

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 887 573**

51 Int. Cl.:

A61K 38/46 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.06.2016** **PCT/US2016/039595**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.01.2018** **WO18004517**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2016** **E 16739617 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.08.2021** **EP 3474886**

54 Título: **Métodos para el tratamiento de la hipofosfatasia en niños y adolescentes**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
23.12.2021

73 Titular/es:
ALEXION PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
100 College Street
New Haven, CT 06510, US

72 Inventor/es:
FUJITA, KENJI;
VALLEE, MARC y
PHILLIPS, DAWN

74 Agente/Representante:
LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 887 573 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos para el tratamiento de la hipofosfatasa en niños y adolescentes

CAMPO

La descripción se refiere a métodos para tratar la hipofosfatasa (HPP).

5 ANTECEDENTES

La hipofosfatasa (HPP) es una enfermedad esquelética hereditaria rara con una incidencia de 1 por cada 100.000 nacimientos para las formas más graves de la enfermedad. El trastorno es el resultado de mutaciones de pérdida de función en el gen que codifica la fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNSALP). La HPP presenta una notable gama de síntomas y gravedad en los niños y adolescentes, que pueden incluir raquitismo y debilidad de los músculos proximales. Debido a las deficiencias físicas asociadas con HPP, los niños y adolescentes afectados por HPP a menudo exhiben una movilidad reducida con respecto a sus compañeros sanos. La movilidad es una función compleja que requiere la integración de la fuerza, el equilibrio y la coordinación, todos los cuales se ven afectados por la HPP. Los niños y adolescentes con HPP tienen déficits funcionales en la movilidad que incluyen dificultades para caminar, debilidad (por ejemplo, debilidad de los músculos proximales), estatura más corta, e incapacidad para realizar las actividades de la vida diaria.

Existe la necesidad de métodos que puedan usarse para monitorizar y guiar el tratamiento de HPP en pacientes con problemas de movilidad, particularmente defectos de la marcha, tales como niños y adolescentes.

SUMARIO

La invención se define en las reivindicaciones. Según la presente invención, se proporciona una composición que comprende una fosfatasa alcalina soluble (sALP) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 para uso en el tratamiento de hipofosfatasa (HPP) en un sujeto de 5 a 15 años de edad que tenga una puntuación promedio modificada de la Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha (mPOMA-G) de 5 o menos, en la que dicho sujeto no mostró un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos 0,6, particularmente al menos 1,0 o más, después de la administración de dicha sALP al sujeto a una dosis que proporciona 6 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año, y en la que la dosis de la sALP se incrementa a 9 mg/kg/semana.

Se describen (1) métodos para identificar (a) niños que tienen hipofosfatasa (HPP; por ejemplo, niños que tienen HPP de alrededor de 5 a alrededor de 12 años de edad) y (b) adolescentes que tienen hipofosfatasa (por ejemplo, adolescentes que tienen HPP de alrededor de 12 a alrededor de 15 años de edad) para el tratamiento con una fosfatasa alcalina soluble (sALP; por ejemplo, SEQ ID NO: 1), y (2) el tratamiento de dichos pacientes identificados en (1) y (2) con una sALP. La evaluación de la movilidad orientada al rendimiento - marcha (mPOMA-G) modificada es una medida útil para evaluar la necesidad o la eficacia del tratamiento usando una sALP. Los métodos descritos aquí incluyen el uso de la mPOMA-G para evaluar la eficacia del tratamiento usando una sALP para un paciente que tiene HPP, en los que las mejoras con respecto a una determinada puntuación o valor demuestran que la sALP es eficaz para tratar la HPP.

Los métodos descritos aquí pueden incluir además el uso de la mPOMA-G en combinación con una o más medidas (por ejemplo, la prueba de caminata de seis minutos (6MWT), el cuestionario de evaluación de la salud infantil (CHAQ), y/o el instrumento de recopilación de datos de resultados pediátricos (PODCI)) para evaluar la eficacia del tratamiento utilizando una sALP para un paciente que tiene HPP, en los que las mejoras con respecto a una determinada puntuación o valor demuestran que la sALP es eficaz para tratar la HPP. Además, los métodos pueden incluir adicionalmente cambiar la dosis y/o la frecuencia de administración de la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) para determinar la cantidad eficaz de la sALP a administrar a un niño o adolescente que tiene HPP.

Se describe aquí un método para tratar HPP en un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo juvenil) que tiene una puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 8 o menos (por ejemplo, alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, u 8), que incluye administrar una fosfatasa alcalina soluble (sALP) al paciente en una dosis que proporciona alrededor de 6 mg/kg/semana de la sALP. En particular, la sALP incluye una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (por ejemplo, asfotasa alfa). La administración de la sALP (SEQ ID NO: 1) durante un período de tratamiento de al menos un año da como resultado un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos alrededor de 0,6 (por ejemplo, alrededor de 0,7, alrededor de 0,8, o alrededor de 0,9), particularmente al menos alrededor de 1,0 o más (por ejemplo, alrededor de 1, alrededor de 1,5, alrededor de 2,5, alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4, alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7). Por ejemplo, la administración de la sALP durante un período de tratamiento de al menos un año da como resultado un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos alrededor de 2,5 o más. La puntuación promedio de mPOMA-G del paciente se puede determinar con respecto a una puntuación promedio de mPOMA-G de un sujeto no tratado (por ejemplo, un sujeto con HPP de

alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad) o un sujeto sano (por ejemplo, un sujeto sano de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad).

El método puede incluir además realizar un análisis de mPOMA-G, por ejemplo diariamente, una o más veces por semana (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, o 7 veces por semana), semanalmente, una o más veces por mes (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, o más veces al mes), mensualmente, cada dos meses, cada tres meses, cada seis meses, una o más veces al año (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, o más veces al año), anualmente, cada dos años, cada tres años, o una combinación de los mismos (por ejemplo, semanalmente combinado con cada tres meses, cada seis meses, una o más veces al año, o anualmente).

Por ejemplo, el análisis de mPOMA-G incluye una o más evaluaciones de la marcha, tales como el balanceo del tronco, la postura para caminar, la longitud y altura del paso, la simetría de los pasos, y la continuidad de los pasos. En particular, el balanceo del tronco puede incluir medir al menos uno de: balanceo marcado, uso de ayudas para caminar, abducción del brazo, flexión del tronco, y flexión excesiva de la rodilla; la postura para caminar puede incluir medir la distancia de los talones; la longitud y altura del paso pueden incluir medir el pie derecho del balanceo, la separación del pie derecho del suelo, el pie izquierdo del balanceo y/o la separación del pie izquierdo del suelo; la simetría de los pasos puede incluir medir la longitud del paso derecho y la longitud del paso izquierdo y comparar la longitud del paso derecho con la longitud del paso izquierdo; y la continuidad de los pasos puede incluir medir el despegue del talón en posición terminal en un pie al mismo tiempo que el contacto inicial del golpe del talón en el pie opuesto. Por ejemplo, el análisis de mPOMA-G se realiza antes o después de la administración de la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1).

Por ejemplo, la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) se administra durante un período de tratamiento de al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más (por ejemplo, durante la vida del paciente que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo juvenil). En particular, la puntuación promedio de mPOMA-G del paciente aumenta hasta alrededor de 7,5, alrededor de 8, alrededor de 8,5, alrededor de 9, alrededor de 9,5, alrededor de 10, alrededor de 10,5, alrededor de 11, alrededor de 11,5, o alrededor de 12 después de la administración de la sALP, tal como hasta alrededor de 9 después de la administración de la sALP.

En los aspectos anteriores, el paciente (por ejemplo, un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo juvenil) antes de la administración de la sALP puede presentar una o más alteraciones de la marcha, que incluyen, pero no se limitan a, longitud de paso reducida, continuidad de los pasos reducida, separación reducida del pie del suelo, separación del pie del suelo que excede alrededor de 1 pulgada de la superficie, y postura ensanchada. Por ejemplo, el paciente después de la administración de la sALP muestra una mejora en una o más alteraciones de la marcha, tal como una longitud de paso reducida, una separación reducida del pie del suelo, y una postura ensanchada.

El paciente que tiene HPP puede ser un niño o un adolescente. Además, el paciente puede ser uno al que no se le haya administrado previamente la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1).

Como resultado de los métodos, el aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G se mantiene durante un período durante el cual el paciente (por ejemplo, un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo juvenil) se trata con la sALP (por ejemplo, al menos un año, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o durante la vida del paciente). Por ejemplo, una tasa de cambio por año de la puntuación promedio de mPOMA-G es alrededor de 1,0 o más (por ejemplo, alrededor de 1, alrededor de 1,5, alrededor de 2,5, alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4, alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7).

El método puede incluir además realizar al menos uno de 6MWT, CHAQ y/o PODCI. Por ejemplo, el paciente (por ejemplo, un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo juvenil) puede exhibir un aumento en las actividades de la vida diaria (ADL) después de la administración de la sALP, por ejemplo, en el que el aumento de la ADL se determina a partir de una puntuación del índice de discapacidad de CHAQ o una puntuación de la escala de movilidad y transferencia PODCI del paciente. Además, el paciente puede mostrar una mejora en la capacidad para caminar, por ejemplo, en el que la mejora en la capacidad para caminar se determina a partir de una distancia de 6MWT del paciente. Por ejemplo, el paciente también muestra una menor dependencia de un dispositivo de asistencia (por ejemplo, una silla de ruedas, aparatos ortopédicos, muletas, o una órtesis) para la movilidad después de la administración de la sALP.

Además, el método puede incluir adicionalmente determinar la actividad de la sALP en al menos uno de suero y sangre del paciente (por ejemplo, un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo juvenil). Por ejemplo, la actividad de la sALP incluye medir al menos uno de fosfoetanolamina (PEA), pirofosfato inorgánico (PPI), y/o piridoxal 5'-fosfato (PLP) en la muestra de suero y/o sangre del paciente.

En los aspectos anteriores, la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) se administra al paciente (por ejemplo, un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo

juvenil) diariamente o semanalmente, tal como dos veces por semana, tres veces por semana, cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, o siete veces por semana. Por ejemplo, la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) se administra al paciente en una dosis de 2 mg/kg para la administración tres veces por semana, una dosis de 3 mg/kg para la administración tres veces por semana, o una dosis de 1 mg/kg para la administración seis veces por semana. Además, la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) se administra al paciente una vez al día y/o en días consecutivos o alternos. Además, la dosis de la sALP se incrementa (por ejemplo, de 6 mg/kg/día hasta 9 mg/kg/día) si la puntuación promedio de mPOMA-G no aumenta en, por ejemplo, al menos alrededor de 1,0 o más (por ejemplo, alrededor de 1, alrededor de 1,5, alrededor de 2,5, alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4, alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7) después de un período de tratamiento de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o durante la vida del paciente). En particular, la dosis de la sALP puede aumentarse si la puntuación promedio de mPOMA-G no aumenta en, por ejemplo, al menos alrededor de 2,5 o más (por ejemplo, alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4, alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7) después de un período de tratamiento de al menos un año.

Según la presente invención, la composición que comprende la sALP se usa para tratar HPP en un sujeto de 5 a 15 años de edad que tiene una puntuación promedio de Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha (mPOMA-G) modificada de 5 o menos, en la que dicho sujeto no mostró un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos 0,6, particularmente al menos 1,0 o más, después de la administración de dicha sALP al sujeto en una dosis que proporciona 6 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año, y en la que la dosis de la sALP se aumenta a 9 mg/kg/semana.

El paciente (por ejemplo, un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tiene HPP, tal como un paciente que tiene HPP de comienzo juvenil) puede presentar uno o más síntomas de HPP, que pueden incluir, pero no se limitan a, alteración de la marcha, deformidad ósea, dolor articular, dolor óseo, fractura ósea, debilidad muscular, dolor muscular, raquitismo, pérdida prematura de los dientes temporales, mineralización ósea incompleta, niveles elevados de fosfoetanolamina (PEA) en sangre y/u orina, niveles elevados de pirofosfato inorgánico (PPi) en sangre y/u orina, niveles elevados de piridoxal 5'-fosfato (PLP) en sangre y/u orina, hipomineralización, costillas raquílicas, hipercalcemia, baja estatura, convulsiones relacionadas con HPP, aumento de peso insuficiente, craneosinostosis, y/o depósito de cristales de pirofosfato cálcico dihidratado. En particular, el paciente muestra una mejora en uno o más síntomas de HPP después de la administración de la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1).

En los aspectos anteriores, la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) se formula en una composición farmacéutica, con al menos un portador farmacéuticamente aceptable, tal como disolución salina (por ejemplo, cloruro de sodio y fosfato de sodio). Por ejemplo, el al menos un portador farmacéuticamente aceptable incluye cloruro de sodio 150 mM y fosfato de sodio 25 mM. Además, la composición farmacéutica está formulada para administración subcutánea, intramuscular, intravenosa, oral, nasal, sublingual, intratecal, o intradérmica. En particular, la composición farmacéutica está formulada para administración subcutánea.

En los aspectos anteriores, la sALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) es fisiológicamente activa frente a PEA, PPi y PLP, catalíticamente competente para mejorar la mineralización esquelética en el hueso, y/o es el dominio extracelular soluble de una fosfatasa alcalina. En particular, la sALP incluye o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

Definiciones

Como se usa aquí, “un” o “una” significa “al menos uno” o “uno o más”, a menos que se indique lo contrario. Además, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Como se usa aquí, “alrededor de” se refiere a una cantidad que es $\pm 10\%$ del valor mencionado, y es preferiblemente $\pm 5\%$ del valor mencionado, o más preferiblemente $\pm 2\%$ del valor mencionado. Por ejemplo, la expresión “alrededor de” se puede usar para modificar todas las dosis o intervalos enumerados aquí en $\pm 10\%$ de los valores enumerados o puntos finales de intervalo.

Por “asfotasa alfa” se entiende una proteína de fusión de TNSALP humana (hTNSALP) formulada para el tratamiento de HPP. La asfotasa alfa (STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc.) es una proteína de fusión que incluye una glicoproteína soluble de dos cadenas polipeptídicas idénticas, en la que cada cadena polipeptídica incluye los restos de aminoácidos 1-726 de SEQ ID NO: 1. La estructura de cada cadena polipeptídica incluye el dominio catalítico de hTNSALP, el dominio Fc de inmunoglobulina G₁ humana, y un péptido decaaspartato utilizado como dominio de diana ósea (la estructura hTNSALP-Fc-D₁₀). Las dos cadenas polipeptídicas están unidas covalentemente por dos enlaces de disulfuro. La asfotasa alfa ha sido aprobada con el nombre comercial STRENSIQ® en Estados Unidos de América, Europa, Japón, Canadá, Israel, Australia, y Corea.

Las expresiones “actividades de la vida diaria” o “ADL”, como se usan aquí, se refieren a actividades de rutina que los sujetos sanos realizan a diario sin requerir ayuda, tales como movilidad funcional o transferencia (por ejemplo,

caminar), bañarse y ducharse, vestirse, autoalimentarse, e higiene y aseo personal. Como se describe aquí, las composiciones terapéuticas (por ejemplo, composiciones que incluyen una fosfatasa alcalina soluble (sALP), tal como asfotasa alfa) se pueden administrar a un paciente con HPP para mejorar la capacidad del paciente (por ejemplo, un adolescente o un niño) para realizar las ADL.

5 Como se usa aquí, “promedio” se refiere a un valor numérico que expresa la media o mediana de un conjunto de datos. La media de un conjunto de datos se calcula dividiendo la suma de los valores del conjunto entre su número. La mediana de un conjunto de datos se calcula, por ejemplo, organizando todos los valores en el conjunto de datos desde el valor más bajo hasta el valor más alto, y seleccionando el valor central. En un conjunto de datos con un número par de valores, la mediana puede calcularse, por ejemplo, como la media de los dos valores centrales.

10 La expresión “resto de dianización ósea”, como se usa aquí, se refiere a una secuencia de aminoácidos de entre 1 y 50 restos de aminoácidos (tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 24, 25, 26, 28, 30, 32, 34, 35, 36, 38, 40, 42, 44, 45, 46, 48, o 50 restos de aminoácidos) de longitud que tiene una afinidad por la matriz ósea, de modo que el resto de dianización ósea, singularmente, tiene una afinidad de unión *in vivo* por la matriz ósea que es de alrededor de 10^{-6} M hasta alrededor de 10^{-15} M (por ejemplo, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 10^{-13} M, 10^{-14} M, o 10^{-15} M). Por ejemplo, el resto de dianización ósea puede incluir una serie de restos consecutivos de aspartato (D) y/o glutamato (E) de número “n”, en el que n = 1 a 50, por ejemplo, n = 3-30, por ejemplo, 5-15, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50.

20 La expresión “catalíticamente competente”, como se usa aquí, se refiere a una sALP que hidroliza el pirofosfato inorgánico (PPI) inhibidor de la mineralización ósea para proporcionar fosfato inorgánico (Pi), disminuyendo así las concentraciones extracelulares de PPI. Una sALP catalíticamente competente mejora la mineralización esquelética en el hueso al regular la concentración de PPI.

25 El término “dosis” se refiere a una cantidad determinada de un agente activo (por ejemplo, una sALP, tal como asfotasa alfa) calculada para producir un efecto terapéutico deseado (por ejemplo, tratamiento de HPP, por ejemplo una reducción en uno o muchos síntomas de HPP, tal como un impedimento de movilidad) que se administra a un paciente con una frecuencia particular y/o en una cantidad definida. Una forma de dosificación puede incluir una sALP, tal como asfotasa alfa, en asociación con cualquier excipiente, portador, o diluyente farmacéutico adecuado.

Por “dominio extracelular” se entiende cualquier porción extracelular funcional de una proteína nativa, por ejemplo fosfatasa alcalina. En particular, un dominio extracelular carece de un péptido señal.

30 Por “Fc” se entiende una región de fragmento cristizable de una inmunoglobulina, por ejemplo IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-3 o IgG-4, que incluye los dominios CH2 y CH3 de la cadena pesada de inmunoglobulina. Fc también puede incluir cualquier parte de la región de bisagra que une las regiones Fab y Fc. La Fc puede ser de cualquier mamífero, incluyendo el ser humano, y puede modificarse postraduccionalmente (por ejemplo, mediante glicosilación). En un ejemplo no limitante, Fc puede ser la región de fragmento cristizable de IgG-1 humana que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20.

35 Por “fragmento” se entiende una porción de un polipéptido o molécula de ácido nucleico que contiene, preferiblemente, al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más, pero menos que la longitud total de una molécula de ácido nucleico o polipéptido de referencia. Por ejemplo, un fragmento de polipéptido puede contener 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 400, 500, 600, 700, o más restos de aminoácidos del polipéptido de referencia. Los fragmentos de sALP ejemplares tienen restos de aminoácidos 18-498, 18-499, 18-500, 18-501, 18-502, 18-503, 18-504, 18-505, 18-506, 18-507, 18-508, 18-509, 18-510, 18-511, o 18-512 de una ALP (por ejemplo, SEQ ID NO: 2-6), y pueden incluir porciones adicionales C-terminales y/o N-terminales. La actividad biológica de tales fragmentos se puede evaluar en ensayos estándar conocidos en la técnica, por ejemplo mediante un análisis no compartimental (NCA), para calcular los parámetros farmacocinéticos del fragmento de sALP.

50 El término “marcha”, como se usa aquí, se refiere a la locomoción de un sujeto (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP) que se logra moviéndose sobre un pie, tal como caminando, por ejemplo, en el que al menos un pie está en contacto con el suelo en todo momento. En particular, la marcha humana se refiere a la propulsión hacia adelante bípeda y bifásica del centro de gravedad del cuerpo humano sobre una superficie, tal como un suelo. La marcha normal para un sujeto humano es cuando una extremidad generalmente proporciona apoyo, mientras que la otra extremidad avanza en preparación para sostener la otra extremidad. El ciclo de la marcha (por ejemplo, una zancada) se compone de una fase de balanceo y una fase de apoyo, en la que la fase de apoyo incluye el apoyo inicial doble, el apoyo de una sola extremidad, y el doble terminal. La duración de un ciclo de marcha es el intervalo entre los contactos superficiales iniciales secuenciales de la misma extremidad.

55 La expresión “alteración de la marcha”, como se usa aquí, se refiere a anomalías en la marcha normal de un sujeto (por ejemplo, un niño o adolescente humano, tal como un niño o adolescente humano con HPP) en las que el sujeto presenta deficiencias en la capacidad para ponerse de pie y realizar movimientos de pasos para la locomoción. Los impedimentos de la marcha pueden incluir, pero no se limitan a, una longitud de paso reducida, una separación

reducida del pie del suelo, y una postura más amplia. Por ejemplo, las alteraciones de la marcha pueden dar lugar, por ejemplo, a una marcha como un pato, en la que el paciente muestra una alternancia exagerada de los movimientos laterales del tronco con una elevación exagerada de la cadera, o una marcha de estepaje, en la que la pierna que avanza se eleva hacia arriba para que los dedos de los pies puedan separarse el suelo. Las evaluaciones de la marcha y las alteraciones de la marcha en un paciente (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP) pueden incluir, por ejemplo, determinar la longitud y la altura del paso, la simetría de los pasos, la continuidad de los pasos, el balanceo del tronco, y la postura para caminar del paciente.

Los términos “hipofosfatasa” y “HPP”, como se usan aquí, se refieren a un trastorno esquelético hereditario raro causado por, por ejemplo, una o más mutaciones de pérdida de función en el gen ALPL (fosfatasa alcalina, hígado/hueso/riñón), que codifica la fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNSALP). La HPP puede caracterizarse además como HPP infantil, HPP perinatal (por ejemplo, HPP perinatal benigna o HPP perinatal letal), odonto-HPP, HPP de adolescente, o HPP del adulto. Por ejemplo, “HPP infantil” describe a un paciente que tiene HPP entre los 5 y los 12 años, mientras que “HPP de adolescente” describe a un paciente que tiene HPP entre los 12 y los 18 años, tal como un paciente que tiene HPP entre los 12 y los 15 años. La edad de aparición de HPP, tal como cuando el sujeto presenta síntomas de HPP, también se puede clasificar como, por ejemplo, HPP de comienzo perinatal, HPP de comienzo infantil, y HPP de comienzo juvenil (por ejemplo, durante la niñez).

La expresión “fenotipo de HPP”, como se usa aquí, se refiere a cualquiera de alteración de la marcha, deformidad ósea, dolor articular, dolor óseo, fractura ósea, debilidad muscular, dolor muscular, raquitismo (por ejemplo, defectos en el cartílago de la placa de crecimiento), pérdida prematura de dientes temporales, mineralización ósea incompleta, niveles elevados de fosfoetanolamina (PEA) en sangre y/u orina, PPI, piridoxal 5'-fosfato (PLP), hipomineralización, costillas raquílicas, hipercalcemia, baja estatura, convulsiones relacionadas con HPP, aumento de peso insuficiente, craneosinostosis, y/o depósito de cristales de pirofosfato cálcico dihidratado (CPPD) en articulaciones que conduce, por ejemplo, a condrocalcinosis y muerte prematura. Sin estar tan limitado, un fenotipo de HPP puede documentarse mediante uno o más de los déficits de la marcha, como se describe aquí; retraso del crecimiento con una disminución de la longitud de huesos largos (que incluye, pero no se limita a, fémur, tibia, húmero, radio, y/o cúbito); una disminución de la densidad media del hueso total y una disminución de la mineralización ósea en huesos tales como fémur, tibia, costillas y metatarsos, y falange; una disminución de la mineralización de los dientes; y una pérdida prematura de dientes temporales (por ejemplo, aplasia, hipoplasia, o displasia del cemento dental). Sin estar tan limitado, la corrección o prevención de un defecto de mineralización ósea se puede observar mediante uno o más de los siguientes: una reducción en los déficits de la marcha, un aumento de la longitud de huesos largos, un aumento de la mineralización en el hueso y/o los dientes, una corrección de flexión de las piernas, reducción del dolor óseo, y reducción del depósito de cristales de CPPD en las articulaciones.

Las expresiones “Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha modificada” y “mPOMA-G”, como se usan aquí, se refieren a una versión modificada de la Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha (POMA-G), tal como una POMA-G que se modifica para proporcionar una sensibilidad mejorada para las alteraciones de la marcha en los componentes de POMA-G que pertenecen a pacientes con HPP (por ejemplo, un niño o un adolescente con HPP). La POMA es una herramienta validada que consiste en 2 subpruebas: la POMA-G (Marcha) y la POMA-B (Equilibrio). Véase Tinetti et al. (Am J Med 80:429-434, 1986) para obtener una descripción de la POMA-G. El rendimiento de la marcha de un paciente con HPP (por ejemplo, un niño o un adolescente con HPP) se puede evaluar mediante una prueba de mPOMA-G, por ejemplo, en la que el análisis de POMA-G se ha modificado para eliminar los componentes menos apropiados, es decir, el inicio de la marcha y los componentes de la trayectoria, de la POMA-G. Por ejemplo, el análisis de mPOMA-G puede proporcionar una puntuación total de 12 puntos, de manera similar a los componentes de POMA-G, de longitud y altura del paso, simetría de los pasos, continuidad de los pasos, balanceo del tronco, y postura para caminar, en el que una puntuación de 12 indica que no hay alteraciones en la marcha, y puntuaciones más bajas indican alteraciones en la marcha.

Por “excipiente, portador, o diluyente farmacéuticamente aceptable” se entiende al menos un excipiente, portador, o diluyente, respectivamente, que es fisiológicamente aceptable para el paciente tratado y que no altera las propiedades terapéuticas de un agente activo (por ejemplo, una sALP, tal como asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1)) con el que se administra. Una sustancia portadora farmacéuticamente aceptable ejemplar es la disolución salina fisiológica. Por ejemplo, el portador farmacéuticamente aceptable puede incluir cloruro de sodio (por ejemplo, cloruro de sodio 150 mM) y fosfato de sodio (por ejemplo, fosfato de sodio 25 mM). Otros excipientes, portadores, y diluyentes fisiológicamente aceptables, y sus formulaciones, son conocidos por los expertos en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (20ª edición), A. Gennaro, Ed., 2000, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. Por ejemplo, un excipiente, portador, o diluyente farmacéuticamente aceptable puede incluir fosfato de sodio dibásico, heptahidratado; fosfato de sodio monobásico, monohidratado; y cloruro de sodio a un pH entre 7,2 y 7,6.

