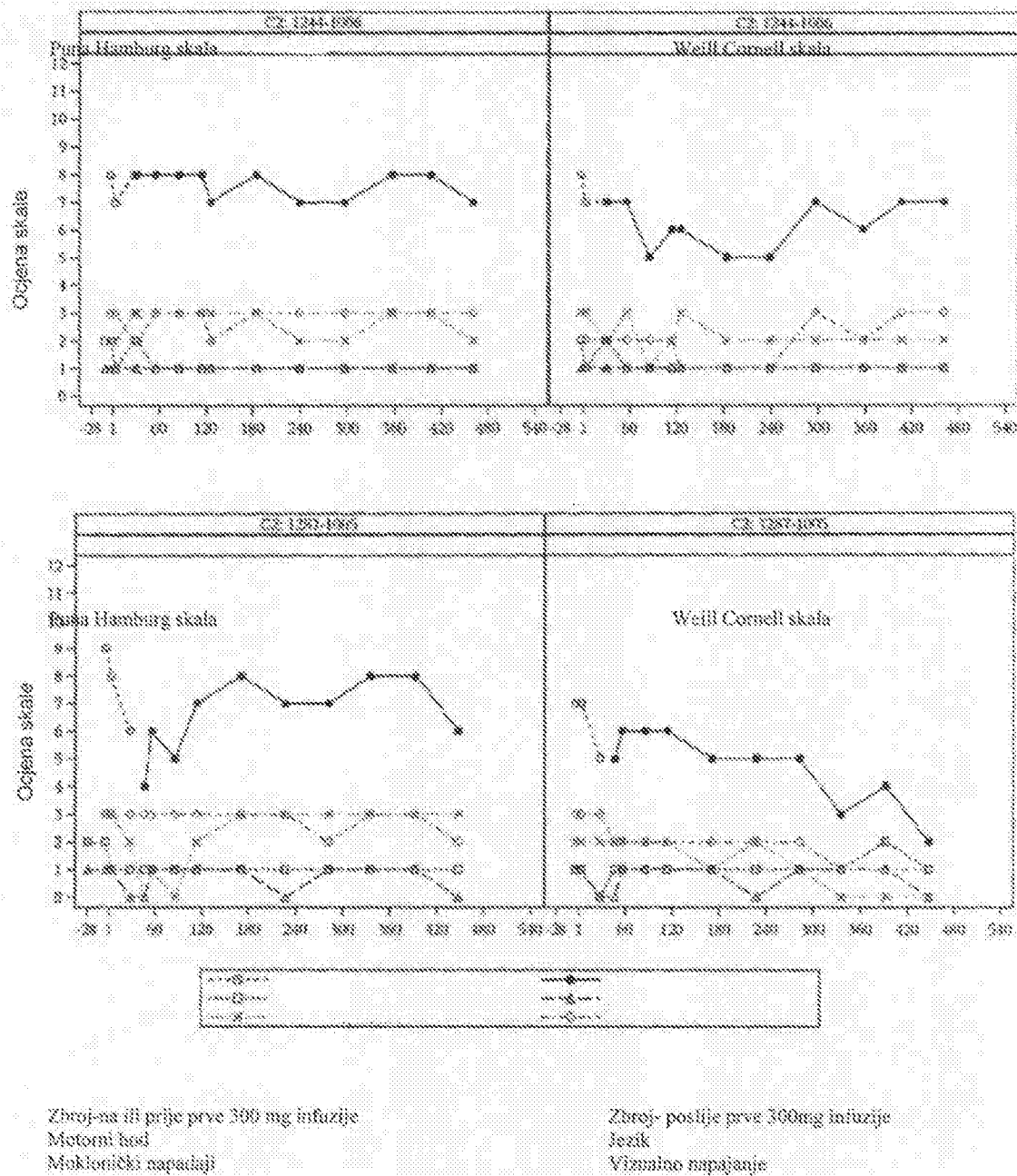
Dan analize

Zbroj-na ili prije prve 300mg infuzije Zbroj- poslije prve 300 mg infuzije

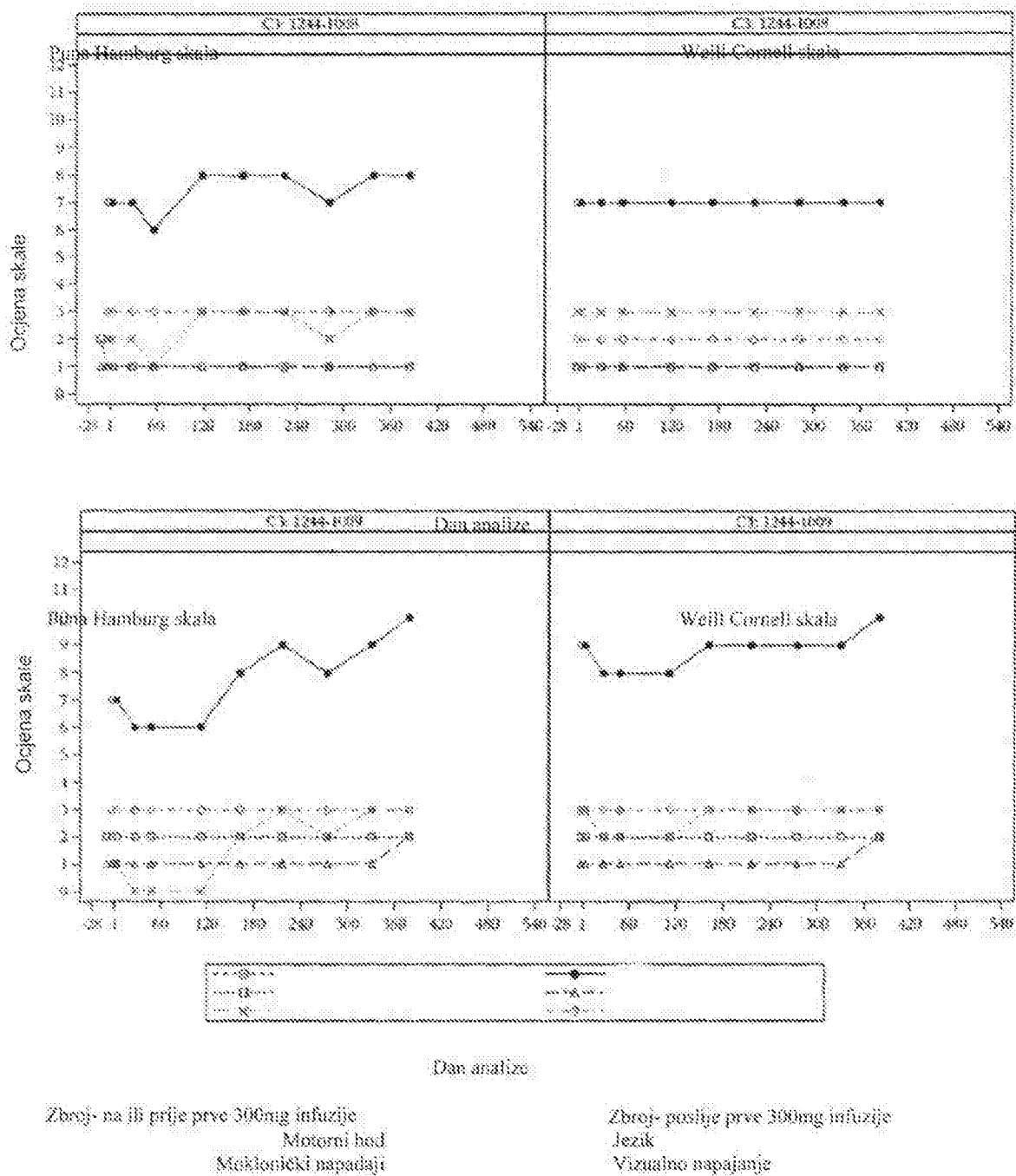
