

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 970 423**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/46** (2006.01)

**A61P 3/00** (2006.01)

**A61P 19/10** (2006.01)

**A61P 19/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.08.2018 PCT/IB2018/056346**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.02.2019 WO19038685**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.08.2018 E 18768948 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2023 EP 3672622**

54 Título: **Esfingomielinasa ácida humana recombinante para su uso en el tratamiento de afecciones óseas anormales en pacientes con deficiencia de esfingomielinasa ácida**

30 Prioridad:

**24.08.2017 US 201762549732 P**  
**07.12.2017 EP 17306720**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.05.2024**

73 Titular/es:

**GENZYME CORPORATION (100.0%)**  
**450 Water Street**  
**Cambridge, MA 02141, US**

72 Inventor/es:

**SCHEIDT-PUGA, ANA CRISTINA**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 970 423 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**

Esfingomielinasa ácida humana recombinante para su uso en el tratamiento de afecciones óseas anormales en pacientes con deficiencia de esfingomielinasa ácida

**CAMPO DE LA INVENCION**

La presente solicitud se refiere a esfingomielinasa ácida humana para su uso en un método de tratamiento de afecciones óseas anormales en pacientes con deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD).

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD) es un trastorno de almacenamiento lisosómico raro potencialmente mortal. Es una enfermedad genética autosómica recesiva que resulta de mutaciones en el gen SMPD1 que codifica la enzima lisosómica esfingomielinasa ácida (ASM) (Schuchman et al., Mol. Genet. Metab. 120(1-2):27-33 (2017)). Los pacientes con ASMD son incapaces de metabolizar la esfingomielina, que como resultado se acumula en los lisosomas de múltiples órganos, causando enfermedades viscerales y neurodegeneración en los casos graves. Los pacientes con ASMD presentan un aumento del colesterol y otros lípidos en el bazo, el hígado, el pulmón y la médula ósea.

La ASMD neurovisceral infantil (históricamente conocida como enfermedad de Niemann-Pick tipo A o NPD A), el fenotipo más grave de la enfermedad, se caracteriza por ser la forma neuropática aguda y de aparición temprana, y provoca retraso del crecimiento, hepatoesplenomegalia y neurodegeneración rápidamente progresiva. Los pacientes mueren en la primera infancia (McGovern et al., Neurology 66(2):228-232 (2006)). Los pacientes con ASMD visceral crónica (NPD B) y ASMD neurovisceral crónica (NPD A/B) tienen un inicio que varía desde la infancia hasta la edad adulta (Wasserstein et al., Pediatrics 114(6):e672-677 (2004); Wasserstein et al., J. Pediatr. 149(4):554-559 (2006)). Los pacientes con NPD B suelen ser diagnosticados en la infancia, normalmente después de los 2 años de edad. La mayoría de los pacientes con NPD B llegan a la edad adulta. Los pacientes con NPD A/B se clasifican en una forma intermedia, con manifestación de síntomas neurológicos infantiles que pueden evolucionar a enfermedad neurodegenerativa.

La morbilidad por enfermedades hepáticas, pulmonares y hematológicas se produce en todos los pacientes con ASMD crónica e incluye hepatoesplenomegalia, disfunción hepática, enfermedad pulmonar infiltrativa y trombocitopenia (McGovern et al., Genet. Med. 15(8):618-623 (2013); McGovern et al., Orphanet J. Rare Dis. 12(1):41 (2017)). La restricción del crecimiento durante la infancia y los trastornos óseos, tales como la baja densidad ósea, también son características comunes de la ASMD crónica (Wasserstein et al., J. Pediatr. 142(4):424-428 (2003)). Las enfermedades pulmonares y hepáticas son las principales causas de muerte en estos pacientes (McGovern et al., Pediatrics 122(2):e341-349 (2008); Cassiman et al., Mol. Genet. Metab. 118(3):206-213 (2016)).

Debido a las altas tasas de morbilidad y mortalidad de ASMD, sigue habiendo una necesidad urgente de un tratamiento eficaz de esta enfermedad genética.

**SUMARIO DE LA INVENCION**

La presente invención proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método de tratamiento de una afección ósea anormal en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD), que comprende las etapas de administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM), medir un indicador óseo del paciente, y comparar el indicador óseo del paciente con el indicador óseo basal del paciente antes de la etapa de administración, en donde el indicador óseo del paciente mejora o no empeora después de la pluralidad de dosis de rhASM. En algunas realizaciones, el indicador óseo es la densidad mineral ósea (DMO), en donde la DMO mejora (por ejemplo, aumenta) o no empeora después de la pluralidad de dosis de rhASM. En algunas realizaciones, el indicador óseo es la carga de médula ósea (CMO), en donde la CMO disminuye o no aumenta tras la pluralidad de dosis de rhASM. En algunas realizaciones, el indicador óseo es el desarrollo esquelético (por ejemplo, maduración ósea y/o crecimiento lineal), en donde el desarrollo esquelético mejora tras la pluralidad de dosis de rhASM. En determinadas realizaciones, la afección ósea anormal es osteopenia u osteoporosis.