Por “composición farmacéutica” se entiende una composición que contiene un agente activo, tal como una sALP (por ejemplo, una sALP que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, tal como asfotasa alfa), como se describe aquí, formulado con al menos un excipiente, vehículo, o diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede fabricarse o venderse con la aprobación de una agencia reguladora gubernamental como parte de un régimen terapéutico para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o evento (por ejemplo, HPP) en un paciente (por

ejemplo, un paciente con HPP, tal como un niño o adolescente). Las composiciones farmacéuticas se pueden formular, por ejemplo, para administración subcutánea, administración intravenosa (por ejemplo, como una disolución estéril libre de émbolos en partículas y en un sistema disolvente adecuado para uso intravenoso), para administración oral (por ejemplo, un comprimido, cápsula, cápsula oblonga, cápsula de gel, o jarabe), o cualquier otra formulación descrita aquí, por ejemplo, en forma de dosificación unitaria. Por ejemplo, una sALP (por ejemplo, asfotasa alfa; SEQ ID NO: 1) se puede formular como una composición farmacéutica que incluye fosfato de sodio dibásico, heptahidratado; fosfato de sodio monobásico, monohidratado; y cloruro de sodio a un pH entre 7,2 y 7,6 para la administración a un paciente en, por ejemplo, una dosis semanal que oscila, por ejemplo, de alrededor de 0,5 mg/kg/semana a alrededor de 140 mg/kg/semana, por ejemplo alrededor de 0,8 mg/kg/semana hasta alrededor de 50 mg/kg/semana, o alrededor de 1 mg/kg/semana hasta alrededor de 10 mg/kg/semana (por ejemplo, alrededor de 6 o alrededor de 9 mg/kg/semana).

La expresión “fisiológicamente activo”, como se usa aquí, se refiere a una sALP que hidroliza fosfoetanolamina (PEA), pirofosfato inorgánico (PPi), y piridoxal 5'-fosfato (PLP) para proporcionar Pi, disminuyendo así las concentraciones extracelulares de PEA, PPi, y PLP.

Las expresiones “sALP”, “fosfatasa alcalina soluble”, y “dominio extracelular de una fosfatasa alcalina” se usan indistintamente, y se refieren a una ALP soluble, no unida a membrana, o un dominio o un fragmento biológicamente activo de la ALP soluble no unida a la membrana. Las sALP incluyen, por ejemplo, una fosfatasa alcalina que carece de un anclaje de glicolípido C-terminal (secuencia señal de GPI, por ejemplo polipéptidos que incluyen o consisten en los restos de aminoácidos 18-502 de una TNSALP humana (SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5, o 6)). En particular, una TNSALP puede incluir, por ejemplo, un polipéptido que incluye o consiste en los restos de aminoácidos 1-485 de SEQ ID NO: 1, tal como asfotasa alfa, o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con los restos de aminoácidos 1-485 de SEQ ID NO: 1. Las sALP incluyen además, por ejemplo, ortólogos de mamíferos de TNSALP humana, tales como una TNSALP de macaco (SEQ ID NO: 7), una TNSALP de rata (SEQ ID NO: 8), una TNSALP canina (SEQ ID NO: 9), una TNSALP porcina (SEQ ID NO: 10), una TNSALP murina (SEQ ID NO: 11), una TNSALP bovina (SEQ ID NOs: 12-14), o una TNSALP felina (SEQ ID NO: 15). Las sALP también incluyen formas solubles no unidas a la membrana de PALP humana (por ejemplo, polipéptidos que incluyen o consisten en restos de aminoácidos 18-502 de SEQ ID NOs: 16 o 17), GCALP (por ejemplo, polipéptidos que incluyen o consisten en restos de aminoácidos 18-502 de SEQ ID NO: 18) e IALP (por ejemplo, polipéptidos que incluyen o consisten en restos de aminoácidos 18-502 de SEQ ID NO: 19), y variantes adicionales y análogos de las mismas que retienen la actividad de fosfatasa alcalina, por ejemplo capacidad de hidrolizar PPi, tales como variantes que tienen al menos 90, 95, 97, o 99% de identidad de secuencia con una cualquiera de SEQ ID NOs: 7-19. Una sALP, en particular, carece del péptido señal N-terminal (por ejemplo, aa 1-17 de SEQ ID NOs: 2-6, 8, 11-13, o 15, o aa 1-25 de SEQ ID NO: 7). La sALP usada en la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

Por “polipéptido de fusión de sALP” se entiende un polipéptido que tiene la estructura Z-sALP-Y-espaciador-X-W_n-V, Z-W_n-X-espaciador-Y-sALP-V, Z-sALP-Y-W_n-X-espaciador-V, y Z-W_n-X-sALP-Y-espaciador-V. En particular, el polipéptido de fusión de sALP puede ser Z-sALP-Y-espaciador-X-W_n-V o Z-W_n-X-espaciador-Y-sALP-V, tal como hTNSALP-Fc-D₁₀ (por ejemplo, asfotasa alfa; SEQ ID NO: 1). Uno cualquiera de X, Y, Z, V, el espaciador, y/o W_n puede estar ausente o puede ser una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido. Por ejemplo, X, Y, Z, y V pueden ser una secuencia dipeptídica (por ejemplo, leucina-lisina o ácido aspártico-isoleucina), tal como un enlazador de dos restos en la posición Y (por ejemplo, leucina-lisina) y un enlazador de dos restos en la posición X (por ejemplo, ácido aspártico-isoleucina). Los espaciadores incluyen, por ejemplo, una región Fc de una inmunoglobulina, tal como la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20. W_n puede ser un resto de dianización ósea como se define aquí, por ejemplo, que tiene una serie de restos consecutivos de aspartato (D) o glutamato (E), en el que n = 1 a 50, por ejemplo, n = 3-30, por ejemplo, 5-15, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50.

Por “péptido señal” se entiende un péptido corto (5-30 aminoácidos de longitud) en el extremo N-terminal de un polipéptido que dirige un polipéptido hacia la ruta secretora (por ejemplo, el espacio extracelular). El péptido señal típicamente se escinde durante la secreción del polipéptido. La secuencia señal puede dirigir el polipéptido a un compartimento u orgánulo intracelular, por ejemplo el aparato de Golgi. Una secuencia señal puede identificarse por homología, o actividad biológica, con un péptido con la función conocida de dirigir un polipéptido a una región particular de la célula. Un experto en la técnica puede identificar un péptido señal mediante el uso de software fácilmente disponible (por ejemplo, Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705, BLAST, o programas PILEUP/PRETTYBOX). Un péptido señal puede ser aquel que sea, por ejemplo, sustancialmente idéntico a los restos de aminoácidos 1-17 de SEQ ID NOs: 2-6 o los restos de aminoácidos 1-25 de SEQ ID NO: 7.

Como se usa aquí, cuando se hace referencia a que una secuencia polipeptídica o de ácido nucleico tiene “al menos un X% de identidad de secuencia” con una secuencia de referencia, en la que “X” es un número real, significa que al menos X por ciento de los restos de aminoácidos o nucleótidos en el polipéptido o ácido nucleico, respectivamente, son idénticos a los de la secuencia de referencia cuando las secuencias están alineadas de manera óptima. Un alineamiento óptimo de secuencias se puede determinar de diversas maneras que están dentro de la pericia en la

técnica, por ejemplo el algoritmo de alineación de (Smith et al., J. Mol. Biol. 147:195-7, 1981) y BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; Altschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-10, 1990). Se puede acceder a estos y otros algoritmos de alineación mediante software informático disponible públicamente, tal como "Best Fit" Smith y Waterman, *Advances in Applied Mathematics*, 482-489, 1981) como se incorpora en GeneMatcher Plus (Schwarz y Dayhoff, *Atlas of Protein Sequence and Structure*, Dayhoff, M.O., Ed p. 353-358, 1979), BLAST, BLAST-2, BLAST-P, BLAST-N, BLAST-X, WU-BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, CLUSTAL, Megalign (DNASTAR), u otro software/hardware para la alineación. Además, los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para medir la alineación, incluyendo los algoritmos necesarios para lograr una alineación óptima a lo largo de la longitud de las secuencias que se comparan.

Los términos "paciente" o "sujeto" se refieren a un mamífero, que incluye, pero no se limita a, un ser humano (por ejemplo, un ser humano que tiene HPP, tal como un niño o adolescente), o un mamífero no humano, tal como un bovino, equino, canino, ovino, o felino.

"Administración parenteral", "administrada por vía parenteral" y otras frases gramaticalmente equivalentes, como se usan aquí, se refieren a un modo de administración distinto de la administración enteral y tópica, normalmente por inyección, e incluyen, sin limitación, inyección subcutánea, intradérmica, intravenosa, intranasal, intraocular, pulmonar, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intrapulmonar, intraperitoneal, transtraqueal, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural, intracerebral, intracraneal, intracarótida, e intraesternal, e infusión.

Por "cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende una cantidad de una sALP (por ejemplo, una sALP que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, tal como asfotasa alfa) que es suficiente para mejorar sustancialmente, tratar, prevenir, retrasar, suprimir, o detener al menos un síntoma de HPP (por ejemplo, una alteración de la movilidad, tal como una alteración de la marcha). Una cantidad terapéuticamente eficaz de una sALP descrita aquí puede depender de la gravedad de la HPP y del estado, peso y estado general del paciente, y puede ser determinada por un experto normal teniendo en cuenta dichos factores. Una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita aquí se puede administrar a un paciente en una sola dosis o en múltiples dosis administradas durante un período de tiempo.

Por "tratando", "tratar", o "tratamiento" se entiende el manejo médico de un paciente (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP) con la intención de curar, mejorar, estabilizar, reducir la probabilidad de, o prevenir HPP, y/o el manejo de un paciente que presenta o es probable que tenga HPP, por ejemplo mediante la administración de una composición farmacéutica, tal como una sALP (por ejemplo, una sALP que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, tal como asfotasa alfa). El tratamiento puede ocurrir durante un período de tratamiento en el que se administra una sALP durante un período de tiempo (por ejemplo, días, meses, años, o más) para tratar a un paciente que tiene HPP, tal como un niño o un adolescente con HPP que presenta déficits en la marcha. Este término incluye el tratamiento activo dirigido a la mejora de la HPP; tratamiento sintomático dirigido a síntomas de HPP, tal como déficit en la marcha; tratamiento preventivo dirigido a minimizar el desarrollo de HPP, por ejemplo en un paciente que aún no tiene HPP, pero que es susceptible o está en riesgo de desarrollar HPP; y tratamiento de apoyo empleado para complementar otra terapia específica dirigida a la mejora de la HPP.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es una imagen para la evaluación de la marcha utilizada en la clave para el Análisis de Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha modificada (mPOMA-G) de un niño que demuestra la continuidad de los pasos.

La Figura 2 es una imagen utilizada en el análisis de mPOMA-G de un niño que demuestra una flexión normal de cadera/rodilla durante el balanceo para la evaluación de la marcha.

Las Figuras 3A-3C son gráficos que muestran un análisis de regresión lineal de la puntuación de mPOMA-G con respecto a las puntuaciones determinadas para el Índice de Discapacidad del Cuestionario de Evaluación de la Salud Infantil (CHAQ) (Fig. 3A), Puntuación Parental Normativa de la Escala de Movilidad y Transferencia del Instrumento de Recopilación de Datos de Resultados Pediátricos (PODCI) (Fig. 3B), y la Prueba de Marcha de Seis Minutos (distancia caminada en metros) (6MWT; Fig. 3C) para niños y adolescentes con HPP tratados con asfotasa alfa.

La Figura 4 es un gráfico que muestra la tasa de cambio por año en la puntuación de mPOMA-G desde la línea de base hasta la última evaluación de pacientes con HPP tratados con asfotasa alfa (n=8) en comparación con los controles históricos de HPP (HC; n=6). Se muestra el valor de *P* basado en la prueba de suma de rangos de Wilcoxon (método exacto) que compara la mediana de mPOMA-G para pacientes con HPP tratados con asfotasa alfa y los HC. Las barras superior e inferior representan los valores máximo y mínimo, respectivamente; la parte superior e inferior del cuadro representan el tercer y primer cuartil, respectivamente; la línea dentro del cuadro representa la mediana; y la "x" representa la media.

La Figura 5 es un gráfico que muestra la tasa de cambio por año en la puntuación de mPOMA-G para pacientes con HPP (n=5) antes del tratamiento con asfotasa alfa (pretratamiento) en comparación con durante el tratamiento

con asfotasa alfa (en tratamiento). Se muestra el valor de *P* basado en la prueba de suma de rangos de Wilcoxon (método exacto) que compara la mediana de la puntuación de mPOMA-G para el tratamiento previo y durante el tratamiento. Las barras superior e inferior representan los valores máximo y mínimo, respectivamente; la parte superior e inferior del cuadro representan el tercer y primer cuartil, respectivamente; la línea dentro del cuadro representa la mediana; y la "x" representa la media.

La Figura 6 es un gráfico que muestra la puntuación de mPOMA-G en la línea de base y en la última evaluación para los HC y pacientes con HPP tratados con asfotasa alfa. Se muestran la mediana de la puntuación de m-POMA y la edad del paciente con valores mínimos y máximos.

Las Figuras 7A-7B son gráficos que muestran cambios individuales en la puntuación de mPOMA-G por edad en pacientes de controles históricos con HPP (Fig. 7A) y en pacientes con HPP antes y después del tratamiento con asfotasa alfa (Fig. 7B).

Las Figuras 8A-8B son gráficos que muestran cambios individuales en la puntuación de mPOMA-G por edad a partir de los primeros datos históricos de la marcha hasta la línea de base de pretratamiento para los pacientes tratados con asfotasa alfa (Fig. 8A), y desde la línea de base hasta la última evaluación durante el tratamiento (Fig. 8B).

La Figura 9 muestra la secuencia de aminoácidos del monómero de asfotasa alfa (STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc., SEQ ID NO: 1).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los defectos musculoesqueléticos en la HPP pueden conducir a una función física comprometida, incluyendo la movilidad alterada. Hemos descubierto que la asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1, STRENSIQ®, Alexion Pharmaceuticals, Inc.) se puede utilizar de forma eficaz para tratar la hipofosfatasa (HPP), sus síntomas, y la disminución de la función física asociada a la misma en pacientes de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, al menos un año, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). Como se describe aquí, la Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - marcha (POMA-G), una herramienta de evaluación clínica de la marcha para adultos, se modificó para evaluar con precisión la alteración de la marcha y el cambio en la alteración de la marcha en niños y adolescentes con HPP, y se utilizó durante la administración del tratamiento con asfotasa alfa.

Por ejemplo, asfotasa alfa se puede administrar para tratar a pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que presentan alteraciones en la marcha (por ejemplo, longitud de paso reducida, separación reducida del pie al suelo, y una posición de los pies ensanchada) con respecto a un sujeto con HPP no tratado (por ejemplo, un sujeto con HPP no tratado de alrededor de la misma edad, del mismo sexo, y/o con la misma altura). De este modo, la asfotasa alfa es eficaz para el tratamiento de la HPP y las alteraciones de la marcha asociadas con HPP tanto en niños (por ejemplo, niños que tienen HPP de alrededor de 5 a alrededor de 12 años de edad) como en adolescentes (por ejemplo, adolescentes que tienen HPP de alrededor de 12 a alrededor de 15 años de edad).

Se describen métodos para administrar asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1) a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP) que dan como resultado una mejora en las alteraciones de la marcha. Por ejemplo, se puede administrar asfotasa alfa a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tenga una puntuación promedio de POMA-G modificada (mPOMA-G) de alrededor de 5 o menos (por ejemplo, una puntuación de mPOMA-G de 0, 1, 2, 3, o 4). Por ejemplo, la asfotasa alfa se puede administrar a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que tenga una puntuación promedio de POMA-G modificada (mPOMA-G) de alrededor de 9 o menos (por ejemplo, una puntuación de mPOMA-G de 6, 7, u 8). Después de la administración de asfotasa alfa, el paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad puede mostrar una mejoría en una o más evaluaciones de la marcha de mPOMA-G, tal como el balanceo del tronco durante la marcha, la postura para caminar, la longitud y altura del paso, la simetría de los pasos, y/o la continuidad de los pasos. En consecuencia, la administración de asfotasa alfa puede dar como resultado un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad. El aumento promedio es un aumento de alrededor de 1, 2, 3, 4 o más puntos en la mPOMA-G, con respecto a un paciente con HPP no tratado de alrededor de la misma edad, el mismo sexo y/o la misma altura (por ejemplo, un paciente de control histórico).

Dados los resultados descritos aquí usando asfotasa alfa, se pueden usar otras sALP (tal como una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1) para tratar pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP) durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, al menos un año, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). En particular, se pueden usar otras sALP para tratar las alteraciones de la marcha en estos pacientes con HPP durante un período de tratamiento prolongado.

Métodos de tratamiento

Se describen aquí métodos para tratar a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad, tal como un niño que tiene HPP (por ejemplo, un niño que tiene HPP de alrededor de 5 a alrededor de 12 años de edad) o un adolescente que tiene HPP (por ejemplo, un adolescente que tiene HPP de alrededor de 12 a alrededor de 15 años de edad). Los pacientes con HPP pueden tratarse administrando una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) en un intervalo de edades, por ejemplo alrededor de 5 a alrededor de 7, alrededor de 5 a alrededor de 8, alrededor de 5 a alrededor de 9, alrededor de 5 a alrededor de 10, alrededor de 5 a alrededor de 11, alrededor de 5 a alrededor de 12, alrededor de 5 a alrededor de 13, alrededor de 5 a alrededor de 14, alrededor de 6 a alrededor de 8, alrededor de 6 a alrededor de 9, alrededor de 6 a alrededor de 10, alrededor de 6 a alrededor de 11, alrededor de 6 a alrededor de 12, alrededor de 6 a alrededor de 13, alrededor de 6 a alrededor de 14, alrededor de 6 a alrededor de 15, alrededor de 7 a alrededor de 9, alrededor de 7 a alrededor de 10, alrededor de 7 a alrededor de 11, alrededor de 7 a alrededor de 12, alrededor de 7 a alrededor de 13, alrededor de 7 a alrededor de 14, alrededor de 7 a alrededor de 15, alrededor de 8 a alrededor de 10, alrededor de 8 a alrededor de 11, alrededor de 8 a alrededor de 12, alrededor de 8 a alrededor de 13, alrededor de 8 a alrededor de 14, alrededor de 8 a alrededor de 15, alrededor de 9 a alrededor de 11, alrededor de 9 a alrededor de 12, alrededor de 9 a alrededor de 13, alrededor de 9 a alrededor de 14, alrededor de 9 a alrededor de 15, alrededor de 10 a alrededor de 12, alrededor de 10 a alrededor de 13, alrededor de 10 a alrededor de 14, alrededor de 10 a alrededor de 15, alrededor de 11 a alrededor de 13, alrededor de 12 a alrededor de 14, alrededor de 10 a alrededor de 15, alrededor de 11 a alrededor de 13, alrededor de 11 a alrededor de 14, alrededor de 11 a alrededor de 15, alrededor de 12 a alrededor de 14, alrededor de 12 a alrededor de 15, o alrededor de 13 a alrededor de 15 años de edad.

Los pacientes de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, niños y adolescentes) pueden ser diagnosticados con HPP antes de la administración de una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa). Un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad puede presentar, por ejemplo, alteraciones de la marcha con respecto a un sujeto sano de alrededor de la misma edad y/o el mismo sexo. Además, el paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad puede ser aquel que no haya sido tratado previamente con una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa).

El método implica administrar una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad, tal como administrar una sALP durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). En particular, una sALP, tal como asfotasa alfa, se puede administrar durante un período de tiempo a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad que previamente se ha determinado que tiene una puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 9 o menos (por ejemplo, alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9).

Después de la administración de la sALP, la puntuación de mPOMA-G del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad se puede comparar con la puntuación de mPOMA-G del paciente antes de la administración de la sALP, o con un sujeto no tratado que tiene HPP. El mPOMA-G del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad también se puede comparar con la puntuación de mPOMA-G de un sujeto sano (por ejemplo, un sujeto sin HPP). Alternativamente, los métodos pueden incluir determinar la puntuación de mPOMA-G antes de administrar una sALP, tal como asfotasa alfa.

Además, el método puede incluir adicionalmente llevar a cabo una evaluación adicional, tal como una o más de una Prueba de Marcha de Seis Minutos (6MWT) para evaluar la capacidad para caminar del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad, un Cuestionario de Evaluación de la Salud Infantil (CHAQ) y/o un Instrumento de Recopilación de Datos de Resultados Pediátricos (PODCI) para evaluar la capacidad del paciente con HPP de alrededor de 5 a 15 años de edad para realizar actividades de la vida diaria (ADL) antes o después de la administración de una sALP. La mPOMA-G se puede usar entonces en combinación con uno o más de 6MWT, CHAQ y/o PODCI para evaluar la eficacia del tratamiento usando una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), en la que las mejoras con respecto a un cierto valor o puntuación demuestran que la sALP es eficaz para tratar HPP.

Por ejemplo, cuando la administración de una sALP a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o adolescente que tiene HPP) da como resultado un aumento anual en la puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 2,5 o más (por ejemplo, alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4,

alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7), en la que el paciente tenía previamente una puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 9 o menos (por ejemplo, alrededor de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9) (línea de base), entonces se determina que el tratamiento con una sALP es eficaz para tratar las alteraciones de la marcha asociadas con la HPP. Alternativamente, cuando la administración de una sALP no da como resultado un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 2,5 o más, la dosis y/o la frecuencia de administración de la sALP se pueden cambiar (por ejemplo, aumentar), por ejemplo hasta que se identifica una cantidad eficaz de la sALP para el paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o adolescente que tiene HPP). Por ejemplo, si es necesario, la dosis de la sALP, tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa, se puede aumentar de alrededor de 6 mg/kg/semana a, por ejemplo, alrededor de 9 mg/kg/semana.

Por ejemplo, cuando la administración de una sALP a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o adolescente que tiene HPP) da como resultado un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 0,6 o alrededor de 1,0 o más (por ejemplo, alrededor de 0,7, alrededor de 0,8, alrededor de 0,9, alrededor de 1,0, o alrededor de 1,1), en el que el paciente tenía previamente una puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 9 o menos (por ejemplo, alrededor de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9) (línea de base), entonces se determina que el tratamiento con sALP es eficaz para tratar las alteraciones de la marcha asociadas con la HPP. Alternativamente, cuando la administración de una sALP no da como resultado un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 0,6 o alrededor de 1,0 o más, la dosis y/o la frecuencia de administración de la sALP se pueden cambiar (por ejemplo, aumentar), por ejemplo hasta que se identifica una cantidad eficaz de la sALP para el paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o adolescente que tiene HPP).

Por ejemplo, si es necesario, la dosis de la sALP, tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa, se puede aumentar de alrededor de 6 mg/kg/semana a, por ejemplo, alrededor de 9 mg/kg/semana.

Según la presente invención, la composición que comprende la sALP se usa para tratar HPP en un sujeto de 5 a 15 años de edad que tiene una puntuación promedio de la de Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha modificada (mPOMA-G) de 5 o menos, en el que dicho sujeto no mostró un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos 0,6, particularmente al menos 1,0 o más, después de la administración de dicha sALP al sujeto en una dosis que proporciona 6 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año, y en el que la dosis de la sALP se aumenta a 9 mg/kg/semana.

Hipofosfatasa en niños y adolescentes

La asfotasa alfa se administra, como se describe aquí, para tratar la HPP infantil o la HPP de adolescente. En particular, los pacientes con HPP infantil (por ejemplo, niños que tienen HPP de alrededor de 5 a alrededor de 12 años de edad) o HPP de adolescente (por ejemplo, adolescentes con HPP de alrededor de 12 a alrededor de 18 años de edad, tales como adolescentes con HPP de alrededor de 12 años hasta alrededor de 15 años de edad) se pueden tratar con una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años (por ejemplo, la vida del paciente). Observamos que un fenotipo de HPP de, por ejemplo, HPP infantil o HPP de adolescente, tal como una alteración de la movilidad (por ejemplo, una alteración de la marcha), como se evalúa utilizando, por ejemplo, una mPOMA-G, mejora después del tratamiento con una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa).

En consecuencia, los métodos descritos aquí son útiles para aliviar los síntomas de HPP descritos aquí, particularmente cuando la sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se administra durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). Por ejemplo, los métodos son útiles para tratar síntomas de HPP infantil o de adolescente, que incluyen, pero no se limitan a, trastornos de la marcha; deformidades esqueléticas, tales como piernas arqueadas y muñecas, rodillas y tobillos agrandados como resultado de metáfisis ensanchadas; dolor articular; dolor óseo; fractura ósea; debilidad muscular; dolor muscular; raquitismo; pérdida prematura de dientes temporales; mineralización ósea incompleta; niveles elevados de fosfoetanolamina (PEA), pirofosfato inorgánico (PPi), o piridoxal 5'-fosfato (PLP) en sangre y/u orina; hipomineralización; costillas raquílicas; hipercalcemia; baja estatura; convulsiones relacionadas con HPP; aumento de peso insuficiente; craneosinostosis; y/o depósito de cristales de pirofosfato cálcico dihidratado.

Los síntomas mencionados anteriormente se pueden tratar con una sALP durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). La mPOMA-G es una medida útil para evaluar la necesidad o la eficacia del tratamiento usando una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) en HPP infantil y de adolescente.

Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha modificada (mPOMA-G)

Los niños con HPP (por ejemplo, niños con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 12 años de edad) o los adolescentes con HPP (por ejemplo, adolescentes con HPP de alrededor de 12 a alrededor de 18 años de edad, tales como adolescentes con HPP de alrededor de 12 a alrededor de 15 años de edad) se pueden identificar para el tratamiento con una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) utilizando una versión modificada de la subprueba de la marcha de la Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento (mPOMA). Como se describe aquí, la mPOMA-G se puede usar para evaluar las alteraciones de la marcha en pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, niños o adolescentes que tienen HPP) para generar una puntuación de mPOMA-G para el paciente.

La POMA-G originalmente incluyó una variedad de pruebas para evaluar las alteraciones de la marcha de los adultos, por ejemplo, ancianos y adultos que viven en la comunidad, utilizando una escala de calificación de 12 puntos. La subprueba de la marcha de la POMA-G original se describió en detalle en Tinetti et al. (Am J Med 80:429-434, 1986). Un evaluador, tal como un fisioterapeuta, puede evaluar a pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad utilizando la POMA-G o mPOMA-G (véanse, por ejemplo, las Tablas 2 y 3, respectivamente, aquí más abajo) durante una visita clínica, o puede evaluar a los pacientes mediante grabaciones de vídeo del paciente. La POMA-G proporciona evaluaciones en las siguientes áreas: inicio de la marcha; longitud, altura, simetría, y continuidad de los pasos; separación del pie al suelo; alineación de la trayectoria; estabilidad del tronco; y postura para caminar. En cada área de POMA-G, 0 es la puntuación más baja por elemento, y 1 o 2 es la puntuación más alta por elemento.

La POMA-G se modificó para evaluar mejor a pacientes con HPP infantil y de adolescente al eliminar las áreas de inicio de la marcha, que pueden ser indicativas de anomalías neurológicas en lugar de alteraciones de movilidad, y eliminando la trayectoria, que puede ser difícil de cuantificar en niños y adolescentes, por ejemplo niños y adolescentes que tienen HPP. La mPOMA-G se modificó adicionalmente para evaluar pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, pacientes con HPP infantil y de adolescente) en áreas individuales, tales como longitud del paso y continuidad de los pasos, para aumentar la puntuación de calificación a 3 puntos en lugar de una escala de 2 puntos o 1 punto. Además, la mPOMA-G puede incluir descripciones aclaratorias de todos los elementos, incluyendo el balanceo del tronco y la postura para caminar, para aumentar la sensibilidad y la coherencia entre los evaluadores, y/o una clave de puntuación para proporcionar detalles adicionales sobre las calificaciones de los elementos individuales (véase, por ejemplo, la Tabla 3) y ejemplos de pacientes que llevan a cabo las diferentes áreas (véanse, por ejemplo, la Fig. 1 y la Fig. 2).