Motorni hod Jezik

Meklenički napadaji Vizualno napajanje

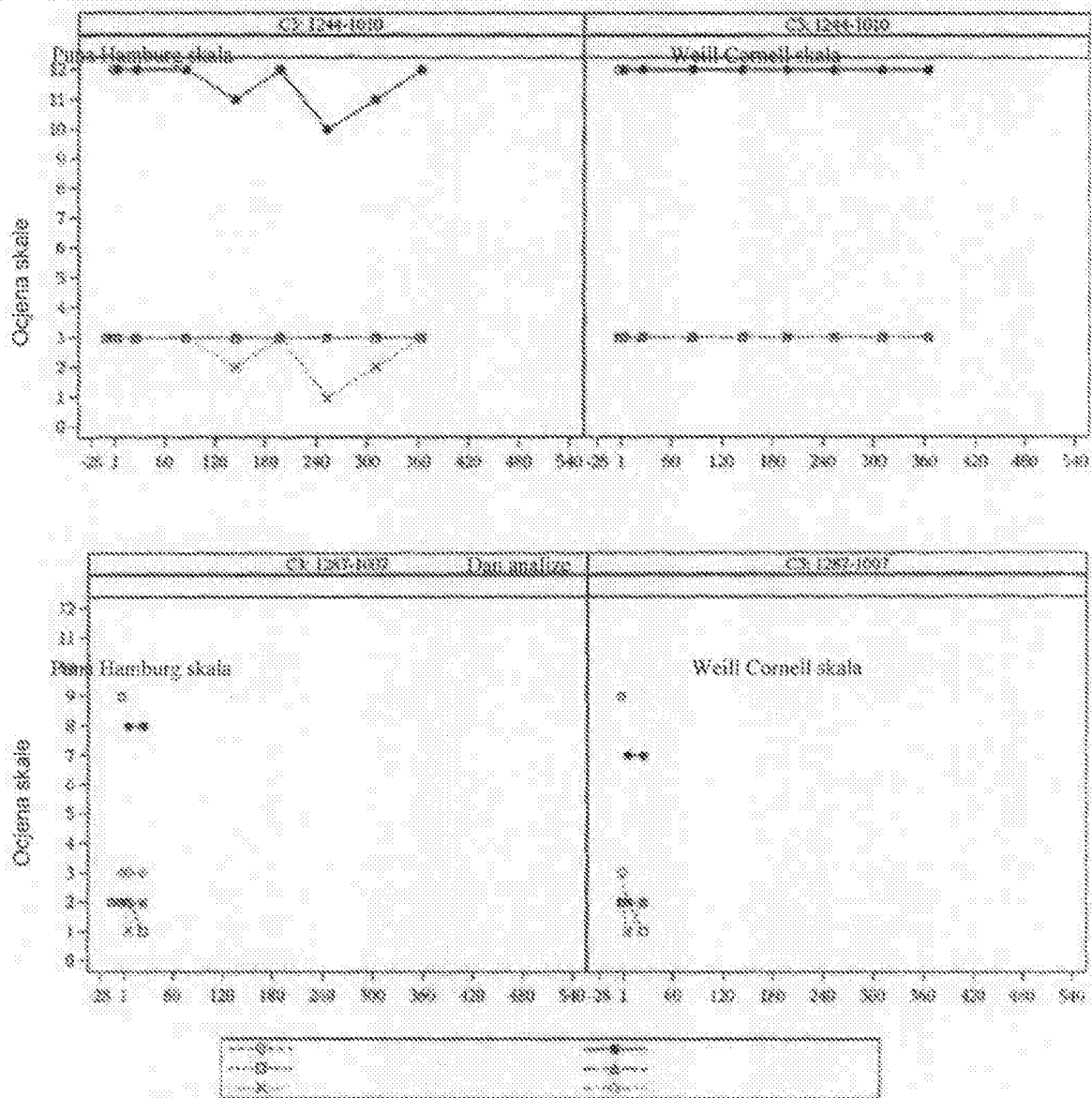
SLIKA 10B



SLIKA 16C



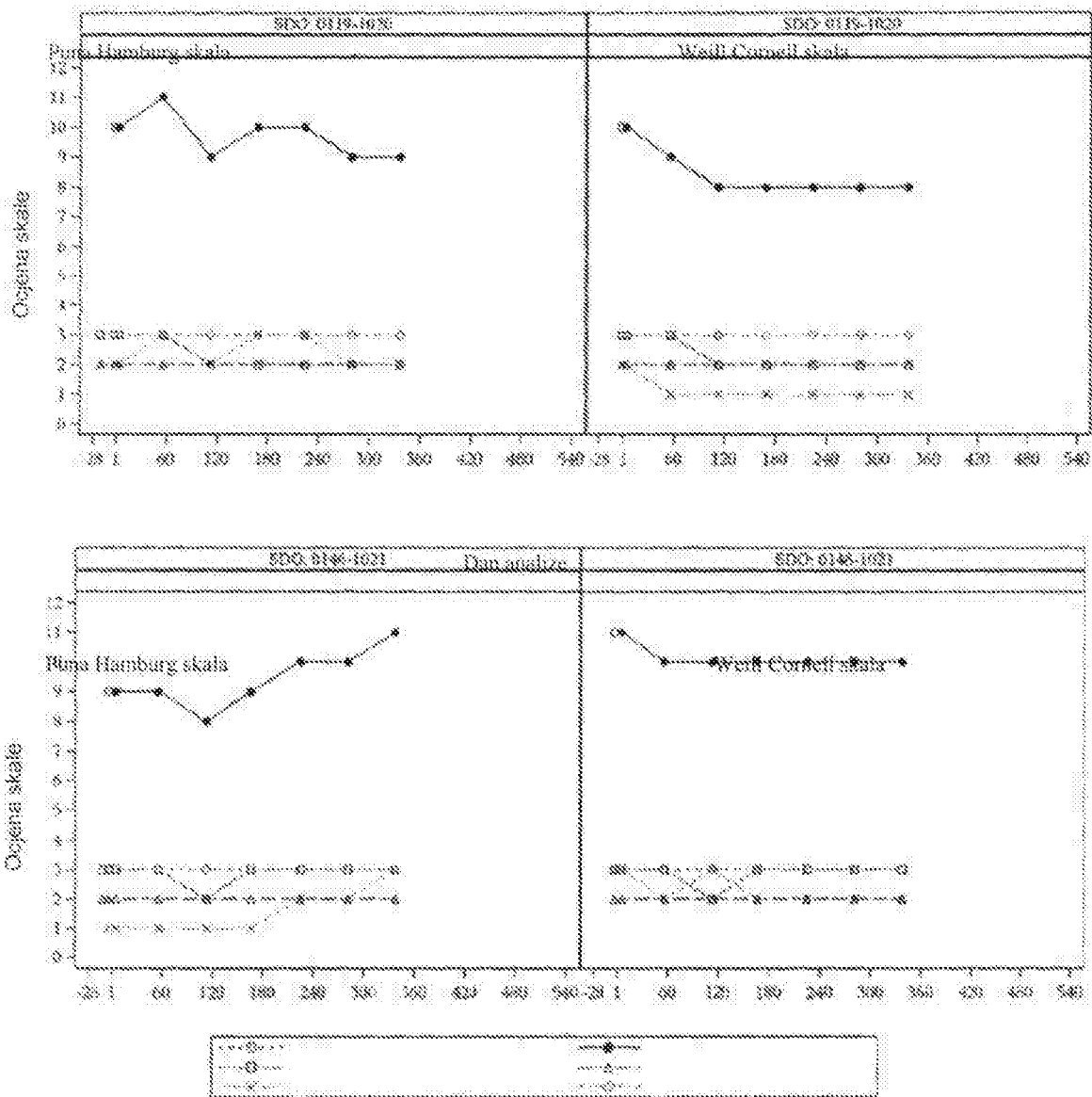
SLIKA 10D



Dan analize

<p>Zbroj- na ili prije poslije prve 300mg infuzije Motorni hod Meklomicki napadaji</p>	<p>Zbroj- poslije prve 300mg infuzije Jezik Vizualno napajanje</p>
--	--