La presente invención también proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para disminuir la carga de médula ósea (CMO) en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que lo necesite, que comprende las etapas de determinar la CMO del paciente, y administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM), disminuyendo así la CMO del paciente.

La presente invención también proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para mejorar la densidad mineral ósea (DMO) en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que lo necesite, que comprende las etapas de determinar la DMO del paciente, y administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM), mejorando así la DMO del paciente.

5 La presente invención también proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para disminuir la carga de médula ósea (CMO) en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que lo necesite, que comprende las etapas de seleccionar un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que no esté recibiendo terapia con bifosfonatos, y administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM), disminuyendo así la CMO del paciente.

10 La presente invención también proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para mejorar (por ejemplo, aumentar) la densidad mineral ósea (DMO) en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que lo necesite, que comprende las etapas de seleccionar un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que no esté recibiendo terapia con bifosfonatos, y administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM), mejorando así la DMO del paciente.

15 La presente invención también proporciona una esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para mejorar la maduración ósea en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD) que lo necesite, que comprende las etapas de seleccionar un paciente con ASMD para la mejora del desarrollo esquelético, y administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM), mejorando así el desarrollo esquelético del paciente.

20 La presente invención también proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método de tratamiento de la osteopenia en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD) que lo necesite, que comprende las etapas de seleccionar un paciente con ASMD para el tratamiento de la osteopenia, y administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM).

25 La presente invención también proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método de tratamiento de la osteoporosis en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que lo necesite, que comprende las etapas de seleccionar un paciente con ASMD para el tratamiento de la osteoporosis, y administrar al paciente una pluralidad de dosis de esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM).

30 En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la pluralidad de dosis puede administrarse al paciente durante un periodo de seis a treinta meses. De este modo, el efecto citado de la pluralidad de dosis de rhASM se obtiene en dicho periodo.

35 En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el paciente puede tener, por ejemplo, ASMD visceral crónica (enfermedad de Niemann-Pick tipo B) o ASMD neurovisceral crónica (NPD A/B). El paciente puede ser un paciente adulto o pediátrico.

40 En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, las dos o más primeras dosis de rhASM pueden ser dosis escalonadas y pueden administrarse en una cantidad sucesivamente creciente. En algunas realizaciones, las dosis posteriores a las dosis escalonadas son dosis de mantenimiento (que pueden comenzar, por ejemplo, con la dosis de mantenimiento más alta) y pueden administrarse en la misma cantidad que o menos que la última dosis escalonada. En determinadas realizaciones, la dosis de mantenimiento más alta es la dosis más alta tolerada por el paciente. La primera dosis puede ser, por ejemplo, 0,1 mg/kg, para pacientes adultos o pediátricos. La dosis de mantenimiento más alta puede ser, por ejemplo, de la cantidad de 0,3 mg/kg a 3 mg/kg (por ejemplo, 1 mg/kg a 3 mg/kg), tal como 1 mg/kg, 2 mg/kg o 3 mg/kg. Las dosis de mantenimiento pueden ser, por ejemplo, de la cantidad de 0,1 mg/kg a 3 mg/kg, o de 0,3 mg/kg a 3 mg/kg, como, por ejemplo, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,7 mg/kg, 0,8 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1 mg/kg, 1,5 mg/kg, 2 mg/kg, 2,5 mg/kg o 3 mg/kg. En realizaciones particulares, las dosis escalonadas pueden administrarse en el orden de 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,6 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg y 3,0 mg/kg.

50 En algunas realizaciones, la pluralidad de dosis en cualquiera de los métodos de tratamiento descritos en el presente documento se administra en un intervalo de cada 2 semanas. La administración de la pluralidad de dosis puede ser, por ejemplo, mediante inyección intravenosa.

55 En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la rhASM puede ser olipudasa alfa (SEQ ID NO:2).

La presente invención también proporciona un ASM humano recombinante (por ejemplo, olipudasa alfa) para su uso en cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

60 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

65 Las FIG. 1A-C son gráficos que resumen los cambios en la actividad de ceramida (A), liso esfingomielina (B) y quitotriosidasa (C) durante 30 meses de tratamiento con olipudasa alfa. El intervalo normal para la ceramida plasmática fue 1,8-6,5 mg/l. El límite superior de normalidad para la liso esfingomielina en manchas de sangre seca fue < 69 µg/l, y los niveles séricos normales de quitotriosidasa fueron ≤ 181 nmol/h/ml (nota: la actividad no se corrigió para dos pacientes heterocigotos para una mutación nula de quitotriosidasa).