Por ejemplo, un evaluador (por ejemplo, un fisioterapeuta) puede puntuar a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) en las áreas de mPOMA-G de longitud y altura del paso, simetría de los pasos, continuidad de los pasos, separación del pie al suelo, estabilidad del tronco, y postura para caminar. Un evaluador puede puntuar la longitud y altura del paso del paciente con HPP como sigue:

a) el pie derecho del balanceo no supera el pie de apoyo izquierdo con el paso (0 puntos), el talón derecho supera el pie de apoyo izquierdo (1 punto), o el pie derecho supera el pie de apoyo izquierdo en al menos la longitud del pie del paciente entre el dedo del pie de apoyo y el talón de balanceo (2 puntos);

b) el pie derecho no se despegua completamente del suelo con el paso o el paciente eleva su pie en más de 1 a 2 pulgadas (0 puntos), o el pie derecho se despegua completamente del suelo (1 punto);

c) el pie izquierdo del balanceo no supera el pie de apoyo derecho con el paso (0 puntos), el talón izquierdo supera el pie de apoyo derecho (1 punto), o el pie izquierdo supera el pie de apoyo derecho en al menos la longitud del pie del paciente entre el dedo del pie de apoyo y el talón de balanceo (2 puntos); y

d) el pie izquierdo no se despegua completamente del suelo con el paso o el paciente eleva su pie en más de 1 a 2 pulgadas (0 puntos), o el pie izquierdo se despegua completamente del suelo (1 punto).

La continuidad de los pasos del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) se puede puntuar por un evaluador basándose en las observaciones de que el pie izquierdo no se despegua completamente del suelo con el paso o el paciente levanta el pie en más de 1-2 pulgadas (0 puntos) o el pie izquierdo se despegua completamente del suelo (1 punto). La interrupción o discontinuidad entre los pasos del paciente con HPP de alrededor de 5 a 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) se puede puntuar por un evaluador en función de las observaciones de que hay interrupción o falta

de continuidad entre los pasos (0 puntos); los pasos parecen continuos unilateralmente (el evaluador observa que el paciente eleva el talón de un pie a medida que el talón del otro pie toca el suelo, unilateralmente) o hay contacto del pie plano en la extremidad de apoyo cuando el talón del otro pie toca el suelo bilateralmente sin pausas ni interrupciones en la zancada (1 punto); o los pasos parecen uniformes bilateralmente (por ejemplo, el evaluador observa que el paciente eleva el talón de un pie a medida que el talón del otro pie toca el suelo, bilateralmente), sin pausas ni interrupciones en la zancada, y las longitudes de los pasos son iguales (2 puntos).

La estabilidad del tronco del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) se puede puntuar por un evaluador basándose en las observaciones de que hay un balanceo marcado (por ejemplo, flexión lateral moderada como resultado de inestabilidad bilateral o unilateral) o uso de ayudas para caminar (0 puntos); sin balanceo marcado, pero con patrones compensatorios, tales como flexión del tronco, flexión de la rodilla, abducción de los brazos, o retracción para aumentar la estabilidad postural al caminar (1 punto); o sin balanceo, sin flexión, sin uso de brazos, y sin ayuda para caminar (2 puntos).

La postura para caminar del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) se puede puntuar por un evaluador basándose en las observaciones de que los talones están siempre separados, y de que se utiliza una amplia base de apoyo para aumentar la estabilidad postural (0 puntos) o los talones están separados intermitentemente (1 punto).

Las puntuaciones individuales en las áreas de mPOMA-G de longitud y altura del paso, simetría de los pasos, continuidad de los pasos, separación del pie al suelo, estabilidad del tronco, y postura para caminar para un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) se pueden sumar para generar una puntuación total de mPOMA-G para el paciente que oscila de 0 a 12, en la que una puntuación más baja indica mayores alteraciones de la marcha y una puntuación más alta indica menos o ninguna alteración de la marcha, por ejemplo la marcha de un sujeto sano (por ejemplo, los puntos de longitud y altura del paso + los puntos de la simetría de los pasos + los puntos de la continuidad de los pasos + los puntos de la separación del pie al suelo + los puntos de la estabilidad del tronco + los puntos de la postura para caminar = puntuación total de mPOMA-G). La puntuación total de mPOMA-G del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) se puede comparar entonces con la puntuación de mPOMA-G de otros pacientes con HPP (por ejemplo, un paciente de control histórico) para, por ejemplo, determinar la puntuación promedio de mPOMA-G para el paciente con HPP.

La puntuación de mPOMA-G de un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) oscilará de alrededor de 0 a igual o menor que alrededor de 12, en la que una puntuación más alta (por ejemplo, alrededor de 8, 9, 10, 11, o 12) se considera representativa de sujetos sanos (por ejemplo, sujetos sin HPP). Un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) con una puntuación promedio de mPOMA-G de menos de alrededor de 9 (por ejemplo, alrededor de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 9) se puede tratar con una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), tal como la administración de una sALP durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). La puntuación de mPOMA-G del paciente tratado puede compararse entonces con la puntuación de mPOMA-G de un paciente con HPP no tratado, tal como un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad.

Los métodos pueden dar como resultado una mejora en la puntuación de mPOMA-G de un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente). Por ejemplo, el tratamiento con una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), tal como el tratamiento con una sALP durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente), da como resultado un aumento anual promedio en la puntuación de mPOMA-G de alrededor de 2,5 o más (por ejemplo, alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4, alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7). Por ejemplo, la puntuación de mPOMA-G del paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad puede aumentar en promedio hasta alrededor de 7,5 o más (por ejemplo, hasta alrededor de 8, alrededor de 8,5, alrededor de 9, alrededor de 9,5, alrededor de 10, alrededor de 10,5, o alrededor de 12) después de la administración de la sALP. Por consiguiente, la administración de la sALP al paciente puede dar como resultado una disminución de una o más alteraciones de la marcha, tales como una longitud de paso reducida, una separación reducida del pie al suelo, y/o una posición de los pies ensanchada.

El aumento de mPOMA-G se puede mantener durante la administración de la sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) al paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente), por ejemplo durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos

cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). Por ejemplo, la puntuación de mPOMA-G puede aumentar anualmente en alrededor de 2,5 puntos, y puede permanecer en $\pm 10\%$ de la puntuación de mPOMA-G aumentada (por ejemplo, alrededor de 7,5, alrededor de 8, alrededor de 8,5, alrededor de 9, alrededor de 9,5, alrededor de 10, alrededor de 10,5, o alrededor de 12) durante el tratamiento con la sALP.

Asimismo, la mejora en la o las alteraciones de la marcha puede mantenerse durante la administración de la sALP, por ejemplo durante un período de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente). Por ejemplo, el paciente con HPP muestra una menor dependencia de un dispositivo de asistencia para caminar, tal como una silla de ruedas, un andador con ruedas, un bastón, o una órtesis durante el tratamiento con la sALP.

La puntuación de mPOMA-G también se puede usar para evaluar la eficacia del tratamiento de una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), en la que las mejoras con respecto a una determinada puntuación de mPOMA-G demuestran que la sALP es eficaz para tratar las alteraciones de la marcha asociadas con la HPP. Por ejemplo, cuando la administración de una sALP a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente) da como resultado un aumento promedio en la puntuación de mPOMA-G de alrededor de 2,5 o más (por ejemplo, alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4, alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7), en la que el paciente tenía previamente una puntuación promedio de mPOMA-G de alrededor de 5 o menos (por ejemplo, alrededor de 0, 1, 2, 3, o 4), entonces se considera que la sALP es eficaz, por ejemplo, tratando una alteración o alteraciones de la marcha asociadas con la HPP.

Alternativamente, cuando la administración de una sALP durante un período de tratamiento de al menos un año (por ejemplo, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente) no da como resultado un aumento promedio en la puntuación de mPOMA-G de alrededor de 2,5 o más (por ejemplo, un aumento de alrededor de 3, alrededor de 3,5, alrededor de 4, alrededor de 4,5, alrededor de 5, alrededor de 5,5, alrededor de 6, alrededor de 6,5, o alrededor de 7), la dosis y/o frecuencia de administración de sALP se puede cambiar (por ejemplo, aumentar), por ejemplo hasta que se identifica una cantidad eficaz de la sALP para el paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un paciente con HPP infantil o de adolescente). Por ejemplo, si es necesario, la dosis de la sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede aumentar desde alrededor de 6 mg/kg/semana a, por ejemplo, alrededor de 9 mg/kg/semana.

Adicionalmente, el método puede incluir además la realización de una o más evaluaciones de 6MWT, CHAQ, y/o PODCI en combinación con la mPOMA-G. El CHAQ o PODCI se pueden usar en combinación con la mPOMA-G para evaluar la capacidad del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad para realizar la actividad de la vida diaria (ADL) después de la administración de una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), como se describe en la Solicitud U.S. No. 62/305.450. La 6MWT se puede usar para evaluar la capacidad para caminar y la función física del paciente después de la administración de una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), como se describe en la Solicitud Internacional No. PCT/US2016/025721. La mPOMA-G puede usarse entonces en combinación con uno o más de los análisis de 6MWT, CHAQ, y/o PODCI para evaluar la eficacia del tratamiento usando una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), en la que las mejoras con respecto a un cierto valor o puntuación demuestran que la sALP es eficaz para tratar HPP.

Fosfatasa alcalina

La asfotasa alfa es un polipéptido de fusión de TNSALP humana (hTNSALP; SEQ ID NO: 1) formulado para el tratamiento de HPP. En particular, la asfotasa alfa se puede usar de manera eficaz para tratar la hipofosfatasa (HPP), sus síntomas, y las alteraciones de la marcha asociadas con la misma en pacientes con HPP de alrededor de 5 a 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP) durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, al menos un año, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente).

Dados los resultados descritos aquí, los métodos de tratamiento no se limitan a la administración de una fosfatasa alcalina (ALP) particular o secuencia de ácido nucleico que codifica una ALP. Las fosfatasas alcalinas comprenden un grupo de enzimas que catalizan la escisión de un resto de fosfato (por ejemplo, hidrólisis de pirofosfato, PP_i). Hay

cuatro isoenzimas conocidas de fosfatasa alcalina (ALP) de mamíferos: fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNSALP; descrita más adelante), fosfatasa alcalina placentaria (PLALP; por ejemplo, números de acceso P05187, NP_112603, y NP_001623), fosfatasa alcalina de células germinales (GALP); por ejemplo, número de acceso P10696), y fosfatasa alcalina intestinal (IALP; por ejemplo, números de acceso P09923 y NP_001622). Además de las ALP ejemplares explicadas anteriormente, se puede usar cualquier polipéptido que tenga la estructura del sitio catalítico idéntico o similar y/o la actividad enzimática de ALP (por ejemplo, tal como una sALP o un polipéptido de fusión de sALP como se define aquí) para tratar pacientes con HPP, tal como pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP). Los conjugados de administración ósea que incluyen sALP se describen con más detalle en las Publicaciones PCT Nos. WO 2005/103263 y WO 2008/138131.

Las TNSALP que se pueden usar según los métodos descritos aquí incluyen, por ejemplo, TNSALP humana (números de acceso NP_000469, AAI10910, AAH90861, AAH66116, AAH21289, y AAI26166); TNSALP de macaco (número de acceso XP_01109717); TNSALP de rata (número de acceso NP_037191); TNSALP de perro (número de acceso AAF64516); TNSALP de cerdo (número de acceso AAN64273); ratón (número de acceso NP_031457); TNSALP de vaca (números de acceso NP_789828, NP_776412, AAM 8209, y AAC33858); TNSALP de gato (número de acceso NP_001036028); y variantes de las mismas que tienen una identidad de secuencia de 90, 95, 97, o 99% con una cualquiera de SEQ ID NOs: 7-19. En particular, TNSALP puede ser una TNSALP humana recombinante (por ejemplo, SEQ ID NO: 1, asfotasa alfa; véanse las Patentes U.S. Nos. 7.763.712 y 7.960.529, utilizada para el tratamiento de pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP). La TNSALP también puede ser aquella que exhiba al menos alrededor de 95% de identidad de secuencia con el polipéptido o la secuencia de ácido nucleico de las TNSALP señaladas anteriormente.

Fosfatasas alcalinas solubles

Las ALP que pueden usarse en los métodos incluyen formas solubles (por ejemplo, extracelulares o no unidas a la membrana) de cualquiera de las fosfatasas alcalinas descritas aquí. La sALP puede ser, por ejemplo, una forma soluble de fosfatasa alcalina no específica de tejido humana (TNSALP humana (hTNSALP)). Los métodos no se limitan a una sALP particular, y pueden incluir cualquier sALP que sea fisiológicamente activa frente a, por ejemplo, fosfoetanolamina (PEA), pirofosfato inorgánico (PPI), y piridoxal 5'-fosfato (PLP). En particular, una sALP es aquella que es catalíticamente competente para mejorar la mineralización esquelética en el hueso. Los métodos incluyen además ácidos nucleicos que codifican las sALP descritas aquí que pueden usarse para tratar pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP).

TNSALP es una proteína unida a la membrana anclada por un resto de glicolípido en el C-terminal (Swiss-Prot, P05186). Este anclaje de glicolípido (GPI) se añade postraduccionalmente después de la eliminación de un extremo C-terminal hidrófobo, que sirve como un anclaje de membrana temporal y como señal para la adición del GPI. Si bien el anclaje de GPI se encuentra en la membrana celular, las porciones restantes de TNSALP son extracelulares. En particular, TNSALP (por ejemplo, TNSALP humana (hTNSALP)) se puede manipular para reemplazar el primer aminoácido de la secuencia C-terminal hidrófoba (una alanina) por un codón de parada, produciendo así una hTNSALP manipulada que contiene todos los restos de aminoácidos de la forma anclada nativa de TNSALP y carece del anclaje de membrana de GPI. Un experto en la técnica apreciará que la posición del anclaje de membrana de GPI variará en diferentes ALP, y puede incluir, por ejemplo, los últimos 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 45, 50 o más restos de aminoácidos en el extremo C-terminal del polipéptido. La sTNSALP recombinante puede incluir, por ejemplo, los aminoácidos 1 a 502 (18 a 502 cuando se segrega), los aminoácidos 1 a 501 (18 a 501 cuando se segrega), los aminoácidos 1 a 504 (18 a 504 cuando se segrega), los aminoácidos 1 a 505 (18-505 cuando se segrega), o los aminoácidos 1 a 502. De este modo, el extremo C-terminal de la ALP nativa se puede truncar por ciertos aminoácidos sin afectar la actividad de la ALP.

Además del anclaje de GPI C-terminal, TNSALP también tiene una secuencia de péptido señal N-terminal. El péptido señal N-terminal está presente en la proteína sintetizada cuando se sintetiza, pero se escinde de TNSALP después de la translocación al RE. Las sALP incluye tanto formas segregadas (es decir, que carecen de la señal N-terminal) como no segregadas (es decir, que tienen la señal N-terminal) de las mismas. Un experto en la técnica apreciará que la posición del péptido señal N-terminal variará en diferentes fosfatasas alcalinas, y puede incluir, por ejemplo, los primeros 5, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 30, o más restos de aminoácidos en el extremo N-terminal del polipéptido. Un experto en la técnica puede predecir la posición de un sitio de escisión de la secuencia señal, por ejemplo mediante un algoritmo informático apropiado tal como el descrito en Bendtsen et al. (J. Mol. Biol. 340(4):783-795, 2004) y/o en www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/.

Los métodos también se pueden llevar a cabo usando secuencias consenso de sALP derivadas del dominio extracelular de isoenzimas ALP (por ejemplo, TNSALP, PALP, GCALP, o IALP). De este modo, de forma similar a la sTNSALP discutida anteriormente, la presente descripción también proporciona otras isoenzimas de ALP humana solubles, es decir, sin la señal del péptido, que preferiblemente comprenden el dominio extracelular de las ALP. Las sALP también incluyen secuencias polipeptídicas que satisfacen una secuencia de consenso derivada del dominio extracelular de ALP de isoenzimas de ALP humana y de ortólogos de TNSALP de mamíferos (humana, ratón, rata, vaca, gato, y perro) o un consenso derivado del dominio extracelular de ALP de solo ortólogos de TNSALP de mamíferos (humanos, ratón, rata, vaca, gato, y perro). Las sALP también incluyen aquellas que satisfacen secuencias

de consenso similares derivadas de diversas combinaciones de estos ortólogos de TNSALP o isoenzimas de ALP humana. Tales secuencias de consenso se dan, por ejemplo, en el documento WO 2008/138131.

Las sALP de los presentes métodos pueden incluir no solo la secuencia de tipo salvaje de las sALP descritas anteriormente, sino cualquier polipéptido que tenga al menos 50% (por ejemplo, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más) de identidad de secuencia con estas fosfatasa alcalinas (por ejemplo, SEQ ID NOs: 1-24; por ejemplo, el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa). Según la presente invención, la sALP comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. Los ejemplos de mutaciones que se pueden introducir en una secuencia de ALP se describen en la Publicación de Solicitud de Patente US No. 2013/0323244. Una sALP se puede glicosilar opcionalmente en uno o más restos de aminoácidos apropiados. Además, una sALP puede tener al menos 50% (por ejemplo, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más) de identidad de secuencia con cualquiera de las sALP descritas aquí (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa). Una sALP puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más adiciones, supresiones o sustituciones con respecto a cualquiera de las sALP descritas aquí (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa).

Polipéptidos de fusión de sALP

Cualquiera de las sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa), enlazadores, espaciadores (por ejemplo, regiones Fc), y los restos de dianización ósea descritos aquí se pueden combinar en un polipéptido de fusión, que incluye las estructuras Z-sALP-Y-espaciador-X-W_n-V, Z-W_n-X-espaciador-Y-sALP-V, Z-sALP-Y-W_n-X-espaciador-V, y Z-W_n-X-sALP-Y-espaciador-V. En particular, la estructura del polipéptido de fusión de sALP puede ser Z-sALP-Y-espaciador-X-W_n-V o Z-W_n-X-espaciador-Y-sALP-V. La sALP del polipéptido de fusión de sALP puede ser la ALP de longitud completa o fragmentos funcionales de las ALP, tales como el dominio extracelular soluble de la ALP, como se describe aquí (por ejemplo, TNSALP, PALP, GCALP, e IALP).

Uno cualquiera de X, Y, Z, y V, y/o el espaciador puede estar ausente, o una región enlazadora que incluye una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido. Por ejemplo, X, Y, Z, y V pueden ser una secuencia dipeptídica (por ejemplo, leucina-lisina o ácido aspártico-isoleucina), tal como un enlazador de dos restos en la posición Y (por ejemplo, leucina-lisina) o un enlazador de dos restos en la posición X (por ejemplo, ácido aspártico-isoleucina). Por ejemplo, los polipéptidos de fusión de sALP pueden tener la estructura hTNSALP-Fc-D₁₀ (por ejemplo, un polipéptido de fusión de sALP que incluye la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa).

La región enlazadora puede tener cualquier secuencia y longitud que permita que la sALP permanezca biológicamente activa, por ejemplo sin impedimentos estéricos. Las longitudes del enlazador ejemplares están entre 1 y 200 restos de aminoácidos, por ejemplo 1-5, 6-10, 11-15, 16-20, 21-25, 26-30, 31-35, 36-40, 41-45, 46-50, 51-55, 56-60, 61-65, 66-70, 71-75, 76-80, 81-85, 86-90, 91-95, 96-100, 101-110, 111-120, 121-130, 131-140, 141-150, 151-160, 161-170, 171-180, 181-190, o 191-200 restos de aminoácidos. Por ejemplo, los enlazadores incluyen o consisten en porciones flexibles, por ejemplo regiones sin una estructura secundaria o terciaria fija significativa. Los enlazadores flexibles ejemplares son enlazadores ricos en glicina, por ejemplo que contienen al menos 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o incluso 100% de restos de glicina. Los enlazadores también pueden contener, por ejemplo, restos de serina. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de los enlazadores consiste solo en restos de glicina y serina. Opcionalmente, un enlazador puede glicosilarse en uno o más restos de aminoácidos apropiados. Además, un enlazador como se describe aquí puede incluir cualquier otra secuencia o resto, unido covalentemente o no covalentemente. El enlazador también puede estar ausente, en el que el espaciador (por ejemplo, la región Fc) y la sALP se fusionan juntos directamente, sin restos intermedios.

Los espaciadores útiles incluyen, pero no se limitan a, polipéptidos que incluyen una región Fc. Por ejemplo, una sALP puede ser un polipéptido de fusión que incluye una región Fc de una inmunoglobulina en el dominio N-terminal o C-terminal. Una molécula de inmunoglobulina tiene una estructura que es bien conocida en la técnica. Incluye dos cadenas ligeras (~23 kD cada una) y dos cadenas pesadas (~50-70 kD cada una) unidas por enlaces de disulfuro intercatenarios. Las inmunoglobulinas se escinden fácilmente de forma proteolítica (por ejemplo, mediante escisión con papaína) en fragmentos Fab (que contiene la cadena ligera y los dominios VH y CH1 de la cadena pesada) y Fc (que contiene los dominios CH2 y CH3 de la cadena pesada, junto con las secuencias adyacentes). Los fragmentos Fc útiles como se describen aquí incluyen el fragmento Fc de cualquier molécula de inmunoglobulina, incluyendo IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, y sus diversas subclases (por ejemplo, IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2), de cualquier mamífero (por ejemplo, humano). Por ejemplo, el fragmento Fc es IgG-1 humana. Los fragmentos Fc pueden incluir, por ejemplo, los dominios CH2 y CH3 de la cadena pesada y cualquier porción de la región bisagra. La región Fc se puede glicosilar opcionalmente en uno o más restos de aminoácidos apropiados conocidos por los expertos en la

técnica. En particular, el fragmento Fc del polipéptido de fusión tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, o tiene al menos 50% (por ejemplo, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o más) de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 20. Las regiones Fc modificadas genéticamente, por ejemplo de origen no natural, pueden incorporarse en los polipéptidos de fusión de sALP descritos aquí, por ejemplo los descritos en la Publicación de Solicitud Internacional No. WO2005/007809. Un fragmento Fc como se describe aquí puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, o más adiciones, supresiones, o sustituciones con respecto a cualquiera de los fragmentos Fc descritos aquí.

W_n puede ser un resto de dianización ósea, por ejemplo que tiene una serie de restos consecutivos de aspartato (D) o glutamato (E), en el que n = 1 a 50, por ejemplo n = 3-30, por ejemplo 5-15, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50. El resto de dianización ósea, si está presente, puede colocarse en cualquier lugar del polipéptido de fusión, por ejemplo en o cerca del extremo N-terminal o C-terminal, y/o en la región enlazadora. Por ejemplo, el resto de dianización ósea puede estar presente en el extremo C-terminal de un polipéptido de fusión de sALP. Los polipéptidos de fusión de sALP también pueden carecer de un resto de dianización ósea.

Pueden introducirse restos de aminoácidos adicionales en el polipéptido según la estrategia de clonación utilizada para producir los polipéptidos de fusión. Por ejemplo, los restos de aminoácidos adicionales no proporcionan una señal de anclaje de GPI adicional para mantener el polipéptido en una forma soluble. Además, cualquiera de dichos restos de aminoácidos adicionales, cuando se incorporan al polipéptido de los métodos, no proporcionan un sitio de escisión para las endoproteasas de la célula hospedante. La probabilidad de que una secuencia diseñada sea escindida por las endoproteasas de la célula hospedante puede predecirse como se describe, por ejemplo, por Ikezawa (Biol. Pharm. Bull. 25:409-417, 2002).

Los polipéptidos de fusión de sALP (tales como una TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden asociar en dímeros o tetrameros. Por ejemplo, dos monómeros de sALP-Fc pueden unirse covalentemente a través de dos enlaces de disulfuro ubicados en las regiones de bisagra de los fragmentos Fc. Además, el polipéptido de fusión de sALP (por ejemplo, una sALP o un polipéptido de fusión de sALP) se puede glicosilar o pegilar.

Producción de ácidos nucleicos y polipéptidos

Los ácidos nucleicos que codifican sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden producir por cualquier método conocido en la técnica. Normalmente, un ácido nucleico que codifica el polipéptido deseado se genera usando métodos de clonación molecular, y generalmente se coloca dentro de un vector, tal como un plásmido o un virus. El vector se usa para transformar el ácido nucleico en una célula hospedante apropiada para la expresión del polipéptido de fusión. Los métodos representativos se describen, por ejemplo, en Maniatis et al. (Cold Springs Harbor Laboratory, 1989). Se pueden usar muchos tipos de células como células hospedantes apropiadas, aunque se prefieren las células de mamífero debido a que son capaces de conferir modificaciones postraduccionales apropiadas. Las células hospedantes pueden incluir, por ejemplo, célula de ovario de hámster chino (CHO), célula L, célula C127, célula 3T3, célula BHK, célula COS-7, o cualquier otra célula hospedante adecuada conocida en la técnica. Por ejemplo, la célula hospedante es una célula de ovario de hámster chino (CHO) (por ejemplo, una célula CHO-DG44).

Las sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden producir bajo cualquier condición adecuada para efectuar la expresión del polipéptido de sALP en la célula hospedante. Tales condiciones incluyen la selección apropiada de un medio preparado con componentes tales como un amortiguador, bicarbonato y/o HEPES, iones tales como cloruro, fosfato, calcio, sodio, potasio, magnesio, hierro, fuentes de carbono tales como azúcares simples, aminoácidos, potencialmente lípidos, nucleótidos, vitaminas, y factores de crecimiento tal como la insulina; medios habituales comercialmente disponibles tales como alfa-MEM, DMEM, F12 de Ham, e IMDM suplementado con L-glutamina 2-4 mM y suero fetal bovino al 5%; medios libres de proteínas animales disponibles comercialmente (es decir, HYCLONE™, GE Healthcare; SFM4CHO, Sigma CHO DHFR; Cambrex POWER™ CHO CD suplementado con L-glutamina 2-4 mM, etc.). Es deseable que estos medios se preparen sin timidina, hipoxantina y L-glicina para mantener la presión selectiva, lo que permite una expresión estable del producto proteico.

Composiciones y formulaciones farmacéuticas.

Una composición que incluye una sALP que se puede usar en los métodos (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede administrar mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1) se puede administrar en un intervalo de dosis, en una variedad de formulaciones, y en combinación con portadores o vehículos farmacéuticamente aceptables. En

particular, la asfotasa alfa es una disolución acuosa estéril, sin conservantes, apirógena, transparente, ligeramente opalescente u opalescente, incolora a ligeramente amarilla, con pocas partículas pequeñas translúcidas o blancas, que se formula, por ejemplo, para administración subcutánea. La asfotasa alfa se puede suministrar en viales de vidrio de un solo uso que contienen asfotasa alfa en combinación con fosfato de sodio dibásico, heptahidratado; fosfato de sodio monobásico, monohidratado; y cloruro de sodio a un pH entre 7,2 y 7,6.