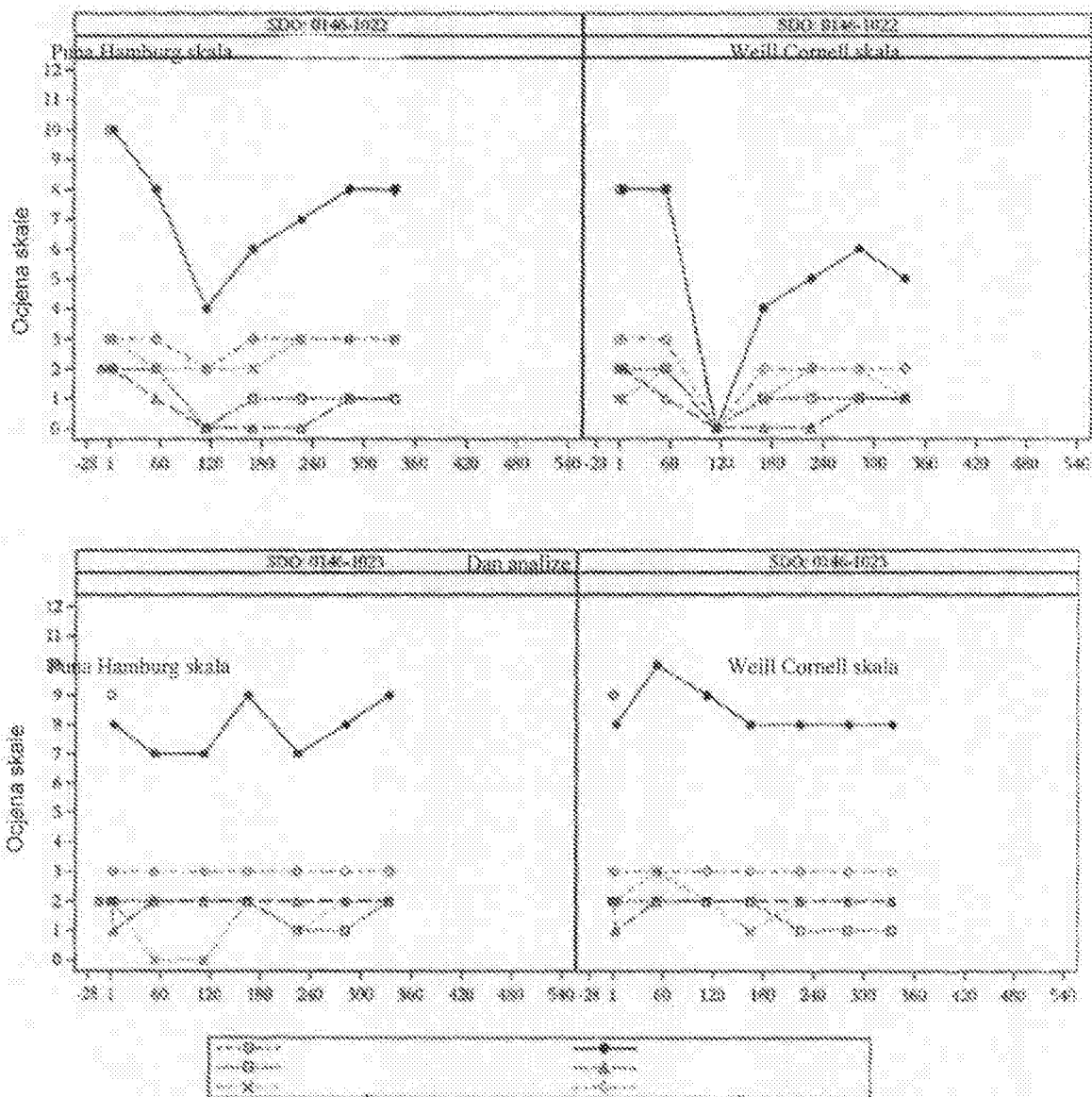
SLIKA 10E



Dan analize

<p>Zbroj- na ih prije prve 300 mg infuzije</p> <p style="padding-left: 40px;">Motorni ritid</p> <p style="padding-left: 40px;">Moklonički napadaji</p>	<p>Zbroj- poslije prve 300 mg infuzije</p> <p style="padding-left: 40px;">Jezik</p> <p style="padding-left: 40px;">Vizualno napajanje</p>
--	---