Las FIG. 2A y 2B son gráficos que resumen el efecto de olipudasa alfa sobre el volumen del hígado y el bazo (A) y la enfermedad pulmonar (B). FIG. 2A: Los volúmenes del hígado y del bazo se calcularon integrando imágenes de resonancia magnética transversales y se expresaron como múltiplos de la normalidad (MN), donde se asumió que el volumen normal del bazo (L) era el 0,2 % del peso corporal, y el volumen normal del hígado (L) era el 2,5 % del peso corporal. FIG. 2B: Enfermedad pulmonar. El porcentaje de DLco predicho por paciente, ajustado por hemoglobina (Hb), en el nivel basal y durante el tratamiento, se calculó usando valores observados para pacientes masculinos y femeninos (Crapo et al., Am. Rev. Respir. Dis. 123(2):185-189 (1981); Macintyre et al., Eur. Respir. J. 26(4):720-735 (2005)). Grado de gravedad: 80 % = límite inferior de la normalidad; >60 %-79 % = disminución leve; 40 %-60 % = disminución moderada; <40 % = disminución grave. La evaluación por HRCT de la enfermedad pulmonar infiltrativa en el nivel basal y durante el tratamiento con olipudasa alfa incluyó el aspecto de vidrio deslustrado (GGA), la enfermedad pulmonar intersticial (ILD) y la densidad reticulonodular (RD) puntuada en un sistema de 4 puntos donde 0 = Sin enfermedad pulmonar intersticial; 1 = Leve (que afecta al 1-25 % del volumen pulmonar); 2 = Moderada (que afecta al 26-50 % del volumen pulmonar); 3 = Grave (que afecta al 51-100 % del volumen pulmonar).

Las FIG. 3A y 3B son fotografías que representan el efecto de olipudasa alfa sobre la carga de médula ósea. FIG. 3A (fémur): Cambios en la carga de médula ósea en el fémur coronal del Paciente 2, (mujer, 32 años en el nivel basal). La hipointensidad de la médula ósea de la epífisis proximal en el cribado en las imágenes ponderadas en T1 (A) y T2 (B) se compara con la cantidad reducida y la médula ósea diafisaria ligeramente hipointensa tras 30 meses de tratamiento (ponderadas en T1, C y T2, D). Barra de escala vertical completa, 20 cm. FIG. 3B (columna vertebral): Carga de médula ósea en la columna lumbar sagital del Paciente 2. En la selección, se observa una infiltración difusa de la médula ósea con isointensidad ponderada en T1 de los discos intervertebrales no enfermos (A) e intensidad de señal hiperintensa ponderada en T2 de la grasa presacra (B). Tras 30 meses de tratamiento, la infiltración de la médula ósea permanece inalterada (ponderación T1, C), mientras que la grasa presacra mejora hasta hacerse ligeramente hiperintensa (ponderación T2, D). Barra de escala vertical completa, 20 cm.

Las FIG. 4A-D son gráficos que muestran los parámetros de lípidos en ayunas en el nivel basal y durante el tratamiento (30 meses) con olipudasa alfa. Se muestran los niveles medios (DE) en ayunas antes de la infusión de colesterol total (A), triglicéridos (B), colesterol HDL (C) y colesterol LDL (D). Intervalo de la normalidad de colesterol total: US <5,18 mmol/l; UK 0-3,9 mmol/l. Intervalo normal de HDL-C: US hombre >0,777; US mujer >0,9065 mmol/l; UK >1,2 mmol/l. Intervalo de la normalidad de LDL-C: US <3,3411 mmol/l; UK 0-2 mmol/l. Intervalo de la normalidad de triglicéridos: <1,7 mmol/l.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se basa en el descubrimiento de que la terapia de reemplazo enzimático (TRE) de ASM alivia las afecciones óseas anormales en pacientes con ASMD, incluyendo el aumento de su densidad ósea y la disminución de su carga de médula ósea. Esta mejora puede observarse en tan solo 6-30 meses de terapia. Este descubrimiento fue inesperado porque no estaba claro si una TRE de ASM revertiría todos los síntomas de la ASMD, incluida la baja densidad ósea, y en caso afirmativo, cuánto tiempo tardaría la terapia en lograr la reversión de los síntomas. En otros trastornos por almacenamiento de lípidos, la TRE por sí sola es muy lenta en mejorar la densidad mineral ósea. Por ejemplo, en la enfermedad de Gaucher, otro trastorno genético por almacenamiento de lípidos, la respuesta de los pacientes al tratamiento con TRE es más lenta para la densidad mineral ósea (DMO) que para los aspectos hematológicos y viscerales de la EG. Los estudios han mostrado que fueron necesarios ocho años de TRE (imiglucerasa) para restablecer la DMO de los pacientes a niveles normales (Wenstrup et al., J Bone Miner Res. 22(1):119-26 (2007)). El presente descubrimiento también es significativo porque los pacientes con ASMD no pueden tomar bifosfonatos, los medicamentos habituales para la baja DMO, mientras están en TRE de ASM, porque los bifosfonatos interfieren con la actividad de ASM.