Dosificación

Cualquier cantidad de una composición farmacéutica que incluya una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede administrar a pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP). Las dosis dependerán de muchos factores, incluyendo el modo de administración y la edad del paciente. Normalmente, la cantidad de la composición que incluye una sALP contenida en una dosis única será una cantidad que sea eficaz para tratar la HPP como se describe aquí sin inducir una toxicidad significativa.

Por ejemplo, las sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede administrar a pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP, en particular aquellos que tienen una puntuación de mPOMA-G de menos de alrededor de 8 (por ejemplo, menos de, o alrededor de, 5)), en dosis individuales que oscilan, por ejemplo, de 0,01 mg/kg a 500 mg/kg (por ejemplo, de 0,05 mg/kg a 500 mg/kg, de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg, de 5 mg/kg a 500 mg/kg, de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg, de 10 mg/kg a 100 mg/kg, de 0,1 mg/kg a 50 mg/kg, 0,5 mg/kg a 25 mg/kg, 1,0 mg/kg a 10 mg/kg, 1,5 mg/kg a 5 mg/kg, o 2,0 mg/kg a 3,0 mg/kg) o de 1 µg/kg a 1.000 µg/kg (por ejemplo, de 5 µg/kg a 1.000 µg/kg, de 1 µg/kg a 750 µg/kg, de 5 µg/kg a 750 µg/kg, de 10 µg/kg a 750 µg/kg, de 1 µg/kg a 500 µg/kg, de 5 µg/kg a 500 µg/kg, de 10 µg/kg a 500 µg/kg, de 1 µg/kg a 100 µg/kg, de 5 µg/kg a 100 µg/kg, de 10 µg/kg a 100 µg/kg, de 1 µg/kg a 50 µg/kg, de 5 µg/kg a 50 µg/kg, o de 10 µg/kg a 50 µg/kg).

Dosis ejemplares de una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) incluyen, pero no se limitan a, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, o 500 mg/kg; o 1, 2, 2,5, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 900, o 1.000 µg/kg. En particular, las composiciones que incluyen sALP según la presente descripción se pueden administrar a pacientes con HPP (por ejemplo, niños y adolescentes con HPP) en dosis que oscilan de alrededor de 0,001 mg/kg/día a alrededor de 500 mg/kg/día, alrededor de 0,01 mg/kg/día a alrededor de 100 mg/kg/día, o alrededor de 0,01 mg/kg/día a alrededor de 20 mg/kg/día.

Por ejemplo, las composiciones de sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden administrar a pacientes en una dosis semanal que oscila, por ejemplo, de alrededor de 0,5 mg/kg/semana a alrededor de 140 mg/kg/semana, por ejemplo alrededor de 0,8 mg/kg/semana a alrededor de 50 mg/kg/semana, o alrededor de 1 mg/kg/semana a alrededor de 10 mg/kg/semana (por ejemplo, alrededor de 6 o alrededor de 9 mg/kg/semana). En particular, la sALP (tal como TNSALP, por ejemplo asfotasa alfa) se puede administrar a una dosis de 2 mg/kg tres veces por semana (dosis total 6 mg/kg/semana), 1 mg/kg seis veces por semana (dosis total 6 mg/kg/semana), 3 mg/kg tres veces por semana (dosis total 9 mg/kg/semana), 0,5 mg/kg tres veces por semana (dosis total de 1,5 mg/kg/semana), o 9,3 mg/kg tres veces por semana (dosis total 28 mg/kg/semana). El médico adaptará la dosis según factores convencionales, tales como el grado de la enfermedad, y diferentes parámetros del paciente con HPP, tal como un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP), en particular aquellos que tienen una puntuación de mPOMA-G de menos de alrededor de 8 (por ejemplo, menos de, o alrededor de, 5).

Dosis de composiciones que incluyen las sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden proporcionar en regímenes de dosificación únicos o múltiples. Las dosis se pueden administrar, por ejemplo, cada hora, cada dos horas, diariamente, cada dos días, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, semanalmente, quincenalmente, mensualmente, cada dos meses, o anualmente. Alternativamente, las dosis se pueden administrar, por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, 10, 11, o 12 veces al día. En particular, el régimen de dosificación es una vez a la semana. La duración del régimen de dosificación puede ser, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30 días, semanas, o meses, o incluso durante la vida restante del paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad (por ejemplo, un niño o un adolescente que tiene HPP).

Una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede formular como una disolución inyectable, que es una disolución acuosa transparente, incolora a ligeramente amarilla, pH 7,4. La sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido

de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede formular a una concentración de 12 mg/0,3 ml, 18 mg/0,45 ml, 28 mg/0,7 ml, 40 mg/1 ml, u 80 mg/0,8 ml.

Por ejemplo, la composición se puede formular como una disolución inyectable de 40 mg/ml, en la que cada ml de disolución contiene 40 mg de sALP (por ejemplo, cada vial contiene 0,3 ml de disolución y 12 mg de sALP (40 mg/ml), cada vial contiene 0,45 ml de disolución y 18 mg de sALP (40 mg/ml), cada vial contiene 0,7 ml de disolución y 28 mg de sALP (40 mg/ml), o cada vial contiene 1,0 ml de disolución y 40 mg de asfotasa alfa (40 mg/ml)). Además, una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede formular como una disolución inyectable a una concentración de 100 mg/ml, en la que cada ml de disolución contiene 100 mg de sALP (por ejemplo, cada vial contiene 0,8 ml de disolución y 80 mg de asfotasa alfa (100 mg/ml)).

Por ejemplo, la dosis recomendada de una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) es 2 mg/kg de peso corporal administrados por vía subcutánea tres veces por semana, o un régimen de dosificación de 1 mg/kg de peso corporal administrado por vía subcutánea seis veces por semana. A continuación se proporciona información adicional sobre la dosificación (Tabla 1).

Según la presente invención, la composición que comprende la sALP se usa para tratar HPP en un sujeto de 5 a 15 años de edad que tiene una puntuación promedio de la Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha modificada (mPOMA-G) de 5 o menos, en el que dicho sujeto no mostró un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos 0,6, particularmente al menos 1,0 o más, después de la administración de dicha sALP al sujeto en una dosis que proporciona 6 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año, y en el que la dosis de la sALP se aumenta a 9 mg/kg/semana.

Tabla 1. DOSIFICACIÓN DE ASFOTASA ALFA

Peso corporal (kg)	Si se inyecta 3 x por semana			Si se inyecta 6 x por semana		
	Dosis a inyectar	Volumen a inyectar	Tipo de vial usado para inyección	Dosis a inyectar	Volumen a inyectar	Tipo de vial usado para inyección
3	6 mg	0,15 ml	0,3 ml			
4	8 mg	0,20 ml	0,3 ml			
5	10 mg	0,25 ml	0,3 ml			
6	12 mg	0,30 ml	0,3 ml	6 mg	0,15 ml	0,3 ml
7	14 mg	0,35 ml	0,45 ml	7 mg	0,18 ml	0,3 ml
8	16 mg	0,40 ml	0,45 ml	8 mg	0,20 ml	0,3 ml
9	18 mg	0,45 ml	0,45 ml	9 mg	0,23 ml	0,3 ml
10	20 mg	0,50 ml	0,7 ml	10 mg	0,25 ml	0,3 ml
11	22 mg	0,55 ml	0,7 ml	11 mg	0,28 ml	0,3 ml
12	24 mg	0,60 ml	0,7 ml	12 mg	0,30 ml	0,3 ml
13	26 mg	0,65 ml	0,7 ml	13 mg	0,33 ml	0,45 ml
14	28 mg	0,70 ml	0,7 ml	14 mg	0,35 ml	0,45 ml
15	30 mg	0,75 ml	1 ml	15 mg	0,38 ml	0,45 ml
16	32 mg	0,80 ml	1 ml	16 mg	0,40 ml	0,45 ml
17	34 mg	0,85 ml	1 ml	17 mg	0,43 ml	0,45 ml
18	36 mg	0,90 ml	1 ml	18 mg	0,45 ml	0,45 ml

	Si se inyecta 3 x por semana			Si se inyecta 6 x por semana		
19	38 mg	0,95 ml	1 ml	19 mg	0,48 ml	0,7 ml
20	40 mg	1,00 ml	1 ml	20 mg	0,50 ml	0,7 ml
25	50 mg	0,50 ml	0,8 ml	25 mg	0,63 ml	0,7 ml
30	60 mg	0,60 ml	0,8 ml	30 mg	0,75 ml	1 ml
35	70 mg	0,70 ml	0,8 ml	35 mg	0,88 ml	1 ml
40	80 mg	0,80 ml	0,8 ml	40 mg	1,00 ml	1 ml
50				50 mg	0,50 ml	0,8 ml
60				60 mg	0,60 ml	0,8 ml
70				70 mg	0,70 ml	0,8 ml
80				80 mg	0,80 ml	0,8 ml
90				90 mg	0,90 ml	0,8 ml (x2)
100				100 mg	1,00 ml	0,8 ml (x2)

Formulaciones

- Una composición que incluye las sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede formular según los métodos estándar. La formulación farmacéutica es una técnica bien establecida, y se describe con más detalle en, por ejemplo, Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª Edición, Lippincott, Williams & Wilkins (ISBN: 0683306472); Ansel et al. (1999) Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª Edición, Lippincott Williams & Wilkins Publishers (ISBN: 0683305727); y Kibbe (2000) Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association, 3ª Edición (ISBN: 091733096X). Por ejemplo, una composición de sALP (tal como TNSALP, por ejemplo, el polipéptido de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se puede formular como una disolución amortiguada a una concentración adecuada, y que es adecuada para almacenamiento a alrededor de 2-8°C (por ejemplo, alrededor de 4°C). Una composición también se puede formular para el almacenamiento a una temperatura por debajo de alrededor de 0°C (por ejemplo, alrededor de -20°C o alrededor de -80°C). Una composición se puede formular además para el almacenamiento durante hasta alrededor de 2 años (por ejemplo, un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 1½ años, o 2 años) a alrededor de 2-8°C (por ejemplo, alrededor de 4°C). De este modo, las composiciones descritas aquí pueden ser estables en el almacenamiento durante al menos alrededor de 1 año a alrededor de 2-8°C (por ejemplo, alrededor de 4°C).
- Las composiciones que incluyen las sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) puede presentarse en una variedad de formas. Estas formas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, tales como disoluciones líquidas (por ejemplo, disoluciones inyectables e infusibles), dispersiones o suspensiones, comprimidos, pastillas, polvos, liposomas, y supositorios. La forma preferida depende, en parte, del modo de administración y aplicación terapéutica previstos.
- Por ejemplo, las composiciones destinadas a la administración sistémica o local pueden estar en forma de disoluciones inyectables o infusibles. En consecuencia, las composiciones de sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden formular para la administración por vía parenteral (por ejemplo, inyección subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, o intramuscular).
- Las composiciones de sALP (tales como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden formular como una disolución, microemulsión, dispersión, liposoma, u otra estructura ordenada adecuada para el almacenamiento estable a alta concentración. Las disoluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando una composición descrita aquí en la cantidad requerida en un disolvente apropiado

con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando una composición descrita aquí en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen secado a vacío y liofilización que producen un polvo de una composición descrita aquí más cualquier ingrediente adicional deseado (véase más abajo) a partir de una disolución previamente filtrada en forma estéril del mismo. La fluidez adecuada de una disolución se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión, y mediante el uso de tensioactivos. La absorción prolongada de composiciones inyectables puede conseguirse incluyendo en la composición un reactivo que retrase la absorción, por ejemplo sales de monoestearato, y gelatina.

Las composiciones de sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) descritas aquí también se pueden formular en composiciones de inmunoliposomas. Tales formulaciones se pueden preparar mediante métodos conocidos en la técnica, tales como los métodos descritos en Epstein et al. (1985) Proc Natl Acad Sci USA 82:3688; Hwang et al. (1980) Proc Natl Acad Sci USA 77:4030; y Patentes U.S. Nos. 4.485.045 y 4.544.545. Los liposomas con tiempo de circulación mejorado se describen en, por ejemplo, la Patente U.S. No. 5.013.556.

Las composiciones que incluyen una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) también se pueden formular con un portador que protegerá la composición de sALP contra una liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como etilenoacetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Se conocen en la técnica muchos métodos para la preparación de tales formulaciones. Véase, por ejemplo, J.R. Robinson (1978) Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, Marcel Dekker, Inc., Nueva York.

Cuando las composiciones de sALP (tal como TNSALP, por ejemplo un polipéptido de fusión de sALP, tal como el polipéptido de fusión de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se van a utilizar en combinación con un segundo agente activo, las composiciones se pueden co-formular con el segundo agente, o las composiciones se pueden formular por separado de la formulación del segundo agente. Por ejemplo, las respectivas composiciones farmacéuticas pueden mezclarse, por ejemplo, justo antes de la administración, y administrarse juntas, o pueden administrarse por separado, por ejemplo en el mismo momento o en diferentes momentos.

Portadores/vehículos

Las preparaciones que contienen una sALP (tal como TNSALP, por ejemplo el polipéptido de sALP de SEQ ID NO: 1 o una variante polipeptídica que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, por ejemplo asfotasa alfa) se pueden proporcionar a un paciente con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad, tal como un niño o un adolescente que tiene HPP, en combinación con disolventes, suspensiones o emulsiones acuosos o no acuosos estériles farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceite vegetal, aceite de pescado, y ésteres orgánicos inyectables. Los portadores acuosos incluyen agua, disoluciones de agua-alcohol, emulsiones o suspensiones, incluyendo disolución salina vehículos parenterales médicos amortiguados que incluyen disolución de cloruro de sodio, disolución de dextrosa de Ringer, disolución de dextrosa más cloruro de sodio, disolución de Ringer que contiene lactosa, o aceites fijos. Por ejemplo, el portador farmacéuticamente aceptable puede incluir cloruro de sodio y/o fosfato de sodio, en el que la composición incluye, por ejemplo, alrededor de 150 mM de cloruro de sodio y/o alrededor de 25 mM de fosfato de sodio, pH 7,4.

Los vehículos intravenosos pueden incluir reponedores de fluidos y nutrientes, reponedores de electrolitos, tales como los basados en dextrosa de Ringer, y similares. Pueden incluirse en ellos sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo sales de ácidos minerales tales como hidroclouros, hidrobromuros, fosfatos, sulfatos, y similares; y las sales de ácidos orgánicos tales como acetatos, propionatos, malonatos, benzoatos, y similares. Además, en dichos vehículos pueden estar presentes sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, sustancias amortiguadoras del pH, y similares. Una discusión detallada de los portadores farmacéuticamente aceptables está disponible en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N.J. 1991).

Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar, más que limitar, la descripción. Estos estudios presentan la administración de asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1) a un paciente de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad, tal como un niño o un adolescente, para tratar la HPP, sus síntomas, y las alteraciones de la marcha asociadas con la misma durante un período de tiempo prolongado.

Ejemplo 1. Modificación de la Evaluación de Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha (POMA-G modificada, mPOMA-G) para evaluar la marcha en pacientes con HPP

Se realizó un análisis de la marcha para comparar pacientes con HPP infantil y de adolescente tratados con asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1) con pacientes con HPP infantil y de adolescente que no se trataron con asfotasa alfa (el control histórico de HPP ("HC")). La alteración de la marcha tiene una alta prevalencia según se mide en la línea de base en ensayos clínicos con asfotasa alfa, es decir, 100% (8/8) en las edades de 5-12 y 83% (10/12) en edades ≥ 13 . El rendimiento de la marcha se evaluó utilizando una versión de la Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha (POMA-G) de 12 puntos que se modificó para proporcionar una sensibilidad mejorada para las alteraciones relacionadas con la HPP (la POMA-G modificada o mPOMA-g). La POMA-G se había utilizado anteriormente para evaluar la función en poblaciones adultas, incluyendo pacientes con esclerosis lateral amiotrófica, hidrocefalia de presión normal, enfermedad de Parkinson, y accidente cerebrovascular, y se había validado en adultos mayores y residentes en la comunidad (Tinetti, M.E., et al., Am J Med 80(3):429-34 (1986); Faber, M.J., et al., Arch Phys Med Rehabil. 87(7):885-96 (2006); Means K.M., et al., Arch Phys Med Rehabil. 79(12):1570-6 (1998)). La POMA-G también se ha utilizado en niños sordos para evaluar el equilibrio y la marcha (Melo et al. Rev. Paul. Pediatr. 30(3): 385-91, 2012). Los componentes de la POMA-G pueden usarse para medir directa o indirectamente los déficits de rendimiento que se presentan en pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad; sin embargo, la POMA-G, sin estas modificaciones, fue menos apropiada para la evaluación adecuada de pacientes con HPP de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad.

En particular, la POMA-G se puede utilizar para medir la longitud y la altura del paso, la simetría y la continuidad de los pasos, el balanceo del tronco, y la postura, todos los cuales pueden ser anormales en pacientes con HPP. La POMA-G incluye evaluaciones del inicio de la marcha, la longitud del paso y la altura de la separación del pie al suelo del paso, la simetría y la continuidad; desviación de la trayectoria; balanceo del tronco; y postura para caminar (Tabla 2). La puntuación más baja es 0 por elemento, mientras que 1 o 2 es la puntuación más alta por elemento. Las puntuaciones de los elementos individuales se suman para generar una escala de discapacidad de 0 a 12, indicando las puntuaciones más bajas las alteraciones de la marcha más significativas, e indicando las puntuaciones más altas menores alteraciones de la marcha, lo que sería indicativo de, por ejemplo, la marcha de un sujeto sano.

Tabla 2. Evaluaciones de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha (POMA-G) no modificada

Evaluación		Observación	Puntuación
1	Inicio de la marcha	Cualquier vacilación o múltiples intentos	= 0
		Sin vacilación	= 1
2	Longitud y altura del paso		
	a) Pie derecho del balanceo	No adelanta al pie de apoyo izquierdo con el paso	= 0
		Adelanta al pie de apoyo izquierdo	= 1
	b) Separación del pie derecho del suelo	No se separa del suelo completamente con el paso	= 0
		El pie derecho se separa completamente del suelo	= 1
c) Pie izquierdo del balanceo	No adelanta al pie de apoyo derecho con el paso	= 0	
	Adelanta al pie de apoyo derecho	= 1	
d) Separación del pie izquierdo del suelo	No se separa del suelo completamente con el paso	= 0	
	El pie izquierdo se separa completamente del suelo	= 1	
3	Simetría de los pasos	La longitud del paso derecho e izquierdo no es igual	= 0
		El pie izquierdo se separa completamente del suelo	= 1
4	Continuidad de los pasos	Detención o discontinuidad entre pasos	= 0
		Los pasos parecen uniformes	= 1
5	Trayectoria	Desviación marcada	= 0
		Desviación leve/moderada o usa ayuda para caminar	= 1
		Recta sin ayuda para caminar	= 2
6	Tronco	Balanceo marcado o usa ayuda para caminar	= 0

Evaluación		Observación	Puntuación
		Sin balanceo, pero flexionando las rodillas o la espalda o extendiendo los brazos al caminar	
		Sin balanceo, sin flexión, sin uso de brazos, y sin ayuda para caminar	= 2
7	Postura para caminar	Tacones separados	= 0
		Tacones casi tocándose al caminar	= 1
Puntuación de la marcha			/12

La validez de cada componente de la POMA-G como una medida de defectos musculoesqueléticos clínicamente importantes en pacientes con HPP se confirmó mediante la evaluación de cada componente de la escala en el contexto de discapacidades físicas específicas de HPP. Las medidas más relevantes para la patología en pacientes con HPP son aquellas que reflejan debilidad muscular, estabilidad, y base de apoyo de las extremidades proximales e inferiores. Un total de seis evaluaciones en la POMA-G miden específicamente los criterios que indican debilidad muscular, estabilidad, y/o base de apoyo de las extremidades proximales e inferiores. Las características específicas de la POMA-G que son relevantes para HPP se describen a continuación.

- El balanceo del tronco y la postura para caminar (base amplia de apoyo para aumentar la estabilidad postural) son indicadores de debilidad muscular proximal. Las anomalías en estos parámetros están asociadas con dificultad para sortear obstáculos, falta de equilibrio, y mayor riesgo de colisiones o caídas.

- La longitud y la altura del paso son indicadores importantes de la fuerza de las extremidades proximales e inferiores. Las anomalías en estos parámetros interfieren con la capacidad de sortear superficies irregulares, y aumentan el riesgo de caídas y lesiones.

- La asimetría de la marcha refleja las discrepancias estructurales entre las extremidades que se ven habitualmente en la HPP. La asimetría de la marcha es una medida funcional importante, debido a que compromete la capacidad de sortear obstáculos y aumenta el riesgo de colisiones y caídas.

- La continuidad de la marcha refleja el equilibrio, la estabilidad, y la fluidez del movimiento. La continuidad de la marcha puede afectar a la seguridad del paciente, ya que el movimiento hacia adelante se retrasa cuando no hay continuidad de pasos, lo que afecta la estabilidad de la marcha y el riesgo de caída.

Por otro lado, el inicio de la marcha es indicativo de anomalías neurológicas (por ejemplo, enfermedad de Parkinson), y es menos probable que sea como consecuencia de defectos musculoesqueléticos; por lo tanto, no se esperaba que el inicio de la marcha se viera afectado por las discapacidades físicas específicas de la HPP. Además, los problemas potenciales identificados para el elemento "trayectoria" incluyeron una posible falta de marcha enfocada y decidida en los niños y la posible dificultad para cuantificar la desviación de la trayectoria en los vídeos históricos en ausencia de marcadores de suelo específicos. Las siguientes modificaciones específicas de HPP de la POMA-G se realizaron para optimizar el valor discriminante de la evaluación en pacientes con HPP, preservando al mismo tiempo las propiedades clinométricas del instrumento subyacente.

- Se eliminó el elemento 1 (inicio de la marcha) debido a que los pacientes con HPP no suelen tener dificultades para iniciar la marcha.

- Se eliminó el elemento 5 (trayectoria), debido a que no se esperaba que la naturaleza y la calidad de las imágenes de vídeo clínico permitieran una evaluación confiable de las desviaciones de la trayectoria, así como la posibilidad de ausencia de movimiento enfocado y decidido como es típico de los niños pequeños.

- En el elemento 2 (longitud del paso), la escala se cambió de una escala de calificación de 2 puntos (0, 1) a una escala de 3 puntos (0, 1, 2) con definiciones detalladas para cada puntuación para proporcionar una mayor sensibilidad y precisión para detectar cambios. La relevancia clínica se aplicó al aumento del riesgo de tropiezos y caídas, disminución de la capacidad para subir escaleras estándar o para subir escaleras de autobuses escolares con una mayor elevación vertical. Similar a la deambulación, subir escaleras con un patrón maduro de pies alternos requiere una longitud de paso adecuada y una extensión de la cadera en la extremidad de apoyo. Un tamaño de paso reducido requiere más pasos para deambular una distancia determinada, un posible aumento de la fatiga y dificultades para seguir el ritmo de los compañeros.

- En el elemento 4 (continuidad de los pasos), la escala se cambió de una escala de calificación de 2 puntos (0, 1) a una escala de 3 puntos (0, 1, 2) para tener una puntuación crediticia parcial de 2 para la continuidad de los pasos emergentes y una mayor sensibilidad y precisión para detectar cambios. Se otorgó una puntuación de dos si la

continuidad de los pasos no se veía bilateralmente y solo estaba presente en un lado, o si bilateralmente había un golpe de talón en el contacto inicial con una posición plana del pie en la extremidad de apoyo. La relevancia clínica se aplica a la deambulación lenta e ineficiente y la estabilidad reducida que podría afectar la capacidad para moverse entre clases en el tiempo asignado y dificultades para participar en actividades escolares.

- 5 Además, el análisis de mPOMA-G resultante incluyó descripciones aclaratorias de todos los elementos, incluyendo el balanceo del tronco y la postura para caminar, para aumentar la sensibilidad y la coherencia entre los evaluadores. También se creó una clave de puntuación para proporcionar detalles adicionales sobre la calificación del elemento y para incluir ejemplos de un niño que demuestra continuidad de los pasos (Fig. 1) y para la separación del pie al suelo, evaluación de la flexión de la cadera y la rodilla en la mitad del balanceo (Fig. 2) como referencia durante la calificación.
- 10 La mPOMA-G, optimizada para el análisis de pacientes con HPP, se muestra a continuación (Tabla 3). De manera similar a la POMA-G, 0 es la puntuación más baja por elemento, y 1 o 2 es la puntuación más alta por elemento. Al igual que en la POMA-G, las puntuaciones de los elementos individuales se suman para generar una escala de discapacidad de 0 a 12, indicando las puntuaciones más bajas mayor discapacidad. Las modificaciones mejoraron la sensibilidad al cambio específica de HPP y la capacidad discriminante, al tiempo que preservaron las propiedades clinométricas históricas de la POMA-G no modificada. Además, la mPOMA-G no requirió instrumentación especial o ángulos de cámara, mostró una sólida confiabilidad entre evaluadores, y estaba bien correlacionada con otras medidas de funcionalidad clínicamente significativa.
- 15

Tabla 3. Evaluación de la Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha modificada (mPOMA-G)

Evaluación		Observación	Puntuación
1	Longitud y altura del paso		
	a) Pie derecho del balanceo	No adelanta al pie de apoyo izquierdo con el paso	= 0
		El talón derecho adelanta al pie de apoyo izquierdo	= 1
		El pie derecho adelanta al pie de apoyo izquierdo en al menos la longitud del pie del individuo entre el dedo del pie de apoyo y el talón de balanceo	= 2
	b) Separación del pie derecho del suelo	El pie derecho no se despeg completamente del suelo con el paso, o levanta el pie más de 1 a 2 pulgadas	= 0
		El pie derecho se despeg completamente del suelo	= 1
	c) Pie izquierdo del balanceo	No adelanta al pie de apoyo derecho con el paso	= 0
		El talón izquierdo adelanta al pie de apoyo derecho	= 1
		El pie izquierdo adelanta al pie de apoyo derecho en al menos la longitud del pie del individuo entre el dedo del pie de apoyo y el talón del balanceo	= 2
	d) Separación del pie izquierdo del suelo	El pie izquierdo no se despeg completamente del suelo con el paso, o levanta el pie más de 1 a 2 pulgadas	= 0
		El pie izquierdo se despeg completamente del suelo	= 1
2	Simetría de los pasos	La longitud del paso derecho e izquierdo no es igual (estimación)	= 0
		El paso derecho e izquierdo parecen iguales	= 1
3	Continuidad de los pasos	Detención o discontinuidad entre pasos	= 0
		Los pasos aparecen continuos unilateralmente (observa la elevación del talón de 1 pie a medida que el talón del otro pie toca el suelo, unilateralmente) o contacto del pie plano en la extremidad de apoyo cuando el talón del otro pie toca el suelo bilateralmente, sin pausas ni interrupciones en la zancada	= 1
		Los pasos parecen continuos bilateralmente (observe cómo se eleva el talón de 1 pie cuando el talón del otro pie toca el piso,	= 2

Evaluación		Observación	Puntuación
		bilateralmente), sin pausas ni interrupciones en la zancada, la longitud del paso es igual	
4	Estabilidad del tronco	Balanceo marcado o usa ayuda para caminar. Balanceo marcado = flexión lateral moderada como resultado de inestabilidad bilateral o unilateral	= 0
		Sin balanceo marcado pero con patrones compensatorios tales como flexión del tronco, flexión de la rodilla, abducción o retracción del brazo para aumentar la estabilidad postural al caminar	= 1
		Sin balanceo, sin flexión, sin uso de brazos, y sin ayuda para caminar	= 2
5	Postura para caminar	Tacones siempre separados, amplia base de apoyo utilizada para aumentar la estabilidad postural	= 0
		Tacones separados de forma intermitente	= 1
Puntuación de la marcha			/12

Ejemplo 2. Pacientes con HPP tratados con asfotasa alfa y controles históricos de HPP

Todos los pacientes con HPP incluidos en los análisis de mPOMA-G debían tener: 1) diagnóstico documentado de HPP con inicio de síntomas ≥ 6 meses de edad (es decir, HPP infantil), y 2) ≥ 2 vídeos de calidad suficiente para evaluar la marcha entre las edades de 5 y 15 años. Los pacientes tratados con asfotasa-alfa se inscribieron en un estudio abierto de fase 2 en curso, en el que se administró asfotasa alfa a una dosis de 6 mg/kg/semana a estos pacientes. De los pacientes con HPP tratados, cinco pacientes con HPP tenían datos de vídeos antes y después del inicio del tratamiento con asfotasa alfa, y de este modo, se comparó un cambio en la marcha antes del tratamiento con un cambio en la marcha durante el tratamiento. Los seis pacientes con HPP del HC se inscribieron en un estudio de historia natural funcional no intervencionista, y sirvieron como grupo de control no concurrente para los ocho pacientes de comienzo juvenil tratados con asfotasa alfa para estos análisis de la marcha. Todos los pacientes de los controles históricos de HPP declinaron la participación en los ensayos de tratamiento, o ya no cumplieron con los criterios de edad.