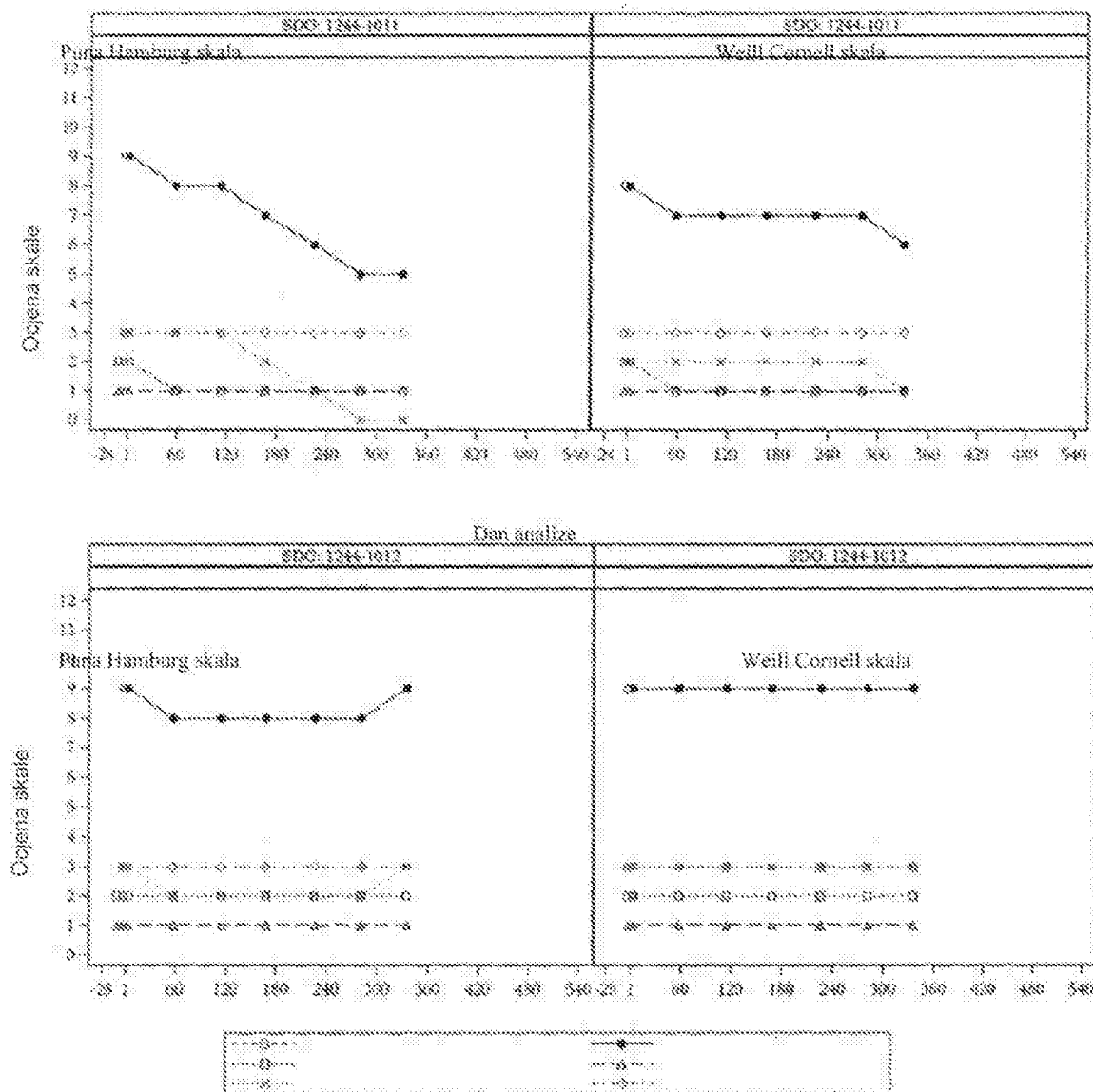
SLIKA 10F



Zbroj- na ili prije prve 300mg infuzije
 Motori hod
 Mislomirni napadaji

Zbroj- poslije prve 300mg infuzije
 Jezik
 Vizualna napajanje

SLIKA 10G

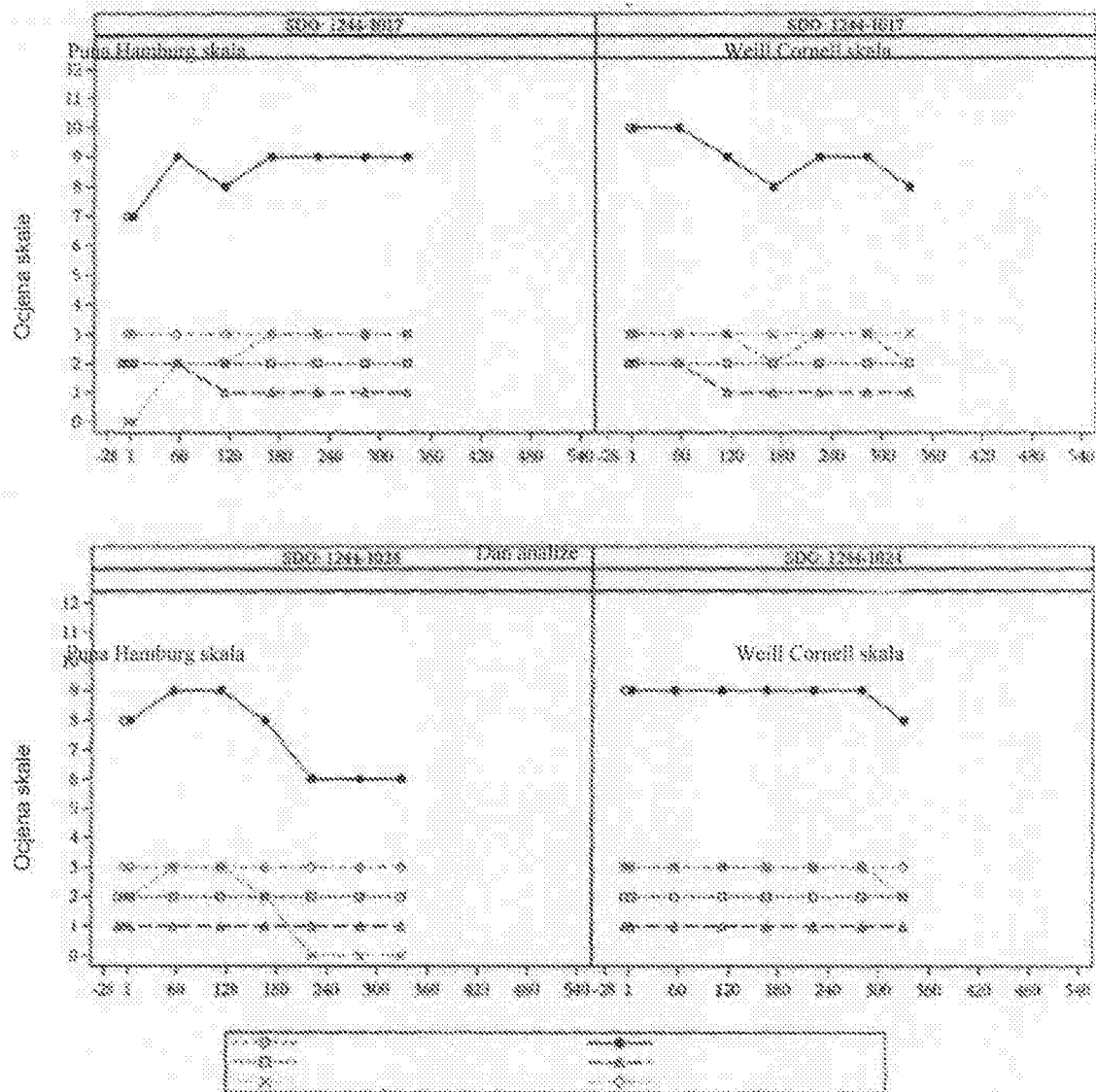


Zbroj- na ili prije prve 300mg infuzije
 Motorni hod
 Jezik
 Vizualno napajanje

Dan analize

Zbroj- poslije prve 300mg infuzije
 Motorni hod
 Jezik
 Vizualno napajanje

SLIKA 10H

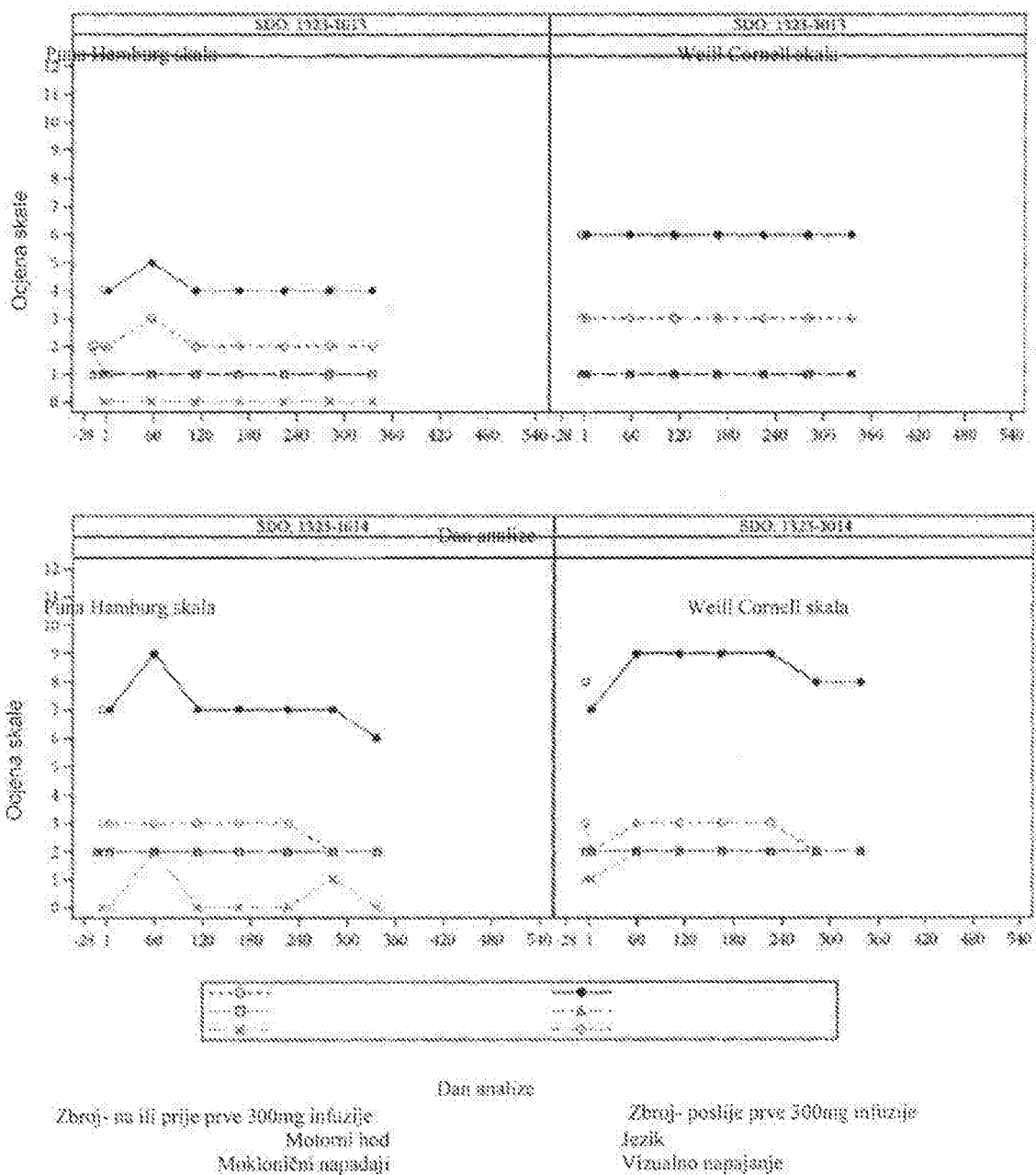