Las características demográficas y de línea de base para los grupos de pacientes se muestran en la Tabla 4. En todos los grupos, la mayoría de los pacientes eran hombres blancos. En general, los pacientes de HC y todos los pacientes tratados fueron similares con respecto a la edad en el comienzo de la HPP, en la línea de base, y en la última evaluación de la marcha. Los pacientes con HPP (n = 5) con datos previos al tratamiento disponibles tendían a ser un poco más jóvenes al inicio de los síntomas de HPP y en su evaluación inicial en comparación con el grupo de HC.

Tabla 4. Características de la línea de base para pacientes del control histórico de HPP, pacientes con datos de la marcha antes del tratamiento y durante el tratamiento, y todos los pacientes tratados (tratamiento con asfotasa alfa).

Variable	Control histórico de HPP de comienzo juvenil (N=6)	Tratamiento previo y durante el tratamiento de comienzo juvenil (N=5)	Todos de comienzo juvenil tratados con asfotasa alfa (N=8)
Edad en el momento de la inscripción (meses), n	ND ^a	ND ^b	8
Media (SD)	NA	NA	101,70 (23,936)
Mediana	NA	NA	100,35
Min, Max	NA	NA	72,3, 144,5
Edad al comienzo de HPP (meses) n	6	5	8
Media (SD)	16,5 (11,24)	14,59 (4,319)	15,25 (4,027)

Variable	Control histórico de HPP de comienzo juvenil (N=6)	Tratamiento previo y durante el tratamiento de comienzo juvenil (N=5)	Todos de comienzo juvenil tratados con asfotasa alfa (N=8)
Mediana	11,5	12,00	13,50
Min, Max	8, 36	12,0, 22,0	12,0, 22,0
Edad en la evaluación de la marcha de la línea de base (años), n	6	5	8
Media (SD)	7,10 (2,208)	6,68 (1,839)	8,58 (1,972)
Mediana	6,20	6,30	8,45
Min, Max	5,3, 10,7	4,3, 9,1	6,2, 12,1
Edad en la última evaluación de la marcha (años)	6	5	8
Media (SD)	10,95 (2,279)	8,86 (2,033)	10,31 (1,840)
Mediana	11,05	8,70	10,20
Min, Max	8,2, 14,9	6,5, 12,1	8,2, 14,1
Sexo			
Hombre, n (%)	6 (100,0)	4 (80,0)	6 (75,0)
Mujer, n (%)	0 (0,0)	1 (20,0)	2 (25,0)
Etnicidad			
Hispano o latino, n (%)	2 (33,3)	0	1 (12,5)
Ni hispano ni latino, n (%)	4 (66,7)	5(100,0)	7 (87,5)
Raza			
Indio americano o nativo de Alaska, n (%)	0	0	0
Asiático, n (%)	0	0	0
Negro o afroamericano, n (%)	0	0	0
Nativo de Hawai o de otras islas del Pacífico, n (%)	0	0	0
Blanco, n (%)	6 (100,0)	5 (100,0)	8 (100,0)
Otro, n (%)	0	0	0
Abreviaturas: max = máximo, min = mínimo, ND = no realizado, SD = desviación estándar			
^a La edad en el momento de la inscripción no fue aplicable para los pacientes de controles históricos de HPP debido a que los datos se extrajeron retrospectivamente de los registros médicos.			
^b La edad en el momento de la inscripción no se calculó para el subconjunto de pacientes tratados con datos previos y posteriores al tratamiento.			

El historial médico más relevante para la marcha de los pacientes tratados y de HC es como se muestra en la Tabla 5. Los ocho pacientes con HPP tratados con asfotasa alfa y los seis pacientes de HC tenían antecedentes de alteración de la marcha. La deformidad ósea (arqueamiento de los huesos largos), el dolor óseo, y la debilidad muscular fueron los síntomas más frecuentes dados a conocer en los grupos de pacientes. También se observaron déficits de la marcha

en la evaluación de la línea de base de la mPOMA-G. Los déficits más habituales (despegue del pie, postura, balanceo proximal/tronco, y longitud del paso) implican la pérdida de la fuerza de los músculos proximales en la fisiopatología de la HPP y el desarrollo posterior de estrategias compensadoras en pacientes con HPP (por ejemplo, patrón de marcha como un pato y mayor base de apoyo).

5 Tabla 5. Historial médico específico de HPP relevante para poblaciones de pacientes.

	HPP histórica de comienzo juvenil (N=6)	Tratamiento previo y durante el tratamiento de comienzo juvenil (N=5)	Todos de comienzo juvenil tratados (N=8)
	n(%)	n(%)	n (%)
Artralgia / Dolor en las articulaciones	3 (50,0)	1 (20,0)	2 (25,0)
Dolor articular que limita las actividades diarias	3 (50,0)	-	-
Dolor articular que requirió analgésicos para su manejo	3 (50,0)	-	-
Deformidad ósea (arqueamiento de los huesos largos)	6 (100,0)	2 (40,0)	3 (37,5)
Dolor óseo	3 (50,0)	2 (40,0)	4 (50,0)
Dolor óseo que limita las actividades diarias	3 (50,0)	1 (20,0)	2 (25,0)
Dolor óseo que requirió analgésicos para su manejo	2 (33,3)	1 (20,0)	2 (25,0)
Fractura	3 (50,0)	1 (20,0)	2 (25,0)
Trastorno de la marcha	6 (100,0)	5 (100,0)	8 (100,0)
Marcha inusual	5 (83,3)	-	-
Marcha de pato	4 (66,7)	-	-
Debilidad muscular	3 (50,0)	3 (60,0)	5 (62,5)
Debilidad muscular que limita las actividades diarias	3 (50,0)	-	-
Mialgia / Dolor muscular	2 (33,3)	3 (60,0)	4 (50,0)
Dolor muscular que limita las actividades diarias	2 (33,3)		
Dolor muscular que requirió analgésicos para su manejo	1 (16,7)		
Escoliosis	1 (16,7)		
Déficits de la marcha (mPOMA-G) ^a	6 (100,0) ^a	5 (100,0) ^b	8 (100,0) ^a
Longitud del paso (balanceo)	4 (66,7)	4 (80,0)	7 (87,5)
Estepaje (separación del pie)	5 (83,3)	4 (80,0)	8 (100,0)
Balanceo proximal/tronco	6 (100,0)	5 (100,0)	8 (100,0)
Postura	2 (33,3)	2 (40,0)	6 (75,0)

^a Datos de déficit de la marcha basados en puntuaciones de mPOMA-G en la línea de base.

^b Datos de déficit de la marcha basados en puntuaciones de mPOMA-G en un momento histórico.

Ejemplo 3. Recopilación de datos de la marcha para determinar mPOMA-G de poblaciones de pacientes

Tres fisioterapeutas calificados y capacitados puntuaron vídeos de deambulación usando la mPOMA-G. Los evaluadores no participaron en el cuidado de los pacientes inscritos, y no conocían los identificadores de los pacientes ni las fechas de la grabación de los vídeos. A todos los evaluadores se les proporcionó un Manual de Evaluadores Independientes que describe el proceso para puntuar los vídeos funcionales en apoyo de su capacitación. Los rostros visibles en los vídeos se difuminaron permanentemente, y los vídeos se enmascararon y se asignaron al azar antes de la puntuación.

La puntuación de mPOMA-G para cada punto de tiempo disponible se obtuvo sumando la puntuación mediana (entre los 3 evaluadores) para cada componente individual en ese punto de tiempo. Para los pacientes de HC, la línea de base se definió como la puntuación de mPOMA-G más temprana disponible dentro del período de 5 a 15 años de edad (permitiendo una ventana de 2 semanas alrededor de estas edades). El cambio desde la línea de base se calculó para cada punto de tiempo posterior a la línea de base. La última evaluación disponible se utilizó para la comparación.

Para los pacientes tratados con asfotasa alfa, la última evaluación disponible se definió como el último punto de tiempo para el cual el tiempo desde la línea de base fue menor o igual a la mediana del tiempo desde la línea de base entre los resultados del análisis de mPOMA-G de pacientes de HC. El punto de tiempo para la última evaluación en los pacientes tratados fue siempre menor que la mediana del tiempo desde la línea de base en los pacientes de HC; por lo tanto, no se censuraron datos.

La tasa de cambio en la puntuación de mPOMA-G se comparó entre los pacientes tratados y los pacientes de HC (criterio de valoración principal) mediante una prueba de la suma de rangos de Wilcoxon con un alfa de dos lados de 0,05, un método exacto para determinar el valor de *P*. Para cada paciente, la tasa de cambio se calculó dividiendo el cambio desde la línea de base hasta la última evaluación disponible en la puntuación de mPOMA-G entre el tiempo (en años) desde la línea de base hasta la última evaluación. Para los pacientes con HPP tratados con asfotasa alfa con un vídeo disponible antes de la evaluación de la línea de base, la tasa de cambio por año en la puntuación de mPOMA-G se determinó durante el período de tiempo entre la evaluación antes de la línea de base y la línea de base, además de entre la línea de base y la última evaluación durante el tratamiento. Los cambios dentro del grupo de la línea de base y de las evaluaciones antes del tratamiento se evaluaron utilizando la prueba estadística de rango con signo de Wilcoxon.

Ejemplo 4. Validación de mPOMA-G para evaluar las mejoras de la marcha en pacientes con HPP

Se calcularon los coeficientes de correlación intraclase (ICC) para evaluar la concordancia general entre evaluadores e intraevaluadores. Los evaluadores puntuaron vídeos de niños con HPP infantil y de adolescente (≥ 6 meses de edad) de 2 estudios clínicos (participantes del ensayo clínico de asfotasa alfa, $n = 8$; participantes del estudio de historia natural, $n = 6$), como se describe en el Ejemplo 2. Para ICC entre evaluadores, se utilizó un modelo de análisis de varianza de efectos aleatorios bidireccional con términos para la visita del sujeto, el evaluador, y la interacción entre la visita del sujeto y el evaluador. Para ICC intraevaluadores, se utilizó un modelo de análisis de varianza de efectos aleatorios bidireccional con términos para visita del sujeto-evaluador, revisión (original o repueba), y la interacción entre visita del sujeto-evaluador y revisión. La hipótesis nula se probó con un nivel de significancia de 0,025, y se rechazó solo si $ICC > 0$. La concordancia entre evaluadores durante todas las visitas fue excelente ($UCC = 0,76$, $p < 0,0001$, número de observaciones=192). Asimismo, la concordancia intraevaluadores durante todas las visitas también fue excelente ($ICC = 0,76$, $p < 0,001$, número de observaciones=192).

Para el análisis de validez concurrente, se realizó una regresión lineal para determinar la relación entre las puntuaciones de mPOMA-G y otras medidas de resultado clínico en niños y adolescentes tratados con asfotasa alfa ($n = 5$), que incluyeron el Índice de Discapacidad del Cuestionario de Evaluación de la Salud Infantil (CHAQ), Escala de Transferencia y Movilidad del Instrumento de Recopilación de Datos de Resultados Pediátricos (PODCI) (puntuación normativa dada a conocer por los padres), y la Prueba de Marcha de Seis Minutos (6MWT; distancia recorrida en metros). La 6MWT se escogió debido a que esta medida mide la capacidad para deambular, y PODCI y CHAQ se escogieron debido a que estas medidas miden la capacidad para participar en las actividades normales de la vida diaria (por ejemplo, subir escaleras y subir a un autobús) y deportes y recreación comunitarios. Hubo fuertes correlaciones entre las puntuaciones de mPOMA-G de pacientes con HPP y pacientes de HC con medidas de capacidad para realizar actividades de la vida diaria según se evalúan utilizando CHAQ (Fig. 3A) y PODCI (Fig. 3B) además de las medidas de función física según se evalúan utilizando la 6MWT (Fig. 3C).

Ejemplo 5. Diferencia mínima clínicamente importante de mPOMA-G

Se determinó prospectivamente una diferencia mínima clínicamente significativa (MCID) en la puntuación de mPOMA-G en función de la relación entre la puntuación de mPOMA-G y otros criterios de valoración para los que estaban disponibles informes de cambios clínicamente significativos, es decir, el índice de discapacidad de CHAQ (cambio de -0,13) (Dempster, H., et al., *Arthritis & Rheumatism* 44(8):1768-74 (2001)), la puntuación normativa de la escala de movilidad básica y transferencia PODCI de los padres (cambio de 4,5) (véase Henricson, E., et al., *PLOS Currents Muscular Dystrophy* 2013, 1-21, 6MWT y distrofia muscular de Duchenne; Oeffinger, D., et al., *Dev Med & Child Neurol* 50: 918-925 (2008), parálisis cerebral ambulatoria en niños) y distancia andada de 6MWT (30 metros) (McDonald,

C.M. et al., Muscle Nerve 48:357-68 (2013)). Usando datos de los 5 pacientes con HPP de comienzo infantil (antes de analizar los datos de comienzo juvenil), se realizaron regresiones lineales separadas para el mPOMA-G con el CHAQ ($r^2 = 0,73$ [21 puntos de datos]), PODCI ($r^2 = 0,53$ [21 puntos de datos]), y 6MWT ($r^2 = 0,70$ [28 puntos de datos]).

Usando las ecuaciones lineales resultantes, un cambio clínicamente significativo de -0,13 en el CHAQ se correspondió con un cambio de 0,45 en la puntuación de mPOMA-G, un cambio clínicamente significativo de 4,5 en la Prueba PODCI de Aptitud Motora se correspondió con un cambio de 0,76 en la puntuación de mPOMA-G, y un cambio clínicamente significativo de 30 metros en la 6MWT se correlacionó con un cambio de 0,59 en la puntuación de mPOMA-G. De éstos, se utilizaron el CHAQ y el PODCI debido a que son medidas de discapacidad para las que se esperaba que las diferencias clínicamente importantes en las poblaciones pediátricas fueran relativamente independientes de la enfermedad, y por lo tanto mejores para el análisis correlativo. Las correlaciones con cambios mínimos clínicamente importantes en la 6MWT también se incluyeron para completud. Según los resultados de los tres análisis, un cambio de 0,6 en la puntuación de mPOMA-G se identificó prospectivamente como un cambio clínicamente significativo.

Estos datos demuestran que el análisis de mPOMA-G es un método confiable para detectar deficiencias clínicamente significativas en la marcha, así como cambios clínicamente significativos en las deficiencias en la marcha, utilizando vídeos de niños y adolescentes con HPP. En consecuencia, la puntuación de mPOMA-G mostró una fuerte asociación simultánea con la función física y la discapacidad dada a conocer por el paciente al realizar actividades de la vida diaria.

Ejemplo 6. Análisis de las alteraciones de la función física y de la marcha en controles históricos de HPP

Los pacientes de HC variaron en movilidad desde el paciente más grave, que requirió un andador o silla de ruedas hasta el 50% del tiempo, hasta el paciente de mayor funcionamiento, que pudo participar en deportes comunitarios. Para todos los pacientes, la actividad estuvo limitada por la fatiga y/o el dolor. Algunos pacientes tenían dificultades para seguir el ritmo con sus compañeros sanos. La debilidad muscular se observó mediante la prueba muscular manual en estos pacientes, y se observó con mayor frecuencia en los extensores y abductores de la cadera.

Tres evaluadores evaluaron vídeos de los pacientes de HC para los descriptores de la marcha, incluyendo rodilla vara/valga, posición de rodillas y caderas en la posición terminal, y uso de órtesis; descriptores de carrera que incluyen balanceo de brazos, presencia de Trendelenburg, estepaje, circunducción o marcha en tijera, contacto con el pie y patrón de empuje, y presencia/ausencia de período de vuelo; la capacidad de pararse sobre un pie; y la capacidad de levantarse del suelo a pararse sin usar las manos.

Genu valgo o "rodilla en equis" se observó en el 67% (4/6) de los pacientes de HC en la primera evaluación, y los seis pacientes de HC mostraron genu valgo en la última evaluación. Se observó en los seis pacientes de HC un patrón de carrera que utilizó estrategias para compensar la disminución de la estabilidad proximal y la debilidad. En la última evaluación, el 67% de los pacientes de HC no pudieron lograr un período de vuelo, lo que indica que no se logró la carrera real. Según las Escalas Motoras de Desarrollo de Peabody (PDMS-2), la edad normativa media para adquirir la carrera con un período de vuelo con ambos pies en el aire es aproximadamente 1,6 años, mientras que un patrón de carrera maduro se adquiere típicamente en aproximadamente 3,4 años de edad. Para obtener una descripción de las escalas de PDMS-2, véase van Hartingsveldt et al. (Occup. Ther. Int. 12(1): 1-13, 2005).

El tiempo de pie en un pie fue menor en todos los HC que lo que se dio a conocer anteriormente en pares sanos de la misma edad, que fue 1,5 a 5,6 s en los seis (100%) HC, que tenían más de 5,3 años en la primera evaluación. Como referencia, la edad normativa media de PDMS-2 para lograr estar de pie en un pie durante 5 segundos es aproximadamente 3,8 años. Se observaron signos de Trendelenburg (indicativos de músculos abductores débiles de la cadera) en los seis HC. Todos los HC requirieron el apoyo de una o dos manos para hacer la transición del suelo a estar de pie, lo que indica además inestabilidad o debilidad proximal.

A continuación, se evaluó la marcha de los HC usando la mPOMA-G, como se describe en los Ejemplos 1-3. Cada HC tenía un par de vídeos para la evaluación de la marcha. El tiempo de la mediana (min, max) entre la primera evaluación y la última evaluación fue 49,2 (24, 71) meses. Todos los HC demostraron alteraciones mensurables de la marcha en la primera evaluación, oscilando las puntuaciones de mPOMA-G de 3 a 11 (mediana 6; Tabla 6). Los seis HC conservaron las alteraciones de la marcha desde la primera evaluación hasta la última evaluación, oscilando las puntuaciones de mPOMA-G de 4 a 11 (mediana de 7,5) en la última evaluación. No hubo un patrón consistente de cambio en los componentes de mPOMA-G (Tabla 7).

Tabla 6. Evaluación de la marcha de los controles históricos de HPP.

Mediana (mín, max), n=6	Primera evaluación	Última evaluación	Cambio desde la primera evaluación
Aqe en evaluación, años	6,2 (5,3, 10,7)	11,1 (8,2, 14,9)	4,1 (2,1, 5,9)
Puntuación de mPOMA-G	6,00 (3,0, 11,0)	7,50 (4,0, 11,0)	1,50 (0,0, 2,0), $PAG=0,0625$
Valor de P basado en la prueba de signos no paramétrica para determinar si la mediana del cambio desde la línea de base difiere de 0.			

Tabla 7. Cambio en los componentes de mPOMA-G* de los controles históricos de HPP.

Evaluación (puntos min, max posibles)	Puntuación de la mediana (min, max)		Número de pacientes con cambio (n=6)
	Primera evaluación	Última evaluación	
Separación del pie derecho del suelo (0, 1)	0 (0, 1)	0 (0, 1)	0
Separación del pie izquierdo del suelo (0, 1)	0 (0, 1)	0 (0, 1)	0
Pie de balanceo derecho (0, 2)	1 (1, 2)	1,5 (1, 2)	1
Pie de balanceo izquierdo (0, 2)	1 (1, 2)	1,5 (1, 2)	1
Simetría del paso (0, 1)	1 (0, 1)	1 (0, 1)	0
Continuidad de los pasos (0, 2)	1 (1, 2)	1,5 (1, 2)	1
Tronco (0, 2)	1 (0, 1)	1 (0, 2)	2
Postura para caminar (0, 1)	1 (0, 1)	1 (0, 1)	2
* La puntuación del componente para cada paciente se determina como la puntuación mediana de 3 evaluadores.			

- 5 La longitud y la continuidad de los pasos, el patrón de estepaje, y el marcado balanceo del tronco fueron algunas de las desviaciones de la marcha comúnmente observadas para los HC, que persistieron desde la primera evaluación hasta la última evaluación (Tabla 8).

Tabla 8. Componentes individuales de las puntuaciones de mPOMA-G observados por los evaluadores en la Primera y Última Evaluación de los controles históricos de HPP.

Paciente	Primera evaluación	Última evaluación
1	- Desviaciones de la marcha en la longitud y la continuidad de los pasos, y un patrón de marcha de tipo estepaje - Postura ensanchada y balanceo marcado del tronco	- Desviaciones de la marcha en la longitud y la continuidad de los pasos, y un patrón de marcha de tipo estepaje Postura más estrecha y balanceo leve del tronco
2	- Desviaciones de la marcha en la longitud y la continuidad de los pasos - Patrón de marcha de tipo estepaje - Balanceo marcado del tronco - Ensanchamiento de la base de apoyo para aumentar la estabilidad - Asimetría de la longitud del paso (2/3 evaluadores)	- Desviaciones de la marcha en la longitud y la continuidad de los pasos - Patrón de marcha de tipo estepaje - Balanceo marcado del tronco - Ensanchamiento de la base de apoyo para aumentar la estabilidad Sin asimetría de la longitud del paso (3 evaluadores)

Paciente	Primera evaluación	Última evaluación
3	• Balanceo leve del tronco o presencia de patrones de brazos compensatorios para compensar la inestabilidad proximal	• Balanceo leve del tronco o presencia de patrones de brazos compensatorios para compensar la inestabilidad proximal
4	• Patrón de marcha de tipo estepaje • Balanceo leve del tronco • El paso adelanta un poco más allá del pie estacionario bilateralmente	• Patrón de marcha de tipo estepaje • Balanceo leve del tronco • El paso adelanta el pie de apoyo en al menos 1 pie de longitud bilateralmente
5	• Desviaciones de la marcha en la longitud y la continuidad de los pasos • Patrón de marcha de tipo estepaje • Balanceo marcado del tronco • Ensanchamiento de la base de apoyo	• Desviaciones de la marcha en la longitud y la continuidad de los pasos • Patrón de marcha de tipo estepaje • Balanceo marcado del tronco • Tacones ensanchados intermitentemente o casi tocándose al caminar
6	• Patrón de marcha de tipo estepaje • Falta de continuidad de los pasos (1/3 evaluadores) • Balanceo leve del tronco (1/3 evaluadores)	• Patrón de marcha de tipo estepaje (2/3 evaluadores) • Continuidad de los pasos normal (3 evaluadores) • Ausencia de balanceo del tronco (3 evaluadores)
Texto en negrita: se ha observado una mejora desde la primera hasta la última evaluación.		

Estos resultados indican que la debilidad muscular proximal fue prevalente y persistente en los HC, como lo indican los descriptores de la marcha, los elementos de movilidad funcional, y las puntuaciones de mPOMA-G. Todos los HC tenían una alteración de la marcha clínicamente significativa que persistió durante todo el estudio.

5 Ejemplo 7. Análisis comparativo de la marcha utilizando mPOMA-G de pacientes con HPP y controles históricos de HPP

Los pacientes con HPP infantil y de adolescente tratados con asfotasa alfa demostraron una mejora estadísticamente significativa en la tasa de cambio por año en la puntuación de mPOMA-G desde la línea de base hasta la última evaluación en comparación con los HC (Fig. 4 y Tabla 9). La mediana (intervalo) de la tasa de cambio por año en los pacientes tratados con asfotasa alfa fue 2,51 (0,0, 4,6) en comparación con 0,33 (0,0, 0,9) en los HC ($p = 0,0303$, prueba de la suma de rangos de Wilcoxon (método exacto)). La tasa de cambio utilizando la puntuación de POMA-G fue direccionalmente la misma que para la puntuación de mPOMA-G, y demostrando los pacientes tratados una mayor tasa de cambio en comparación con los HC.

Tabla 9. Tasa de cambio por año desde la línea de base hasta la última evaluación de la puntuación de mPOMA-G en pacientes tratados con asfotasa alfa frente a pacientes de controles históricos de HPP con HPP de comienzo juvenil.

Estadística	Control histórico de HPP de comienzo juvenil (N=6)	Tratamiento de comienzo juvenil (N=8)
mPOMA-G de línea de base		
N		8
Media (SD)	6,3 (2,94)	4,6 (2,33)
Mediana (min, max)	6,0 (3, 11)	4,0 (2, 9)
Tasa de cambio de mPOMA-G (por año)		
N	6	8
Media (SD)	0,37 (0,306)	2,25 (1,672)
Mediana (min, max)	0,33 (0,0, 0,9)	2,51 (0,0, 4,6)
valor de p (dentro del grupo) ^a	0,0625	0,0156
valor de p (entre grupos) ^b	0,0303	
Abreviaturas: max = máximo, min = mínimo, SD = desviación estándar		
a Comparación dentro del grupo del cambio desde la línea de base hasta la última evaluación basada en la prueba de rangos con signo de Wilcoxon.		
b Comparación entre grupos del cambio desde la línea de base hasta la última evaluación basada en la prueba de suma de rangos de Wilcoxon (método exacto).		