Zdesnj- ni ili prije prve 300 mg infuzije
 Motorni hod
 Mektonički napadaji

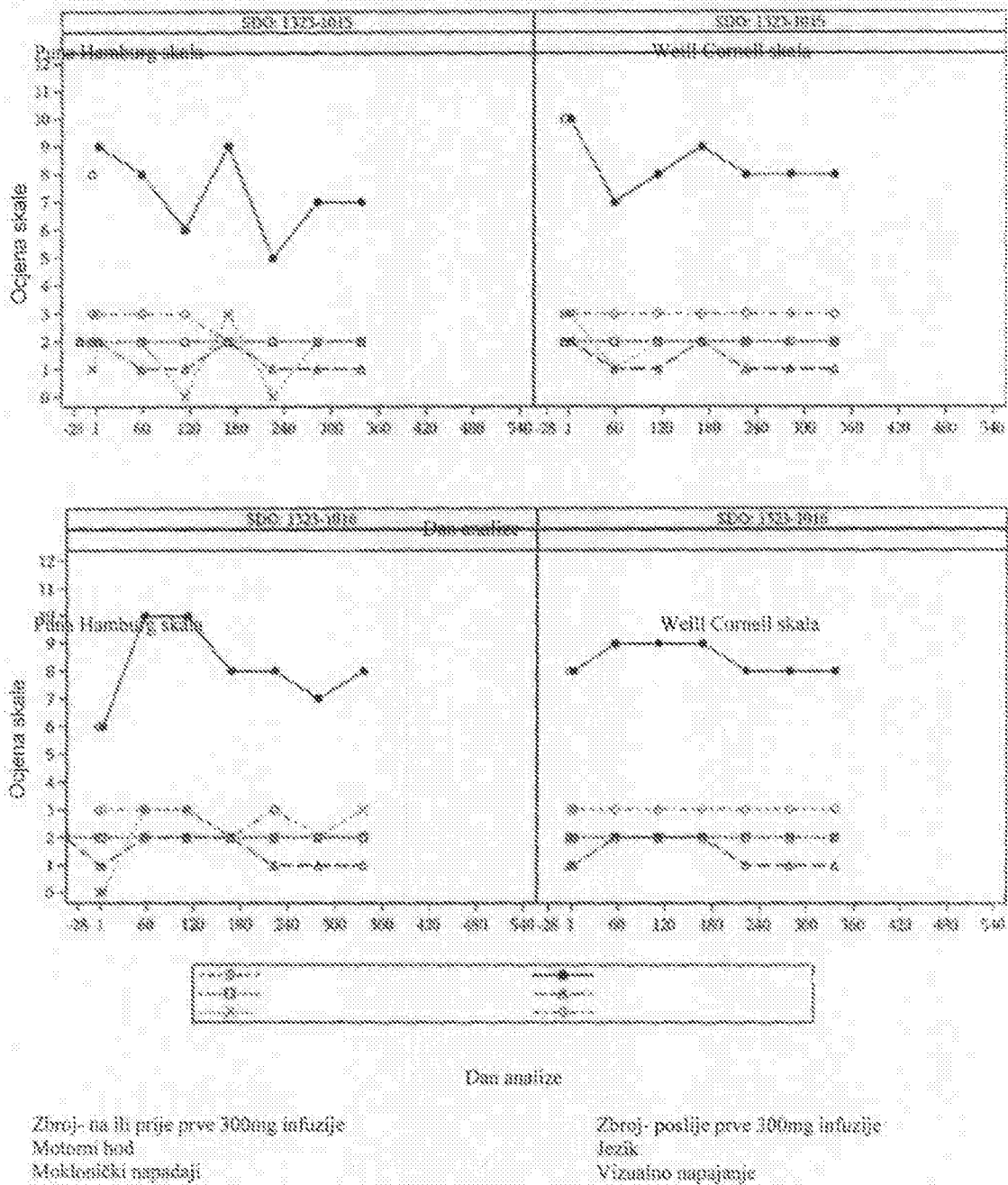
Dian analize

Zdesnj- poslije prve 300mg infuzije
 Jezik
 Vizualno napajanje

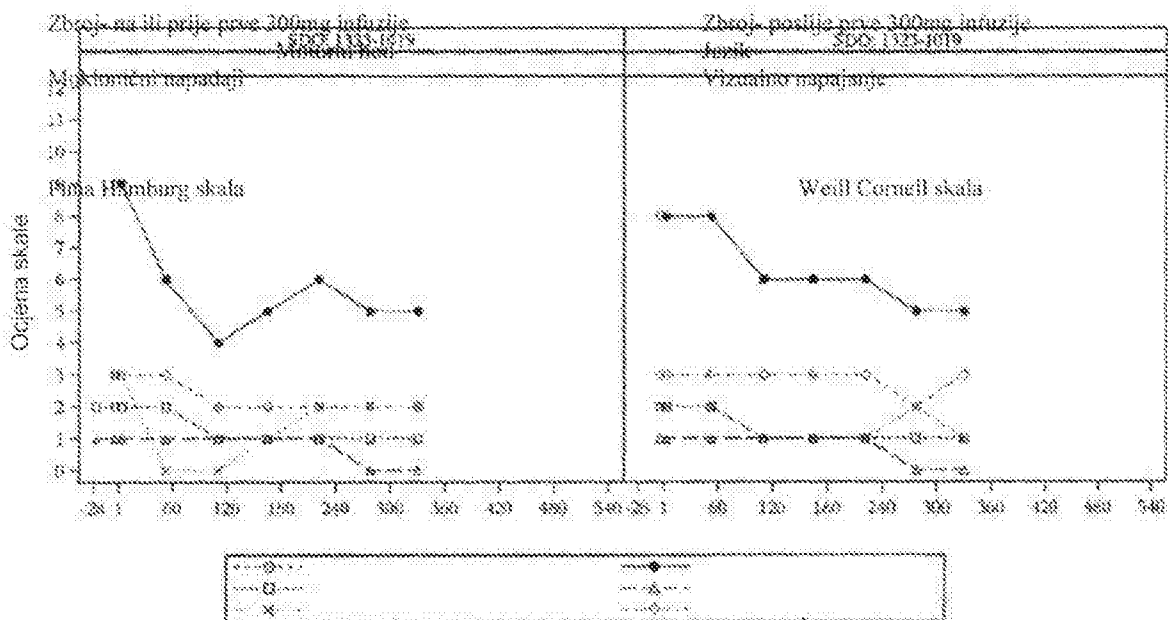