Para los pacientes con HPP tratados con asfotasa alfa que tenían un vídeo de pretratamiento disponible, se determinó la tasa de cambio por año en la puntuación de mPOMA-G durante el período de tiempo antes y después de recibir el tratamiento con asfotasa alfa. Se observó deterioro de la marcha antes de iniciar el tratamiento con asfotasa alfa (mediana de la tasa de cambio/año de -0,72), mientras que la mediana de la tasa de cambio durante el tratamiento por año fue 3,01 (0,0, 3,6) (Fig. 5 y Tabla 10). Estos resultados fueron consistentes con los resultados de la comparación con los HC, mostrando el grupo tratado mejoras en la marcha en comparación con los controles históricos o previos al tratamiento.

Tabla 10: Tasa de cambio por año en la puntuación de mPOMA-G antes del tratamiento frente a durante el tratamiento en pacientes con HPP de comienzo juvenil (N = 5).

Estadística	Antes del tratamiento (N=5)	En tratamiento (N=5)
Tasa de cambio de mPOMA-G (por año)		
N	5	5
Media (SD)	-0,67 (0,401)	2,14 (1,669)
Mediana (min, max)	-0,72 (-1,0, 0,0)	3,01 (0,0, 3,6)
valor de p	0,1250	0,1250
Abreviaturas: max = máximo, min = mínimo, SD = desviación estándar		
Comparación dentro del grupo del cambio desde la línea de base hasta la última evaluación según la prueba de rangos con signo de Wilcoxon.		

Los pacientes tratados con asfotasa alfa tuvieron una mediana absoluta por cambio de paciente desde la línea de base en la puntuación de mPOMA-G que fue dos veces mayor que la de los HC (mediana de cambio de 3,0 frente a 1,5, respectivamente; Fig. 6 y Tabla 11). Si bien ambos grupos excedieron la diferencia mínima clínicamente

importante (MCID) de mPOMA-G preidentificada de 0,6, los pacientes tratados con asfotasa alfa tuvieron una mediana de mejoría en la puntuación dos veces mayor que los HC.

Tabla 11: Cambio desde el la línea de base hasta la última evaluación de la puntuación de mPOMA-G para los tratados con asfotasa alfa frente a los controles históricos de HPP

Estadística	Control histórico de HPP de comienzo juvenil (N=6)		Tratados de comienzo juvenil (N=8)	
	Puntuación real	Cambio desde BL	Puntuación real	Cambio desde BL
Línea de base				
N	6	-	8	-
Media (SD)	6,3 (2,94)	-	4,6 (2,33)	-
Mediana (min, max)	6,0 (3, 11)	-	4,0 (2, 9)	-
Última evaluación				
N	6	6	8	8
Media (SD)	7,7 (2,73)	1,3 (0,82)	7,9 (2,17)	3,3 (2,60)
Mediana (min, max)	7,5 (4, 11)	1,5 (0, 2)	9,0 (4, 10)	3,0 (0, 7)
valor de p (dentro del grupo) ^a	0,0625		0,0156	
valor de p (entre grupos) ^b	0,2561			

^a Comparación dentro del grupo del cambio desde la línea de base hasta la última evaluación basada en la prueba de rangos con signo de Wilcoxon.

^b Comparación entre grupos del cambio desde la línea de base hasta la última evaluación basada en la prueba de suma de rangos de Wilcoxon (método exacto)

Abreviaturas: BL = línea de base: max = máximo, min = mínimo, SD = desviación estándar

5

Los déficits más comunes en la marcha observados en la línea de base para los pacientes tratados y los HC (separación del pie al suelo, posición, balanceo proximal/tronco, y longitud del paso) implican la falta de fuerza muscular proximal como una complicación de la HPP, lo que da como resultado anomalías compensatorias de la marcha (por ejemplo, andar como un pato y base de apoyo aumentada). Después del tratamiento con asfotasa alfa, los componentes del análisis de la marcha que mostraron la mayor incidencia de mejoría fueron la longitud del paso y la posición (Tabla 12).

10

Tabla 12. Incidencia de los componentes separados de mPOMA-G antes y después del tratamiento de pacientes con HPP con asfotasa alfa.

Déficits de la marcha (mPOMA-G)	Controles históricos de línea de base (n=6) n (%)	Pacientes tratados (n=8) n (%)	
		Línea de base	Tras asfotasa alfa
Longitud del paso reducida (balanceo)	4 (66,7)	7 (87,5)	1 (12,5)
Estepaje (separación del pie del suelo)	5 (83,3)	8 (100,0)	7 (87,5)
Posición ensanchada	2 (33,3)	6 (75,0)	2 (25)

15

También se comparó la línea de base con la última evaluación para cada paciente en los dos puntos temporales con respecto a la edad del paciente (Figuras 7A-7B). El intervalo de edades fue similar tanto para los pacientes tratados con asfotasa alfa como para los controles históricos de HPP, oscilando las edades mínimas y máximas en la línea de base de 6 a 12 años en los pacientes tratados en comparación con 5 a 11 años en los HC, y oscilando en la última evaluación de 8 a 14 años para los pacientes tratados con asfotasa alfa en comparación con 8 a 15 años para los

pacientes de control de HPP históricos. Ni la edad en la línea de base del estudio ni la edad en la última evaluación fueron significativamente diferentes entre los dos grupos.

Es importante destacar que la comparación de los cambios individuales en mPOMA-G desde la línea de base respalda la conclusión de que el tratamiento con asfotasa alfa mejora la movilidad orientada al rendimiento en pacientes infantiles y adolescentes con HPP de comienzo juvenil. Como se muestra en las Figs. 7A-7B, un paciente en el grupo de control histórico de HPP y un paciente en el grupo tratado con asfotasa-alfa mantuvieron la misma puntuación en la línea de base y en la última evaluación. Los cambios desde la línea de base en los cinco pacientes de control histórico de HPP restantes fueron relativamente pequeños, aumentando dos pacientes en 1 punto, aumentando 3 pacientes en 2 puntos, y no experimentando ningún paciente mejorías mayores de 2 puntos, para una mediana de cambio desde la línea de base de 1,5 puntos. Por el contrario, para los siete pacientes restantes (88%) tratados con asfotasa alfa, dos pacientes mejoraron desde la línea de base hasta la última evaluación en 1 punto, dos pacientes mejoraron en 4 puntos, un paciente mejoró en 5 puntos, y dos pacientes mejoraron en 6 puntos, para una mediana de cambio desde la línea de base de 3,0 puntos. Los resultados de POMA-G fueron consistentes en la tendencia, pero fueron de menor magnitud que los del mPOMA-G específico de HPP.

En contraste con los datos de controles históricos de HPP, en los que cinco de seis HC demostraron alguna mejora en la marcha con el tiempo, cuatro de cada cinco pacientes tratados con asfotasa alfa con datos de la marcha antes del tratamiento demostraron una mayor discapacidad antes del tratamiento (Fig. 8A). Antes de la administración de asfotasa alfa, la mediana del cambio en la puntuación de mPOMA-G era -2,0 (intervalo: -2, 0), mientras que, después de iniciar el tratamiento, la mejoría media fue 5,0 (intervalo: 0, 7) en la última evaluación (Fig. 8B y Tabla 13). Tanto la mediana del deterioro previo al tratamiento como la mejoría durante el tratamiento en la marcha superaron notablemente la MCID preidentificada de 0,6.

Tabla 13: Cambio en la puntuación de mPOMA-G antes del tratamiento frente a durante el tratamiento en pacientes tratados con asfotasa alfa.

Estadística	Antes del tratamiento (N=5)		Durante el tratamiento (N=5)	
	Puntuación real	Cambio desde BL	Puntuación real	Cambio desde BL
n	Resultado histórico más temprano		Línea de base del tratamiento	
	5	-	5	-
Media (SD)	5,8 (2,95)	-	4,4 (2,70)	-
Mediana (min, max)	5,0 (4, 11)	-	4,0 (2, 9)	-
n	Línea de base del tratamiento		Última evaluación del tratamiento	
	5	5	5	5
Media (SD)	4,4 (2,70)	-1,4 (0,89)	8,2 (1,92)	3,8 (3,11)
Mediana (min, max)	4,0 (2, 9)	-2,0 (-2, 0)	9,0 (5, 10)	5,0 (0,7)
valor de p (dentro del grupo) _a	0,1250		0,1250	

^a Comparación dentro del grupo del cambio desde la línea de base hasta la última evaluación basada en la prueba de rangos con signo de Wilcoxon.

Abreviaturas: BL = línea de base; max = máximo, min = mínimo, SD = desviación estándar

Independientemente de la edad en la evaluación histórica más temprana, cuatro (80,0%) pacientes tratados con asfotasa-alfa mostraron una mayor discapacidad de la marcha antes del tratamiento, y un paciente permaneció estable. Además, independientemente de la edad al comienzo del tratamiento, cuatro (80,0%) pacientes tratados con asfotasa-alfa demostraron una mejor marcha después del tratamiento con asfotasa alfa, y un paciente permaneció estable. Además, la mejora observada en la puntuación de la marcha superó la MCID para los cuatro pacientes tratados con asfotasa-alfa.

Estos datos muestran que el análisis y la puntuación de mPOMA-G cuantifican con precisión tanto los déficits como los cambios en la marcha en niños y adolescentes con HPP. Además, los niños y adolescentes con marcha alterada debido a HPP demostraron una mejora clínicamente significativa en la movilidad funcional cuando se trataron con asfotasa alfa en comparación con estos pacientes con HPP antes del tratamiento con asfotasa alfa y los HC. De este

modo, la asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1; Fig. 9) se puede utilizar de forma eficaz para tratar la HPP, sus síntomas, y la disminución de la función física asociada a la misma en pacientes de alrededor de 5 a alrededor de 15 años de edad durante un período de tratamiento prolongado, tal como al menos un año, al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años, tal como durante la vida del paciente.

Ejemplo 8. Optimización de la dosis de asfotasa alfa para tratar alteraciones de la marcha en pacientes con HPP

La dosis de asfotasa alfa (SEQ ID NO: 1) se puede aumentar a, por ejemplo, 9 mg/kg/semana, cuando un niño o adolescente con HPP tiene una puntuación promedio de mPOMA-G de menos de alrededor de 12 después de la administración de asfotasa alfa a una dosis de 6 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año. Por ejemplo, la puntuación promedio de mPOMA-G del niño o adolescente aumentará a alrededor de 8 hasta alrededor de 11 (por ejemplo, 8, 9, 10, u 11) después de ser tratado con una sALP a una dosis de 6 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año. A continuación, la sALP se puede administrar en una dosis de, por ejemplo, 9 mg/kg/semana hasta que el niño o adolescente muestre mejoras adicionales en la marcha, tal como se determina mediante el análisis y la puntuación de mPOMA-G. En particular, la puntuación promedio de mPOMA-G del niño o adolescente puede aumentar de alrededor de 8 a alrededor de 12 después de la administración de una sALP a una dosis de 9 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año, tal como al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más de diez años (por ejemplo, la vida del paciente).

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Alexion Pharmaceuticals, Inc.

<120> MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA HIPOFOSFATASIA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES

<130> 50694-061WO1

<160> 20

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 726

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 1

ES 2 887 573 T3

Leu	Val	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Asp	Pro	Lys	Tyr	Trp	Arg	Asp	Gln	Ala	1	5	10	15
Gln	Glu	Thr	Leu	Lys	Tyr	Ala	Leu	Glu	Leu	Gln	Lys	Leu	Asn	Thr	Asn	20	25	30	
Val	Ala	Lys	Asn	Val	Ile	Met	Phe	Leu	Gly	Asp	Gly	Met	Gly	Val	Ser	35	40	45	
Thr	Val	Thr	Ala	Ala	Arg	Ile	Leu	Lys	Gly	Gln	Leu	His	His	Asn	Pro	50	55	60	
Gly	Glu	Glu	Thr	Arg	Leu	Glu	Met	Asp	Lys	Phe	Pro	Phe	Val	Ala	Leu	65	70	75	80
Ser	Lys	Thr	Tyr	Asn	Thr	Asn	Ala	Gln	Val	Pro	Asp	Ser	Ala	Gly	Thr	85	90	95	
Ala	Thr	Ala	Tyr	Leu	Cys	Gly	Val	Lys	Ala	Asn	Glu	Gly	Thr	Val	Gly	100	105	110	
Val	Ser	Ala	Ala	Thr	Glu	Arg	Ser	Arg	Cys	Asn	Thr	Thr	Gln	Gly	Asn	115	120	125	
Glu	Val	Thr	Ser	Ile	Leu	Arg	Trp	Ala	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Ser	Val	130	135	140	
Gly	Ile	Val	Thr	Thr	Thr	Arg	Val	Asn	His	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala	Ala	145	150	155	160
Tyr	Ala	His	Ser	Ala	Asp	Arg	Asp	Trp	Tyr	Ser	Asp	Asn	Glu	Met	Pro				

ES 2 887 573 T3

165										170					175				
Pro	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Gly	Cys	Lys	Asp	Ile	Ala	Tyr	Gln	Leu	Met				
			180					185					190						
His	Asn	Ile	Arg	Asp	Ile	Asp	Val	Ile	Met	Gly	Gly	Gly	Arg	Lys	Tyr				
		195					200					205							
Met	Tyr	Pro	Lys	Asn	Lys	Thr	Asp	Val	Glu	Tyr	Glu	Ser	Asp	Glu	Lys				
	210					215					220								
Ala	Arg	Gly	Thr	Arg	Leu	Asp	Gly	Leu	Asp	Leu	Val	Asp	Thr	Trp	Lys				
225					230					235					240				
Ser	Phe	Lys	Pro	Arg	Tyr	Lys	His	Ser	His	Phe	Ile	Trp	Asn	Arg	Thr				
				245					250					255					
Glu	Leu	Leu	Thr	Leu	Asp	Pro	His	Asn	Val	Asp	Tyr	Leu	Leu	Gly	Leu				
			260					265					270						
Phe	Glu	Pro	Gly	Asp	Met	Gln	Tyr	Glu	Leu	Asn	Arg	Asn	Asn	Val	Thr				
		275					280					285							
Asp	Pro	Ser	Leu	Ser	Glu	Met	Val	Val	Val	Ala	Ile	Gln	Ile	Leu	Arg				
	290					295					300								
Lys	Asn	Pro	Lys	Gly	Phe	Phe	Leu	Leu	Val	Glu	Gly	Gly	Arg	Ile	Asp				
305					310					315					320				
His	Gly	His	His	Glu	Gly	Lys	Ala	Lys	Gln	Ala	Leu	His	Glu	Ala	Val				
				325					330					335					
Glu	Met	Asp	Arg	Ala	Ile	Gly	Gln	Ala	Gly	Ser	Leu	Thr	Ser	Ser	Glu				
			340					345					350						
Asp	Thr	Leu	Thr	Val	Val	Thr	Ala	Asp	His	Ser	His	Val	Phe	Thr	Phe				
		355					360					365							
Gly	Gly	Tyr	Thr	Pro	Arg	Gly	Asn	Ser	Ile	Phe	Gly	Leu	Ala	Pro	Met				
	370					375					380								
Leu	Ser	Asp	Thr	Asp	Lys	Lys	Pro	Phe	Thr	Ala	Ile	Leu	Tyr	Gly	Asn				
385					390					395					400				
Gly	Pro	Gly	Tyr	Lys	Val	Val	Gly	Gly	Glu	Arg	Glu	Asn	Val	Ser	Met				
				405					410					415					

ES 2 887 573 T3

Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro Leu
 420 425 430

Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys Gly
 435 440 445

Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val Pro
 450 455 460

His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His Cys
 465 470 475 480

Ala Pro Ala Ser Ser Leu Lys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 485 490 495

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 500 505 510

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 515 520 525

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 530 535 540

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 545 550 555 560

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 565 570 575

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 580 585 590

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 595 600 605

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 610 615 620

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 625 630 635 640

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 645 650 655

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 660 665 670

ES 2 887 573 T3

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
675 680 685

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
690 695 700

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Asp Ile Asp Asp Asp Asp
705 710 715 720

Asp Asp Asp Asp Asp Asp
725

<210> 2

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
145 150 155 160

ES 2 887 573 T3

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala	165	170	175
Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met	180	185	190
Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu	195	200	205
Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys	210	215	220
Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu	225	230	235
Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp	245	250	255
Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg	260	265	270
Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly	275	280	285
Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val	290	295	300
Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu	305	310	315
Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile	325	330	335
Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala	340	345	350
Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser	355	360	365
Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr	370	375	380
Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro	385	390	395
Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly	405	410	415

ES 2 887 573 T3

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His
485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe
515 520

<210> 3

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 3

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110

ES 2 887 573 T3

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
 115 120 125
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
 130 135 140
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
 145 150 155 160
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
 165 170 175
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
 180 185 190
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
 195 200 205
 Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
 210 215 220
 Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu
 225 230 235 240
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp
 245 250 255
 Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg
 260 265 270
 Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly
 275 280 285
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val
 290 295 300
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu
 305 310 315 320
 Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
 325 330 335
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
 340 345 350
 Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser

ES 2 887 573 T3

355

360

365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His
485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe
515 520

<210> 4

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val

ES 2 887 573 T3

50		55		60
Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn				
65		70		75 80
Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala				
	85		90	95
Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly				
	100		105	110
Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val				
	115		120	125
Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly				
	130		135	140
Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser				
145		150		155 160
Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala				
		165	170	175
Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met				
	180		185	190
Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu				
	195		200	205
Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys				
	210		215	220
Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu				
225		230		235 240
Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp				
		245	250	255
Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg				
	260		265	270
Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly				
	275		280	285
Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val				
	290		295	300

ES 2 887 573 T3

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu
305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser
355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His
485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe
515 520

<210> 5

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 5

ES 2 887 573 T3

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
 1 5 10 15
 Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
 20 25 30
 Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
 35 40 45
 Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
 50 55 60
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
 65 70 75 80
 Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
 85 90 95
 Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
 100 105 110
 Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
 115 120 125
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
 130 135 140
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
 145 150 155 160
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
 165 170 175
 Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
 180 185 190
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
 195 200 205
 Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
 210 215 220
 Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu
 225 230 235 240
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp
 245 250 255

ES 2 887 573 T3

Lys Ser Phe Lys Pro Arg Tyr Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg
 260 265 270
 Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly
 275 280 285
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val
 290 295 300
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu
 305 310 315 320
 Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
 325 330 335
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
 340 345 350
 Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser
 355 360 365
 Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
 370 375 380
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
 385 390 395 400
 Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
 405 410 415
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
 420 425 430
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
 435 440 445
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys
 450 455 460
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val
 465 470 475 480
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His
 485 490 495
 Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
 500 505 510
 Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe
 515 520

<210> 6

<211> 524

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 887 573 T3

<400> 6

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Tyr Ala Leu Glu Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Glu Arg Ser Arg Cys Asn Thr Thr Gln Gly
130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
195 200 205

ES 2 887 573 T3

Met His Asn Ile Arg Asp Ile Asp Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
210 215 220

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Lys Thr Asp Val Glu Tyr Glu Ser Asp Glu
225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Val Asp Thr Trp
245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Phe Ile Trp Asn Arg
260 265 270

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly
275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val
290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu
305 310 315 320

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Leu Thr Ser Ser
355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys

ES 2 887 573 T3

450

455

460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Val
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Gly His
485 490 495

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
500 505 510

Leu Ala Leu Ala Leu Tyr Pro Leu Ser Val Leu Phe
515 520

<210> 7

<211> 652

<212> PRT

5 <213> Macaca mulata

<400> 7

Met Pro Thr Val Lys Thr Lys Gln Glu Ser His Ala Gly Ser Gly Ser
1 5 10 15

Gly Pro Arg Leu Ala Glu Arg Lys Gly Arg Val Gly Ala Ala Arg Arg
20 25 30

Gln Ser Pro Arg Ala Pro Gly Gly Gly Leu Pro Gly Pro Arg Ser Gly
35 40 45

Pro Ala Ala Ala Phe Ile Arg Arg Arg Gly Arg Trp Pro Gly Pro Arg
50 55 60

Cys Ala Pro Ala Thr Pro Arg Pro Arg Ser Arg Leu Cys Ala Pro Thr
65 70 75 80

Arg Leu Cys Leu Asp Glu Pro Ser Ser Val Leu Cys Ala Gly Leu Glu
85 90 95

His Gln Leu Thr Ser Asp His Cys Gln Pro Thr Pro Ser His Pro Arg
100 105 110

Arg Ser His Leu Trp Ala Ser Gly Ile Lys Gln Val Leu Gly Cys Thr
115 120 125

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
130 135 140

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln

ES 2 887 573 T3

145		150		155		160									
Ala	Gln	Glu	Thr	Leu	Lys	Tyr	Ala	Leu	Glu	Leu	Gln	Lys	Leu	Asn	Thr
				165					170					175	
Asn	Val	Ala	Lys	Asn	Val	Ile	Met	Phe	Leu	Gly	Asp	Gly	Met	Gly	Val
			180					185					190		
Ser	Thr	Val	Thr	Ala	Thr	Arg	Ile	Leu	Lys	Gly	Gln	Leu	His	His	Asn
		195					200					205			
Pro	Gly	Glu	Glu	Thr	Arg	Leu	Glu	Met	Asp	Lys	Phe	Pro	Phe	Val	Ala
	210					215					220				
Leu	Ser	Lys	Thr	Tyr	Asn	Thr	Asn	Ala	Gln	Val	Pro	Asp	Ser	Ala	Gly
225					230					235					240
Thr	Ala	Thr	Ala	Tyr	Leu	Cys	Gly	Val	Lys	Ala	Asn	Glu	Gly	Thr	Val
				245					250					255	
Gly	Val	Ser	Ala	Ala	Thr	Glu	Arg	Ser	Arg	Cys	Asn	Thr	Thr	Gln	Gly
			260					265						270	
Asn	Glu	Val	Thr	Ser	Ile	Leu	Arg	Trp	Ala	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Ser
		275					280					285			
Val	Gly	Ile	Val	Thr	Thr	Thr	Arg	Val	Asn	His	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala
	290					295					300				
Ala	Tyr	Ala	His	Ser	Ala	Asp	Arg	Asp	Trp	Tyr	Ser	Asp	Asn	Glu	Met
305					310					315					320
Pro	Pro	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Gly	Cys	Lys	Asp	Ile	Ala	Tyr	Gln	Leu
				325					330					335	
Val	His	Asn	Ile	Arg	Asp	Ile	Asp	Val	Ile	Met	Gly	Gly	Gly	Arg	Lys
			340					345					350		
Tyr	Met	Tyr	Pro	Lys	Asn	Lys	Thr	Asp	Val	Glu	Tyr	Glu	Ile	Asp	Glu
		355					360					365			
Lys	Ala	Arg	Gly	Thr	Arg	Leu	Asp	Gly	Leu	Asp	Leu	Val	Asn	Ile	Trp
	370					375					380				
Lys	Ser	Phe	Lys	Pro	Arg	His	Lys	His	Ser	His	Phe	Ile	Trp	Asn	Arg
385					390					395					400

ES 2 887 573 T3

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro His Asn Val Asp Tyr Leu Leu Gly
405 410 415

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Glu Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val
420 425 430

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Val Val Ala Ile Gln Ile Leu
435 440 445

Arg Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
450 455 460

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
465 470 475 480

Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ser Met Thr Ser Leu
485 490 495

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
500 505 510

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
515 520 525

Met Leu Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
530 535 540

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
545 550 555 560

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
565 570 575

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ser Lys
580 585 590

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
595 600 605

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His
610 615 620

Cys Ala Pro Ala Ser Ser Ala Gly Ser Leu Ala Ala Gly Pro Leu Leu
625 630 635 640

Leu Pro Leu Ala Leu Phe Pro Leu Ser Ile Leu Phe
645 650

<210> 8

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Rattus norvegicus

<400> 8

ES 2 887 573 T3

Met	Ile	Leu	Pro	Phe	Leu	Val	Leu	Ala	Ile	Gly	Pro	Cys	Leu	Thr	Asn	1	5	10	15
Ser	Phe	Val	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Asp	Pro	Ser	Tyr	Trp	Arg	Gln	Gln	20	25	30	
Ala	Gln	Glu	Thr	Leu	Lys	Asn	Ala	Leu	Lys	Leu	Gln	Lys	Leu	Asn	Thr	35	40	45	
Asn	Val	Ala	Lys	Asn	Ile	Ile	Met	Phe	Leu	Gly	Asp	Gly	Met	Gly	Val	50	55	60	
Ser	Thr	Val	Thr	Ala	Ala	Arg	Ile	Leu	Lys	Gly	Gln	Leu	His	His	Asn	65	70	75	80
Thr	Gly	Glu	Glu	Thr	Arg	Leu	Glu	Met	Asp	Lys	Phe	Pro	Phe	Val	Ala	85	90	95	
Leu	Ser	Lys	Thr	Tyr	Asn	Thr	Asn	Ala	Gln	Val	Pro	Asp	Ser	Ala	Gly	100	105	110	
Thr	Ala	Thr	Ala	Tyr	Leu	Cys	Gly	Val	Lys	Ala	Asn	Glu	Gly	Thr	Val	115	120	125	
Gly	Val	Ser	Ala	Ala	Thr	Glu	Arg	Thr	Arg	Cys	Asn	Thr	Thr	Gln	Gly	130	135	140	
Asn	Glu	Val	Thr	Ser	Ile	Leu	Arg	Trp	Ala	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Ser	145	150	155	160
Val	Gly	Ile	Val	Thr	Thr	Thr	Arg	Val	Asn	His	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala	165	170	175	
Ala	Tyr	Ala	His	Ser	Ala	Asp	Arg	Asp	Trp	Tyr	Ser	Asp	Asn	Glu	Met	180	185	190	
Arg	Pro	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Gly	Cys	Lys	Asp	Ile	Ala	Tyr	Gln	Leu	195	200	205	
Met	His	Asn	Ile	Lys	Asp	Ile	Asp	Val	Ile	Met	Gly	Gly	Gly	Arg	Lys	210	215	220	

ES 2 887 573 T3

Tyr Met Tyr Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu
 225 230 235 240
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asp Leu Ile Ser Ile Trp
 245 250 255
 Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
 260 265 270
 Thr Glu Leu Leu Ala Leu Asp Pro Ser Arg Val Asp Tyr Leu Leu Gly
 275 280 285
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Leu
 290 295 300
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Val Ala Leu Arg Ile Leu
 305 310 315 320
 Thr Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
 325 330 335
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
 340 345 350
 Val Glu Met Asp Glu Ala Ile Gly Lys Ala Gly Thr Met Thr Ser Gln
 355 360 365
 Lys Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
 370 375 380
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
 385 390 395 400
 Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
 405 410 415
 Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Asp Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
 420 425 430
 Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
 435 440 445
 Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
 450 455 460
 Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
 465 470 475 480
 Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ser Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His
 485 490 495
 Cys Ala Trp Ala Ser Ser Ala Ser Ser Pro Ser Pro Gly Ala Leu Leu
 500 505 510
 Leu Pro Leu Ala Leu Phe Pro Leu Arg Thr Leu Phe
 515 520