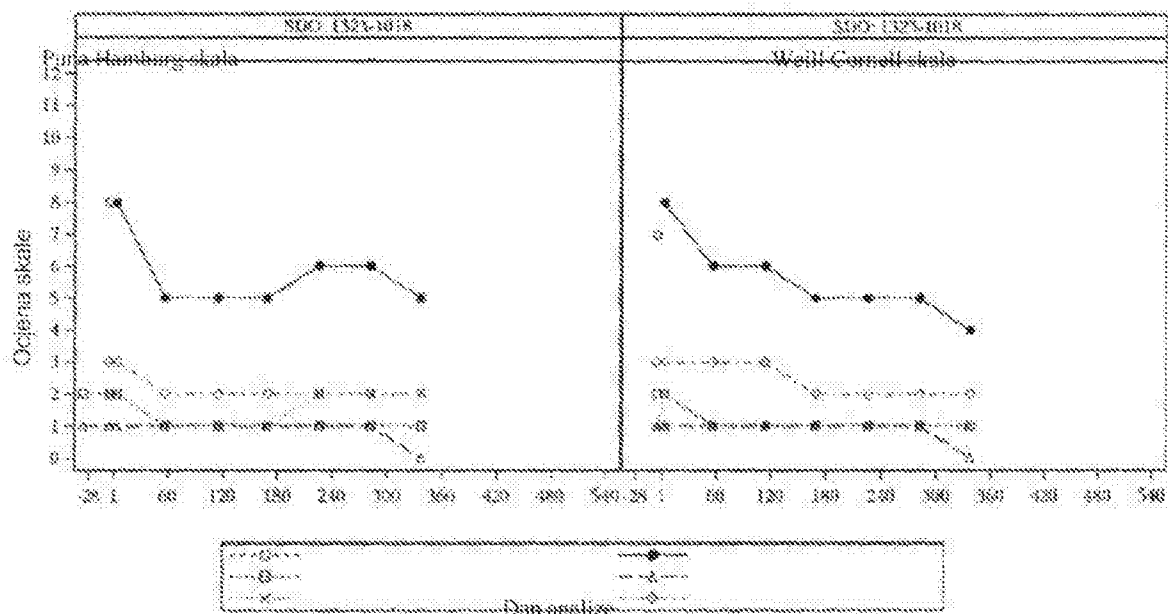
SLIKA 101



SLIKA 101



SLIKA 10K



Day analyze

Zbroj- na ili prije prve 300mg infuzije
 Motorni hod
 Meklouični napadaži

Zbroj- poslije prve 300mg infuzije
 Jezik
 Vizualno napajanje

slika 10L