ES 2 887 573 T3

<210> 9

<211> 502

<212> PRT

<213> Canis lupus familiaris

5

<400> 9

Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala Gln Gln Thr Leu Lys
1 5 10 15

Tyr Ala Leu Arg Leu Gln Asn Leu Asn Thr Asn Val Ala Lys Asn Val
20 25 30

Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Thr
35 40 45

Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn Pro Gly Glu Glu Thr Arg
50 55 60

Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn
65 70 75 80

Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu
85 90 95

Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val Gly Val Ser Ala Ala Thr
100 105 110

Gln Arg Thr His Cys Asn Thr Thr Gln Gly Asn Glu Val Thr Ser Ile
115 120 125

Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser Val Gly Ile Val Thr Thr
130 135 140

Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala Ala Tyr Ala His Ser Ala
145 150 155 160

Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met Pro Pro Glu Ala Leu Ser
165 170 175

ES 2 887 573 T3

Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu Met His Asn Val Lys Asp
 180 185 190
 Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys Tyr Met Phe Pro Lys Asn
 195 200 205
 Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Met Asp Glu Lys Ser Thr Gly Ala Arg
 210 215 220
 Leu Asp Gly Leu Asn Leu Ile Asp Ile Trp Lys Asn Phe Lys Pro Arg
 225 230 235 240
 His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu Leu Ala Leu
 245 250 255
 Asp Pro Tyr Thr Val Asp Tyr Leu Leu Gly Leu Phe Asp Pro Gly Asp
 260 265 270
 Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val Thr Asp Pro Ser Leu Ser
 275 280 285
 Glu Met Val Glu Ile Ala Ile Lys Ile Leu Ser Lys Lys Pro Arg Gly
 290 295 300
 Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His Gly His His Glu
 305 310 315 320
 Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala Val Glu Met Asp Arg Ala
 325 330 335
 Ile Gly Lys Ala Gly Val Met Thr Ser Leu Glu Asp Thr Leu Thr Val
 340 345 350
 Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr Phe Gly Gly Tyr Thr Pro
 355 360 365
 Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Met Val Ser Asp Thr Asp
 370 375 380
 Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro Gly Tyr Lys
 385 390 395 400
 Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser Met Val Asp Tyr Ala His
 405 410 415
 Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro Leu Arg His Glu Thr His

ES 2 887 573 T3

420 425 430
 Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys Gly Pro Met Ala His Leu
 435 440 445
 Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile Pro His Val Met Ala Tyr
 450 455 460
 Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Gln Asp His Cys Ala Ser Ala Ser Ser
 465 470 475 480
 Ala Gly Gly Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu
 485 490 495
 Pro Val Gly Ile Leu Phe
 500
 <210> 10
 <211> 252
 <212> PRT
 5 <213> Sus scrofa
 <400> 10
 Ala Glu Leu Leu Ala Leu Asp Pro His Thr Val Asp Tyr Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Val
 20 25 30
 Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu
 35 40 45
 Ile Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
 50 55 60
 Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
 65 70 75 80
 Val Glu Met Asp Arg Ala Ile Glu Gln Ala Gly Ser Met Thr Ser Val
 85 90 95
 Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
 100 105 110
 Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
 115 120 125
 Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly

ES 2 887 573 T3

130

135

140

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
145 150 155 160

Met Val Asp Tyr Ala His Asp Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
165 170 175

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Ile Phe Ala Arg
180 185 190

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
195 200 205

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Val Gly Ala Asn Arg Asp His
210 215 220

Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu
225 230 235 240

Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ile Leu Phe
245 250

<210> 11

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Mus musculus

<400> 11

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15

Ser Phe Val Pro Glu Lys Glu Arg Asp Pro Ser Tyr Trp Arg Gln Gln
20 25 30

Ala Gln Glu Thr Leu Lys Asn Ala Leu Lys Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
65 70 75 80

Thr Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala
85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly

ES 2 887 573 T3

100							105					110				
Thr	Ala	Thr	Ala	Tyr	Leu	Cys	Gly	Val	Lys	Ala	Asn	Glu	Gly	Thr	Val	
115						120						125				
Gly	Val	Ser	Ala	Ala	Thr	Glu	Arg	Thr	Arg	Cys	Asn	Thr	Thr	Gln	Gly	
130						135				140						
Asn	Glu	Val	Thr	Ser	Ile	Leu	Arg	Trp	Ala	Lys	Asp	Ala	Gly	Lys	Ser	
145				150						155				160		
Val	Gly	Ile	Val	Thr	Thr	Thr	Arg	Val	Asn	His	Ala	Thr	Pro	Ser	Ala	
				165				170						175		
Ala	Tyr	Ala	His	Ser	Ala	Asp	Arg	Asp	Trp	Tyr	Ser	Asp	Asn	Glu	Met	
		180						185				190				
Pro	Pro	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Gly	Cys	Lys	Asp	Ile	Ala	Tyr	Gln	Leu	
		195				200						205				
Met	His	Asn	Ile	Lys	Asp	Ile	Asp	Val	Ile	Met	Gly	Gly	Gly	Arg	Lys	
210						215				220						
Tyr	Met	Tyr	Pro	Lys	Asn	Arg	Thr	Asp	Val	Glu	Tyr	Glu	Leu	Asp	Glu	
225				230						235				240		
Lys	Ala	Arg	Gly	Thr	Arg	Leu	Asp	Gly	Leu	Asp	Leu	Ile	Ser	Ile	Trp	
				245				250						255		
Lys	Ser	Phe	Lys	Pro	Arg	His	Lys	His	Ser	His	Tyr	Val	Trp	Asn	Arg	
		260						265				270				
Thr	Glu	Leu	Leu	Ala	Leu	Asp	Pro	Ser	Arg	Val	Asp	Tyr	Leu	Leu	Gly	
		275				280						285				
Leu	Phe	Glu	Pro	Gly	Asp	Met	Gln	Tyr	Glu	Leu	Asn	Arg	Asn	Asn	Leu	
290						295				300						
Thr	Asp	Pro	Ser	Leu	Ser	Glu	Met	Val	Glu	Val	Ala	Leu	Arg	Ile	Leu	
305				310						315				320		
Thr	Lys	Asn	Leu	Lys	Gly	Phe	Phe	Leu	Leu	Val	Glu	Gly	Gly	Arg	Ile	
				325				330						335		
Asp	His	Gly	His	His	Glu	Gly	Lys	Ala	Lys	Gln	Ala	Leu	His	Glu	Ala	
		340						345				350				

ES 2 887 573 T3

Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Lys Ala Gly Ala Met Thr Ser Gln
355 360 365

Lys Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Asp Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ser Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His
485 490 495

Cys Ala Trp Ala Gly Ser Gly Ser Ala Pro Ser Pro Gly Ala Leu Leu
500 505 510

Leu Pro Leu Ala Val Leu Ser Leu Arg Thr Leu Phe
515 520

<210> 12

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Bos taurus

<400> 12

Met Ile Ser Pro Phe Leu Leu Leu Ala Ile Gly Thr Cys Phe Ala Ser
1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30

Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala Leu Arg Leu Gln Thr Leu Asn Thr
35 40 45

ES 2 887 573 T3

Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
 50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Ser
 65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Lys Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala
 85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
 100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
 115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Gln Arg Ser Gln Cys Asn Thr Thr Gln Gly
 130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
 145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
 165 170 175

Ser Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
 180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
 195 200 205

Met His Asn Ile Lys Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
 210 215 220

Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu
 225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Ile Asp Ile Trp
 245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Lys His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
 260 265 270

Thr Asp Leu Leu Ala Leu Asp Pro His Ser Val Asp Tyr Leu Leu Gly
 275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Ala
 290 295 300

ES 2 887 573 T3

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu
305 310 315 320

Asn Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350

Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ala Met Thr Ser Val
355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Arg Asp His
485 490 495

Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu
500 505 510

Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ser Leu Phe
515 520

<210> 13

<211> 524

<212> PRT

5 <213> Bos taurus

<400> 13

ES 2 887 573 T3

Met Ile Ser Pro Phe Leu Leu Leu Ala Ile Gly Thr Cys Phe Ala Ser
 1 5 10 15
 Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
 20 25 30
 Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala Leu Arg Leu Gln Thr Leu Asn Thr
 35 40 45
 Asn Val Ala Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
 50 55 60
 Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Ser
 65 70 75 80
 Pro Gly Glu Glu Thr Lys Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala
 85 90 95
 Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
 100 105 110
 Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
 115 120 125
 Gly Val Ser Ala Ala Thr Gln Arg Ser Gln Cys Asn Thr Thr Gln Gly
 130 135 140
 Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ser
 145 150 155 160
 Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
 165 170 175
 Ser Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
 180 185 190
 Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
 195 200 205
 Met His Asn Ile Lys Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
 210 215 220
 Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Leu Asp Glu
 225 230 235 240
 Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Ile Asp Ile Trp
 245 250 255

ES 2 887 573 T3

Lys Ser Phe Lys Pro Lys His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
260 265 270

Thr Asp Leu Leu Ala Leu Asp Pro His Ser Val Asp Tyr Leu Leu Gly
275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Asn Ala
290 295 300

Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Met Ala Ile Arg Ile Leu
305 310 315 320

Asn Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile
325 330 335

Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala
340 345 350

Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Gln Ala Gly Ala Met Thr Ser Val
355 360 365

Glu Asp Thr Leu Thr Val Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr
370 375 380

Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro
385 390 395 400

Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ala Ile Leu Tyr Gly
405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser
420 425 430

Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys
450 455 460

Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile
465 470 475 480

Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Arg Asp His
485 490 495

Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Pro Leu Leu
500 505 510

Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Leu Gly Ser Leu Phe
515 520

<210> 14

<211> 124

<212> PRT

ES 2 887 573 T3

<213> Bos taurus

<400> 14

Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala
1 5 10 15

Leu Gly Leu Gln Lys Leu Asn Thr Lys Val Ala Lys Asn Val Ile Leu
20 25 30

Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile
35 40 45

Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu
50 55 60

Met Asp Lys Phe Pro Phe Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn
65 70 75 80

Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly Thr Ala Pro His Pro Val Arg Val
85 90 95

Lys Ala Met Arg Ala Pro Trp Gly Glu Pro His Gln Arg Gln Cys Asn
100 105 110

Thr Arg Arg Ala Thr Ser Thr His Leu Leu Ala Gly
115 120

<210> 15

5 <211> 524

<212> PRT

<213> Felis catus

<400> 15

Met Ile Ser Pro Phe Leu Val Leu Ala Ile Gly Thr Cys Leu Thr Asn
1 5 10 15

Ser Leu Val Pro Glu Lys Glu Lys Asp Pro Lys Tyr Trp Arg Asp Gln
20 25 30

Ala Gln Gln Thr Leu Lys Asn Ala Leu Arg Leu Gln Lys Leu Asn Thr
35 40 45

ES 2 887 573 T3

Asn Val Val Lys Asn Val Ile Met Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val
 50 55 60

Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Leu His His Asn
 65 70 75 80

Pro Gly Glu Glu Thr Arg Leu Glu Met Asp Lys Phe Pro Tyr Val Ala
 85 90 95

Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Thr Asn Ala Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly
 100 105 110

Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Glu Gly Thr Val
 115 120 125

Gly Val Ser Ala Ala Thr Gln Arg Thr Gln Cys Asn Thr Thr Gln Gly
 130 135 140

Asn Glu Val Thr Ser Ile Leu Arg Trp Ala Lys Asp Ser Gly Lys Ser
 145 150 155 160

Val Gly Ile Val Thr Thr Thr Arg Val Asn His Ala Thr Pro Ser Ala
 165 170 175

Ala Tyr Ala His Ser Ala Asp Arg Asp Trp Tyr Ser Asp Asn Glu Met
 180 185 190

Pro Pro Glu Ala Leu Ser Gln Gly Cys Lys Asp Ile Ala Tyr Gln Leu
 195 200 205

Met His Asn Val Arg Asp Ile Glu Val Ile Met Gly Gly Gly Arg Lys
 210 215 220

Tyr Met Phe Pro Lys Asn Arg Thr Asp Val Glu Tyr Glu Met Asp Glu
 225 230 235 240

Lys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Asp Gly Leu Asn Leu Val Asp Ile Trp
 245 250 255

Lys Ser Phe Lys Pro Arg His Lys His Ser His Tyr Val Trp Asn Arg
 260 265 270

Thr Glu Leu Leu Thr Leu Asp Pro Tyr Gly Val Asp Tyr Leu Leu Gly
 275 280 285

Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Gln Tyr Glu Leu Asn Arg Asn Ser Thr

ES 2 887 573 T3

290		295		300
Thr Asp Pro Ser Leu Ser Glu Met Val Glu Ile Ala Ile Lys Ile Leu				
305		310		315 320
Ser Lys Asn Pro Lys Gly Phe Phe Leu Leu Val Glu Gly Gly Arg Ile				
	325		330	335
Asp His Gly His His Glu Gly Lys Ala Lys Gln Ala Leu His Glu Ala				
	340		345	350
Val Glu Met Asp Gln Ala Ile Gly Arg Ala Gly Ala Met Thr Ser Val				
	355		360	365
Glu Asp Thr Leu Thr Ile Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Thr				
	370		375	380
Phe Gly Gly Tyr Thr Pro Arg Gly Asn Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro				
385		390		395 400
Met Val Ser Asp Thr Asp Lys Lys Pro Phe Thr Ser Ile Leu Tyr Gly				
	405		410	415
Asn Gly Pro Gly Tyr Lys Val Val Gly Gly Glu Arg Glu Asn Val Ser				
	420		425	430
Met Val Asp Tyr Ala His Asn Asn Tyr Gln Ala Gln Ser Ala Val Pro				
	435		440	445
Leu Arg His Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Lys				
	450		455	460
Gly Pro Met Ala His Leu Leu His Gly Val His Glu Gln Asn Tyr Ile				
465		470		475 480
Pro His Val Met Ala Tyr Ala Ala Cys Ile Gly Ala Asn Leu Asp His				
	485		490	495
Cys Ala Ser Ala Ser Ser Ala Gly Gly Pro Ser Pro Gly Pro Leu Phe				
	500		505	510
Leu Leu Leu Ala Leu Pro Ser Leu Gly Ile Leu Phe				
	515		520	

<210> 16

<211> 532

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 16

ES 2 887 573 T3

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu
 1 5 10 15
 Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp Phe Trp Asn
 20 25 30
 Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ala
 35 40 45
 Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly
 50 55 60
 Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Lys Asp
 65 70 75 80
 Lys Leu Gly Pro Glu Thr Phe Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val
 85 90 95
 Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Ser Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly
 100 105 110
 Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Phe Gln Thr
 115 120 125
 Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg
 130 135 140
 Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys
 145 150 155 160
 Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala
 165 170 175
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp
 180 185 190
 Val Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln
 195 200 205
 Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys
 210 215 220
 Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Tyr
 225 230 235 240

ES 2 887 573 T3

Ser Gln Gly Gly Thr Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp
 245 250 255
 Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu
 260 265 270
 Leu Gln Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe
 275 280 285
 Glu Pro Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser Thr Leu Asp
 290 295 300
 Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Leu Leu Leu Ser Arg
 305 310 315 320
 Asn Pro Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His
 325 330 335
 Gly His His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu Thr Ile Met
 340 345 350
 Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp
 355 360 365
 Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly
 370 375 380
 Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys
 385 390 395 400
 Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly Asn Gly Pro
 405 410 415
 Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr Glu Ser Glu
 420 425 430
 Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Gly
 435 440 445
 Glu Thr His Ala Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln
 450 455 460
 Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val
 465 470 475 480
 Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala
 485 490 495
 Pro Arg Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Pro Ser Val Val
 500 505 510
 Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Thr
 515 520 525
 Ala Thr Ala Pro
 530

ES 2 887 573 T3

<210> 17

<211> 535

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5

<400> 17

Met Leu Gly Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg
1 5 10 15

Leu Gln Leu Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp
20 25 30

Phe Trp Asn Arg Glu Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu
35 40 45

Gln Pro Ala Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp
50 55 60

Gly Met Gly Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln
65 70 75 80

Lys Lys Asp Lys Leu Gly Pro Glu Ile Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe
85 90 95

Pro Tyr Val Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Lys His Val Pro
100 105 110

Asp Ser Gly Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn
115 120 125

Phe Gln Thr Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn
130 135 140

Thr Thr Arg Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys
145 150 155 160

Ala Gly Lys Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala
165 170 175

ES 2 887 573 T3

Ser Pro Ala Gly Thr Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser
 180 185 190

Asp Ala Asp Val Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile
 195 200 205

Ala Thr Gln Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly
 210 215 220

Gly Arg Lys Tyr Met Phe Arg Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro
 225 230 235 240

Asp Asp Tyr Ser Gln Gly Gly Thr Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val
 245 250 255

Gln Glu Trp Leu Ala Lys Arg Gln Gly Ala Arg Tyr Val Trp Asn Arg
 260 265 270

Thr Glu Leu Met Gln Ala Ser Leu Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met
 275 280 285

Gly Leu Phe Glu Pro Gly Asp Met Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Ser
 290 295 300

Thr Leu Asp Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu
 305 310 315 320

Leu Ser Arg Asn Pro Arg Gly Phe Phe Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg
 325 330 335

Ile Asp His Gly His His Glu Ser Arg Ala Tyr Arg Ala Leu Thr Glu
 340 345 350

Thr Ile Met Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser
 355 360 365

Glu Glu Asp Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe
 370 375 380

Ser Phe Gly Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala
 385 390 395 400

Pro Gly Lys Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly
 405 410 415

Asn Gly Pro Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr
 420 425 430

ES 2 887 573 T3

Glu Ser Glu Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro
435 440 445

Leu Asp Glu Glu Thr His Ala Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg
450 455 460

Gly Pro Gln Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile
465 470 475 480

Ala His Val Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys
485 490 495

Asp Leu Ala Pro Pro Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Arg
500 505 510

Ser Val Val Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu
515 520 525

Leu Glu Thr Ala Thr Ala Pro
530 535

<210> 18

<211> 532

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 18

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu
1 5 10 15

Ser Leu Gly Ile Ile Pro Val Glu Glu Glu Asn Pro Asp Phe Trp Asn
20 25 30

Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ala
35 40 45

Gln Thr Ala Ala Lys Asn Leu Ile Ile Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly
50 55 60

Val Ser Thr Val Thr Ala Ala Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Lys Asp
65 70 75 80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Phe Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Val
85 90 95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Ser Val Asp Lys His Val Pro Asp Ser Gly
100 105 110

ES 2 887 573 T3

Ala	Thr	Ala	Thr	Ala	Tyr	Leu	Cys	Gly	Val	Lys	Gly	Asn	Phe	Gln	Thr
115						120				125					
Ile	Gly	Leu	Ser	Ala	Ala	Ala	Arg	Phe	Asn	Gln	Cys	Asn	Thr	Thr	Arg
130						135				140					
Gly	Asn	Glu	Val	Ile	Ser	Val	Met	Asn	Arg	Ala	Lys	Lys	Ala	Gly	Lys
145				150						155				160	
Ser	Val	Gly	Val	Val	Thr	Thr	Thr	Arg	Val	Gln	His	Ala	Ser	Pro	Ala
				165				170						175	
Gly	Ala	Tyr	Ala	His	Thr	Val	Asn	Arg	Asn	Trp	Tyr	Ser	Asp	Ala	Asp
		180						185				190			
Val	Pro	Ala	Ser	Ala	Arg	Gln	Glu	Gly	Cys	Gln	Asp	Ile	Ala	Thr	Gln
		195				200						205			
Leu	Ile	Ser	Asn	Met	Asp	Ile	Asp	Val	Ile	Leu	Gly	Gly	Gly	Arg	Lys
210						215				220					
Tyr	Met	Phe	Pro	Met	Gly	Thr	Pro	Asp	Pro	Glu	Tyr	Pro	Asp	Asp	Tyr
225				230						235				240	
Ser	Gln	Gly	Gly	Thr	Arg	Leu	Asp	Gly	Lys	Asn	Leu	Val	Gln	Glu	Trp
				245				250						255	
Leu	Ala	Lys	His	Gln	Gly	Ala	Arg	Tyr	Val	Trp	Asn	Arg	Thr	Glu	Leu
		260						265				270			
Leu	Gln	Ala	Ser	Leu	Asp	Pro	Ser	Val	Thr	His	Leu	Met	Gly	Leu	Phe
275						280						285			
Glu	Pro	Gly	Asp	Met	Lys	Tyr	Glu	Ile	His	Arg	Asp	Ser	Thr	Leu	Asp
290						295				300					
Pro	Ser	Leu	Met	Glu	Met	Thr	Glu	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Ser	Arg
305				310						315				320	
Asn	Pro	Arg	Gly	Phe	Phe	Leu	Phe	Val	Glu	Gly	Gly	Arg	Ile	Asp	His
				325				330						335	
Gly	His	His	Glu	Ser	Arg	Ala	Tyr	Arg	Ala	Leu	Thr	Glu	Thr	Ile	Met
		340						345				350			
Phe	Asp	Asp	Ala	Ile	Glu	Arg	Ala	Gly	Gln	Leu	Thr	Ser	Glu	Glu	Asp

ES 2 887 573 T3

355

360

365

Thr Leu Ser Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly
370 375 380

Gly Tyr Pro Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys
385 390 395 400

Ala Arg Asp Arg Lys Ala Tyr Thr Val Leu Leu Tyr Gly Asn Gly Pro
405 410 415

Gly Tyr Val Leu Lys Asp Gly Ala Arg Pro Asp Val Thr Glu Ser Glu
420 425 430

Ser Gly Ser Pro Glu Tyr Arg Gln Gln Ser Ala Val Pro Leu Asp Gly
435 440 445

Glu Thr His Ala Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln
450 455 460

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Thr Phe Ile Ala His Val
465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala
485 490 495

Pro Arg Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Gly Pro Ser Val Val
500 505 510

Pro Ala Leu Leu Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Thr
515 520 525

Ala Thr Ala Pro
530

<210> 19

<211> 528

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 19

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu
1 5 10 15

Ser Leu Gly Val Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Pro Ala Phe Trp Asn
20 25 30

Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Asp Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile

ES 2 887 573 T3

35	40	45
Gln Lys Val Ala Lys Asn Leu Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Leu Gly		
50	55	60
Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Asn Gly		
65	70	75
Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Leu		
	85	90
Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala		
	100	105
Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Phe Gln Thr		
	115	120
Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg		
	130	135
Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Gln Ala Gly Lys		
145	150	155
Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala		
	165	170
Gly Thr Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp		
	180	185
Met Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln		
	195	200
Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys		
	210	215
Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Ala Asp Ala		
225	230	235
Ser Gln Asn Gly Ile Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp		
	245	250
Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Trp Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu		
	260	265
Met Gln Ala Ser Leu Asp Gln Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe		
	275	280
		285

ES 2 887 573 T3

Glu Pro Gly Asp Thr Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Pro Thr Leu Asp
290 295 300

Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu Leu Ser Arg
305 310 315 320

Asn Pro Arg Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His
325 330 335

Gly His His Glu Gly Val Ala Tyr Gln Ala Leu Thr Glu Ala Val Met
340 345 350

Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp
355 360 365

Thr Leu Thr Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly
370 375 380

Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Ser Lys
385 390 395 400

Ala Gln Asp Ser Lys Ala Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro
405 410 415

Gly Tyr Val Phe Asn Ser Gly Val Arg Pro Asp Val Asn Glu Ser Glu
420 425 430

Ser Gly Ser Pro Asp Tyr Gln Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ser Ser
435 440 445

Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln
450 455 460

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Ser Phe Val Ala His Val
465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala
485 490 495

Pro Pro Ala Cys Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Val Ala Ala Ser Leu
500 505 510

Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Ala Ser Ala Ala Pro
515 520 525

<210> 20

<211> 227

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 20

ES 2 887 573 T3

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una fosfatasa alcalina soluble (sALP) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 para uso en el tratamiento de hipofosfatasia (HPP) en un sujeto de 5 a 15 años de edad que tiene una puntuación promedio de la Evaluación de Movilidad Orientada al Rendimiento - Marcha modificada (mPOMA-G) de 5 o menos, en el que dicho sujeto no mostró un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos 0,6, particularmente al menos 1,0 o más, después de la administración de dicha sALP al sujeto a una dosis que proporciona 6 mg/kg/semana durante un período de tratamiento de al menos un año, y en el que la dosis de la sALP se aumenta a 9 mg/kg/semana.
2. La composición para uso según la reivindicación 1, en la que al menos uno de:
 - (a) la puntuación promedio de mPOMA-G del sujeto se determina con respecto a una puntuación promedio de mPOMA-G de un sujeto no tratado de 5 a 15 años de edad que tiene HPP;
 - (b) la puntuación promedio de mPOMA-G del sujeto se determina con respecto a una puntuación promedio de mPOMA-G de un sujeto sano de 5 a 15 años de edad; y
 - (c) dicho uso comprende además realizar un análisis de mPOMA-G.
3. La composición para uso según la reivindicación 2, en la que al menos uno de:
 - (a) el análisis de mPOMA-G se realiza diariamente, una o más veces a la semana, semanalmente, una o más veces al mes, mensualmente, cada seis meses, una o más veces al año, anualmente, cada dos años, o cada tres años; y
 - (b) el análisis de mPOMA-G comprende una o más evaluaciones de la marcha seleccionadas del grupo que consiste en balanceo del tronco, postura para caminar, longitud y altura del paso, simetría de los pasos, y continuidad de los pasos.
4. La composición para uso según la reivindicación 3, en la que al menos uno de:
 - (a) el balanceo del tronco comprende medir al menos uno de: balanceo marcado, uso de ayudas para caminar, abducción de los brazos, flexión del tronco, y flexión excesiva de las rodillas;
 - (b) la postura para caminar comprende medir la distancia de los talones;
 - (c) la longitud y la altura del paso comprenden medir el pie derecho del balanceo, la separación del pie derecho al suelo, el pie izquierdo del balanceo, y la separación del pie izquierdo al suelo;
 - (d) la simetría de los pasos comprende medir la longitud del paso derecho y la longitud del paso izquierdo y comparar la longitud del paso derecho con la longitud del paso izquierdo; y
 - (e) la continuidad del paso comprende medir la parada entre pasos o la falta de continuidad entre pasos, en la que preferiblemente la falta de continuidad entre pasos se mide a través de la evaluación del despegue del talón en la posición terminal en un pie al mismo tiempo que el contacto inicial del golpe del talón en el pie opuesto.
5. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que al menos uno de:
 - a) el período de tratamiento es de al menos dos años, al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años, al menos diez años, o más; y
 - (b) la puntuación promedio de mPOMA-G del sujeto aumenta a 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, o 12 después de la administración de la composición.
6. La composición para uso según la reivindicación 5, en la que al menos uno de:
 - (a) antes de la administración de la composición, el sujeto exhibe una o más alteraciones de la marcha seleccionadas del grupo que consiste en longitud de paso reducida, continuidad de paso reducida, separación reducida del pie al suelo, separación del pie al suelo que excede 1 o 2 pulgadas desde la superficie, y posición de los pies ensanchada; y
 - (b) después de la administración de la composición, el sujeto exhibe una mejora en una o más alteraciones de la marcha seleccionadas del grupo que consiste en longitud de paso reducida, continuidad de paso reducida, separación reducida del pie al suelo, separación del pie al suelo que excede 1 o 2 pulgadas desde la superficie, y posición de los pies ensanchada.
7. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que al menos uno de:

- (a) se mantiene un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G a lo largo de un período durante el cual se trata al sujeto con la composición;
- (b) una tasa de cambio por año de la puntuación promedio de mPOMA-G durante el cual el sujeto es tratado con la composición es 2,5;
- 5 (c) el sujeto tiene HPP de comienzo juvenil;
- (d) el uso comprende además realizar al menos uno de una Prueba de Marcha de Seis Minutos (6MWT), un Cuestionario de Evaluación de la Salud Infantil (CHAQ), y un Instrumento de Recopilación de Datos de Resultados Pediátricos (PODCI);
- 10 (e) el sujeto exhibe un aumento en las actividades de la vida diaria (ADL) después de la administración de la composición; y
- (f) el sujeto muestra una mejora en la capacidad para caminar después de la administración de la composición.
8. La composición para uso según la reivindicación 7, en la que al menos uno de:
- (a) el aumento en la ADL se determina a partir de una puntuación del índice de discapacidad de CHAQ o una puntuación de la escala de movilidad y transferencia PODCI del sujeto; y
- 15 (b) la mejora en la capacidad para caminar se determina a partir de una distancia de 6MWT del sujeto.
9. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que al menos uno de:
- (a) la composición se administra diaria o semanalmente;
- (b) la composición se administra dos veces por semana, tres veces por semana, cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, o siete veces por semana;
- 20 (c) la composición se administra a una dosis de sALP de 3 mg/kg tres veces por semana;
- (d) la composición se administra en días consecutivos o alternos;
- (e) la sALP comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;
- (f) la composición se administra como una composición farmacéutica, con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable; y
- 25 (g) la composición se administra mediante al menos una de las vías subcutánea, intramuscular, intravenosa, oral, nasal, sublingual, intratecal, e intradérmica.
10. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que el sujeto presenta uno o más síntomas de HPP seleccionados del grupo que consiste en trastorno de la marcha, deformidad ósea, dolor articular, dolor óseo, fractura ósea, debilidad muscular, dolor muscular, raquitismo, pérdida prematura de los dientes temporales, mineralización ósea incompleta, niveles elevados de fosfoetanolamina (PEA) en sangre y/u orina, niveles elevados de pirofosfato inorgánico (PPi) en sangre y/u orina, niveles elevados de piridoxal-5'-fosfato (PLP) en sangre y/u orina, hipomineralización, costillas raquílicas, hipercalcemia, baja estatura, convulsiones relacionadas con HPP, aumento de peso insuficiente, craneosinostosis, y depósito de cristales de pirofosfato cálcico dihidrato.
- 30 11. La composición para uso según la reivindicación 10, en la que el sujeto presenta una mejora en el uno o más síntomas de HPP después de la administración de la composición.
- 35 12. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en la que al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable es al menos uno de:
- (a) es disolución salina; y
- (b) comprende cloruro de sodio y fosfato de sodio, en la que, opcionalmente, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende cloruro de sodio 150 mM y fosfato de sodio 25 mM.
- 40 13. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que al menos uno de:
- (a) la sALP es fisiológicamente activa frente a PEA, PPi y PLP;
- (b) la sALP es catalíticamente competente para mejorar la mineralización esquelética en el hueso;
- (c) la sALP es el dominio extracelular soluble de una fosfatasa alcalina;

(d) el uso comprende además determinar la actividad de la sALP en una muestra de suero y/o sangre del sujeto de 5 a 15 años de edad;

(e) la administración de la composición da como resultado un aumento en la puntuación promedio de mPOMA-G de al menos 2,5 o más;

5 (f) el análisis de mPOMA-G se realiza antes de la administración de la composición; y

(g) el análisis de mPOMA-G se realiza después de la administración de la composición.

14. La composición para uso según la reivindicación 13, en la que la determinación de la actividad de la sALP comprende medir al menos uno de fosfoetanolamina (PEA), pirofosfato inorgánico (PPi), y piridoxal-5'-fosfato (PLP) en al menos uno de suero y sangre del sujeto de 5 a 15 años de edad.

10 15. La composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que el sujeto exhibe una menor dependencia de un dispositivo de asistencia para la movilidad después de la administración de la composición, en el que, opcionalmente, el dispositivo de asistencia para la movilidad se selecciona del grupo que consiste en una silla de ruedas, aparatos ortopédicos, muletas, y órtesis.

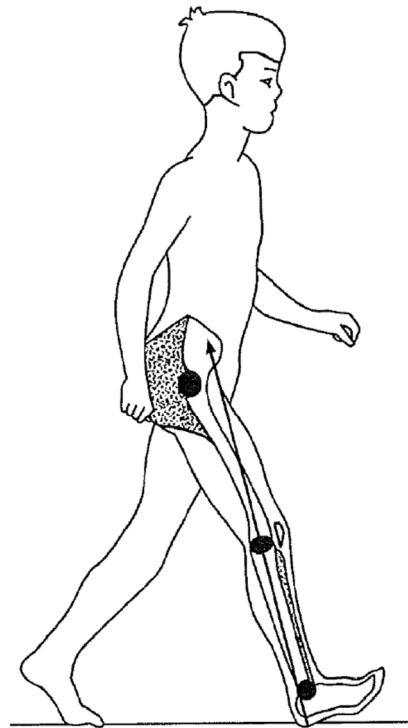


FIG. 1

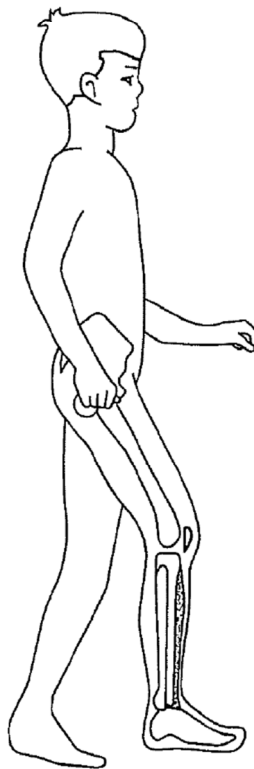


FIG. 2

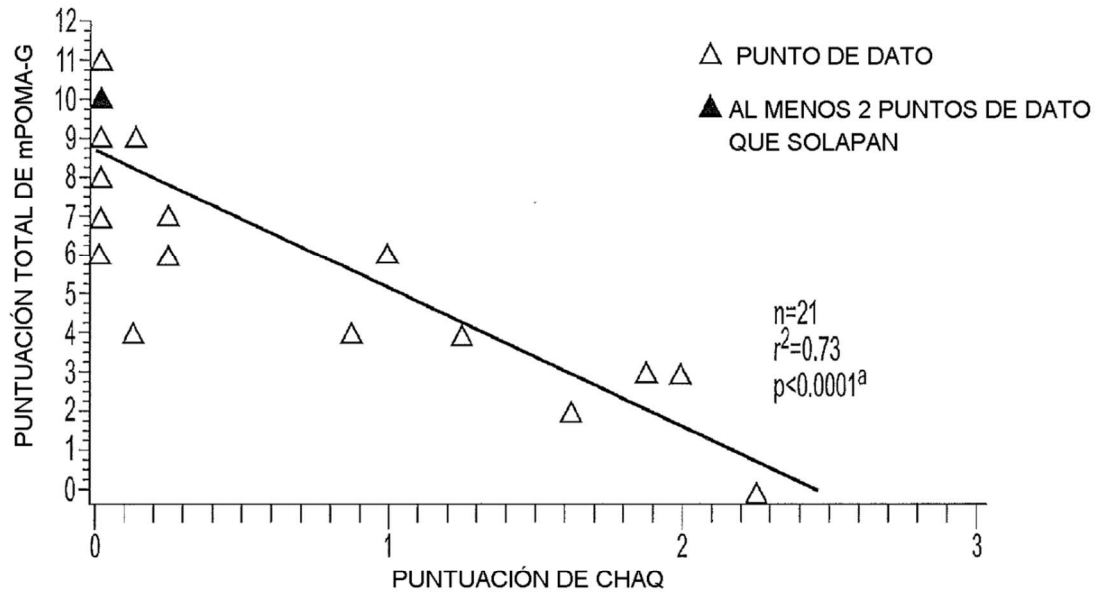


FIG. 3A

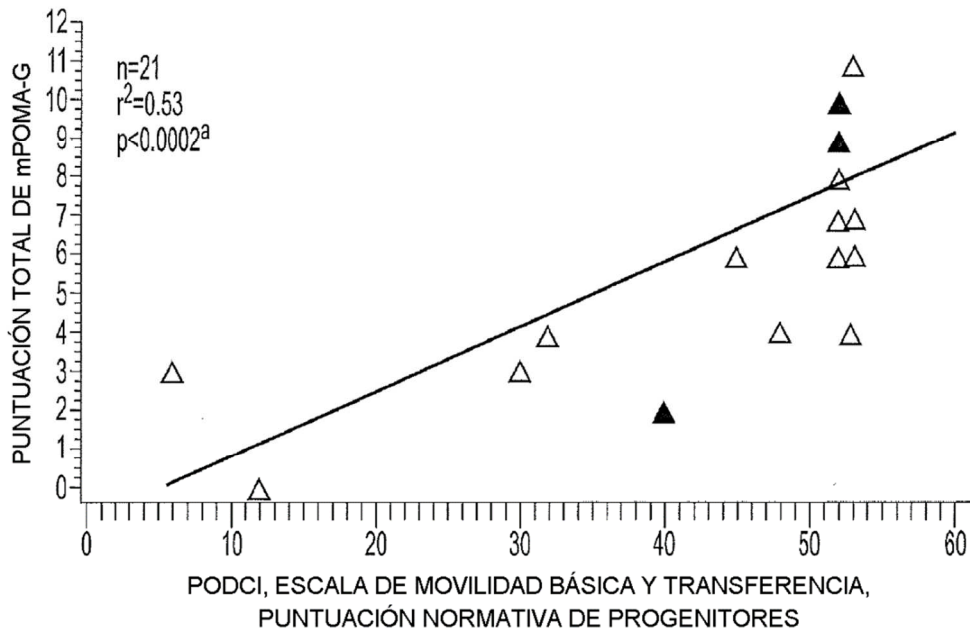


FIG. 3B

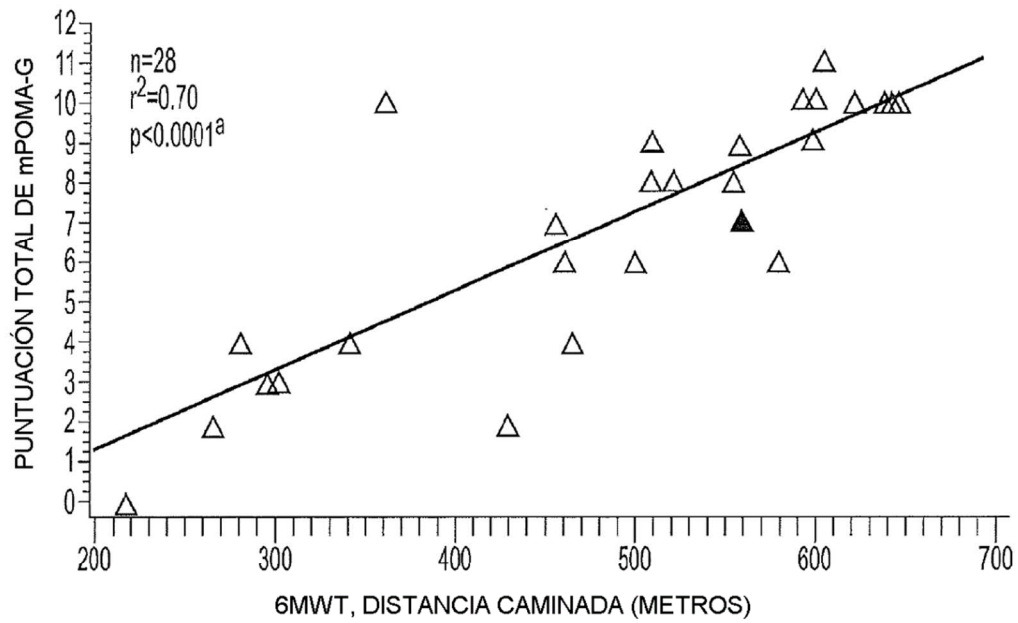


FIG. 3C

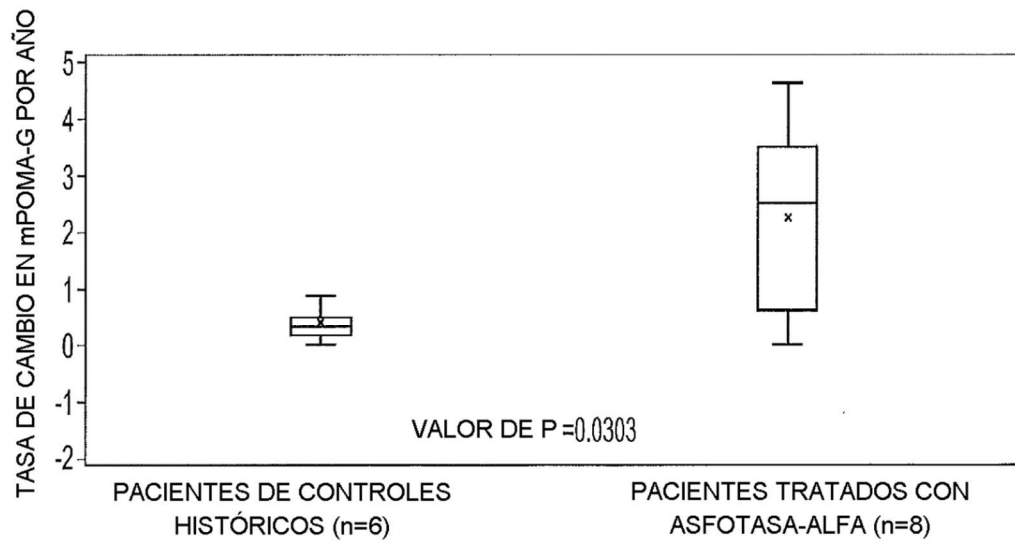


FIG. 4

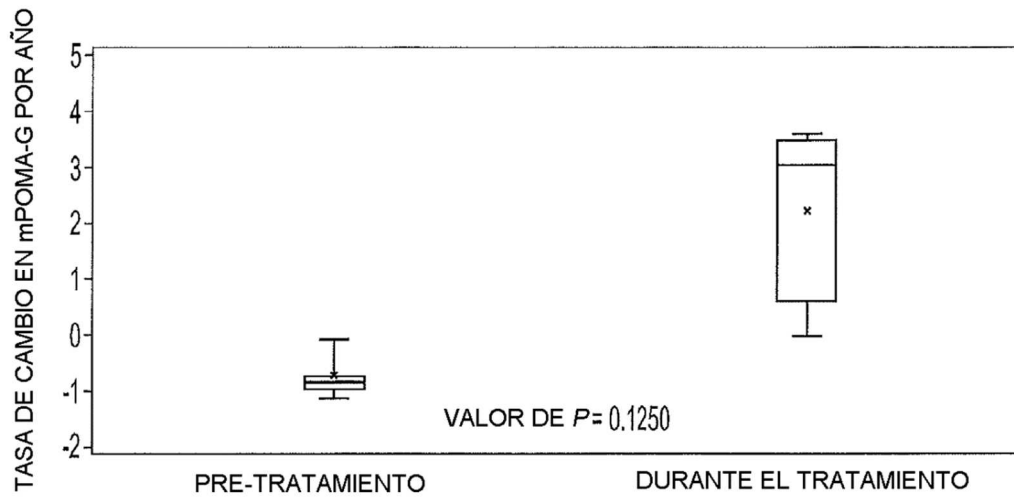


FIG. 5

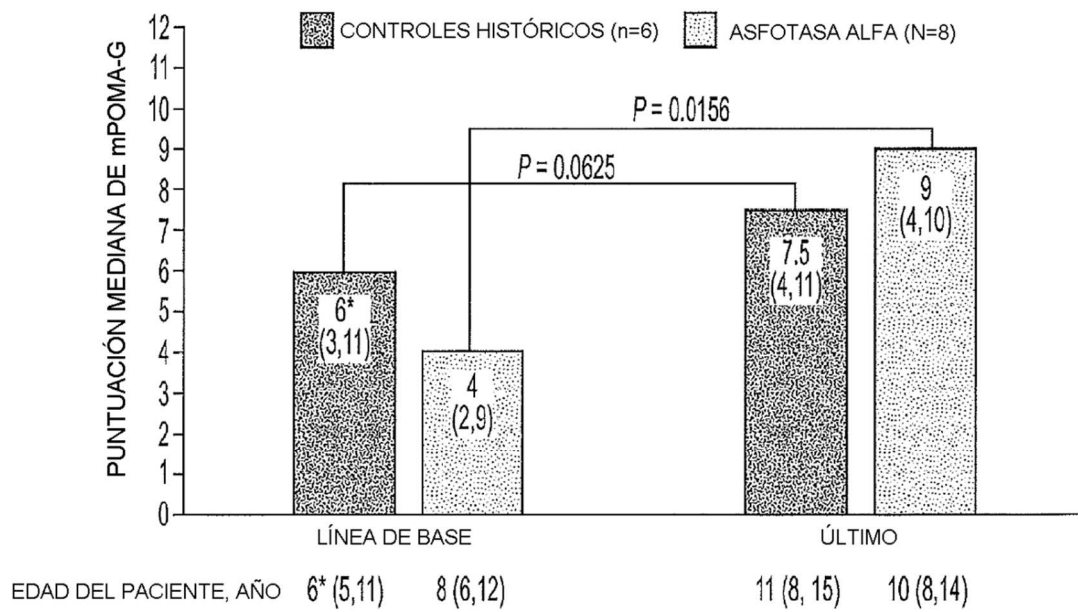


FIG. 6

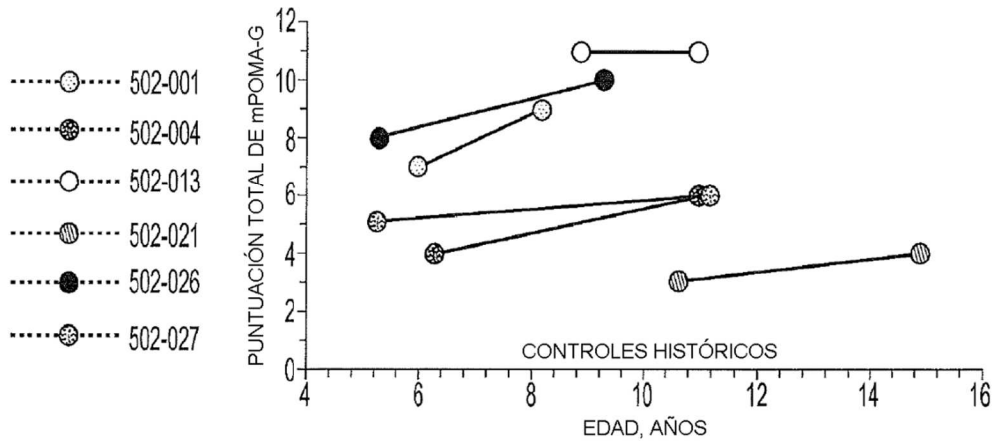


FIG. 7A

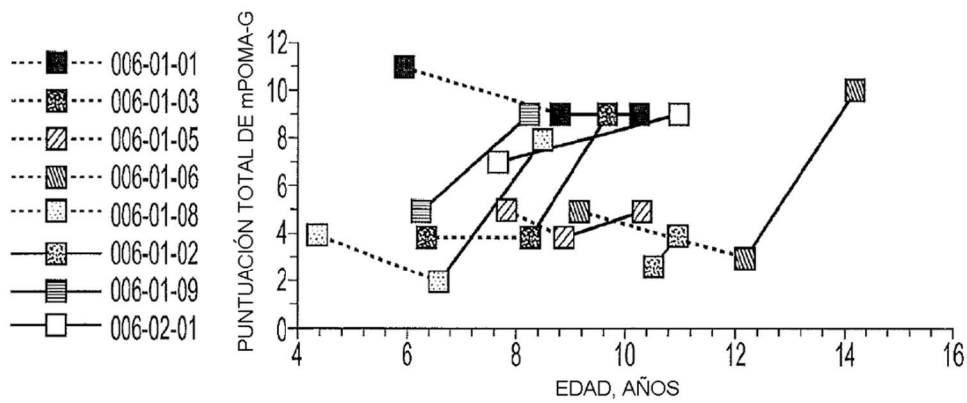


FIG. 7B

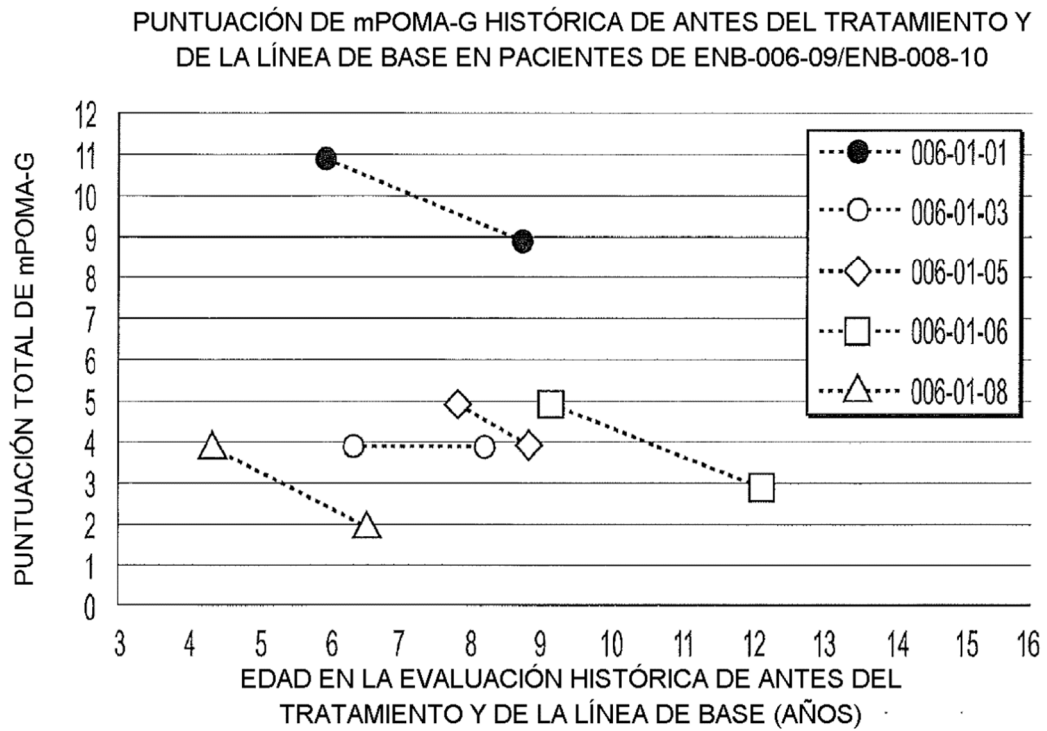


FIG. 8A

PUNTUACIÓN DE mPOMA-G DE LA LÍNEA DE BASE Y DURANTE EL TRATAMIENTO DE LA ÚLTIMA EVALUACIÓN DE ENB-006-09/ENB-008-10 EN PACIENTES CON DATOS HISTÓRICOS ANTES DEL TRATAMIENTO

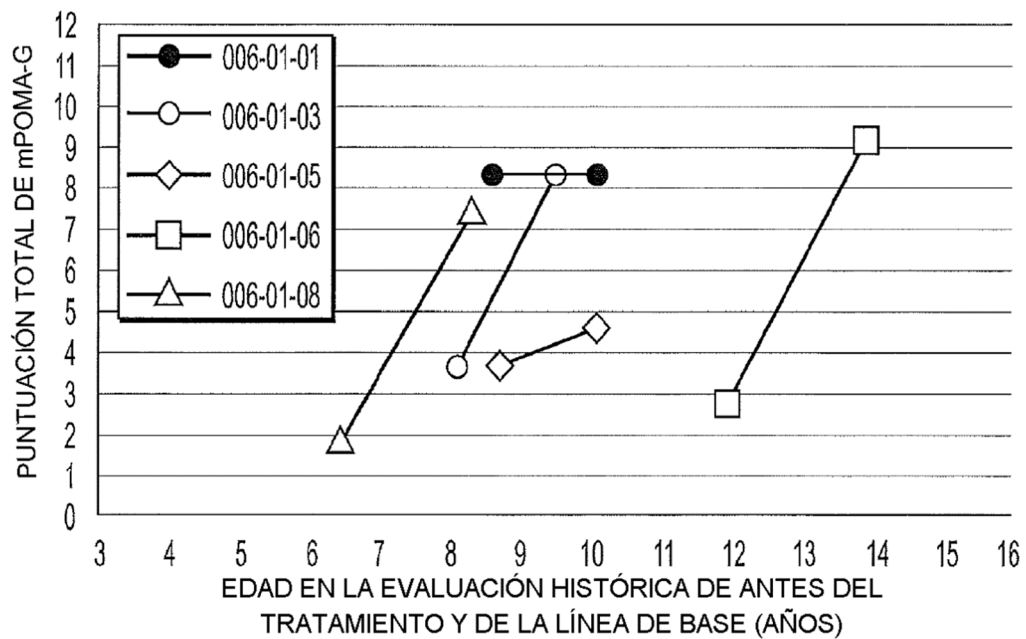


FIG. 8B

LVPEKEKDPK YWRDQAQETL KYALELQKLN TNVAKNVIMF LGDGMGVSTV TAARILKGQL
 HHNPGEETRL EMDKFPFVAL SKTYNTNAQV PDSAGTATAY LCGVKANEGT VGVSAATERS
 RCNTTQGNEV TSILRWAKDA GKSVGIVTTT RVNHATPSAA YAHSAARDWY SDNEMPPEAL
 SQGCKDIAYQ LMHNIRDIDV IMGGGRKMY PKNKTDVEYE SDEKARGTRL DGLDLVDTWK
 SFKPRYKHSF FIWNRTELLT LDPHNVDYLL GLFEPGDMQY ELNRNNVTDP SLSEMVVVAI
 QILRKNPKGK FLLVEGGRID HGHHEGKAKQ ALHEAVEMDR AIGQAGSLTS SEDTLTVVTA
 DHSHVFTFGG YTPRGNSIFG LAPMLSDDTK KPFTAILYGN GPGYKVVGGG RENVSMVDYA
 HNRYQAQSAV PLRHETHGGE DVAVFSKGPM AHLLHGVHEQ NYVPHVMAYA ACIGANLGHC
 APASSLKDKT HTCPPCPAPE LLGGPSVELE PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV
 KFNWYVDGVE VHNATKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE
 KTISKAKGP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT
 TPPVLDSGGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGKDIDDDD
 DDDDDD (SEQ ID NO:1)

FIG. 9