En consecuencia, la presente invención proporciona esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en métodos de tratamiento de una afección ósea anormal en un paciente con ASMD mediante el uso de TRE de ASM. La ASMD provoca la acumulación de esfingomielina en las células de la médula ósea, especialmente en las células precursoras del linaje mononuclear-macrófago. Estas células se enquistan y quedan atrapadas en la médula ósea, lo que provoca infiltración de la médula ósea y una elevada carga de médula ósea (CMO). Los pacientes con ASMD también suelen presentar inflamación crónica, incluso en los huesos. La enfermedad ósea en la ASMD afecta negativamente al metabolismo y la estructura de los huesos. Los pacientes sufren una serie de síntomas, que incluyen retrasos en el crecimiento, retraso del crecimiento, retrasos en la maduración, dolor óseo y fracturas. De hecho, se ha mostrado que la ASMD está inversamente correlacionada con la puntuación Z de la densidad mineral ósea (DMO) de la columna lumbar (Wasserstein et al. J. Inherit. Metab. Dis. 36(1):123-7 (2013)) y que afecta al sistema esquelético. Como se usa en el presente documento, una afección ósea anormal o una enfermedad ósea se refiere a cualquier problema óseo asociado con la ASMD y las manifestaciones resultantes, tal como una alta carga de médula ósea, baja densidad mineral ósea, osteopenia, osteoporosis, retraso en el desarrollo del esqueleto (por ejemplo, retraso en la edad ósea (maduración) y retraso en el crecimiento lineal), aumento de la discapacidad, dolor óseo, disminución de la movilidad, osteonecrosis y aumento del riesgo de fracturas.

En algunas realizaciones, la afección ósea anormal tratada en el paciente con ASMD mediante los métodos de la invención es osteopenia u osteoporosis. En algunas realizaciones, los pacientes son adultos (por ejemplo, pacientes de 18 años o más, incluidos pacientes geriátricos de 65 años o más). En otras realizaciones, los pacientes son pacientes pediátricos (pacientes son más jóvenes de 18 años, por ejemplo, pacientes que son recién nacidos a 6 años, o que tienen de 6 a 12 años o que tienen 12 a 18 años). En algunas realizaciones, el paciente puede padecer la enfermedad de Niemann-Pick tipo A, la enfermedad de Niemann-Pick tipo B o la enfermedad de Niemann-Pick tipo A/B. En realizaciones particulares, los métodos descritos en el presente documento se usan para tratar a pacientes adultos con ASMD visceral crónica (NPD B). En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se usan para tratar a pacientes pediátricos con ASMD visceral crónica (NPD B). En otras realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se usan para tratar a pacientes adultos y pediátricos con manifestaciones no neurológicas de ASMD.

**Evaluación de las afecciones óseas**

Las afecciones óseas de un sujeto pueden evaluarse mediante el análisis de parámetros óseos, denominados colectivamente en el presente documento "indicadores óseos", usando diversos métodos. Los indicadores óseos pueden comprender, por ejemplo, la densidad mineral ósea (DMO), la carga de médula ósea (CMO), la edad ósea, el crecimiento lineal y el estado de determinados biomarcadores óseos. En determinadas realizaciones, las afecciones óseas anormales pueden evaluarse mediante imágenes óseas, tales como imágenes de rayos X e imágenes de resonancia magnética (IRM). Pueden obtenerse imágenes óseas de, por ejemplo, fémur y columna lumbar en varios momentos de tiempo para evaluar la densidad mineral ósea (DMO) y la carga de médula ósea (CMO) como indicadores del estado óseo en pacientes antes, durante y después del tratamiento con una composición de la presente invención. En determinadas realizaciones, las imágenes se obtienen usando DXA (absorciometría de rayos X de energía dual) o IRM. En algunas realizaciones, las imágenes óseas pueden obtenerse aproximadamente cada semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, seis semanas, mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, año, 2 años, 3 años, 4 años o 5 años, y compararse con imágenes basales obtenidas antes del tratamiento de la presente invención. En determinadas realizaciones, las imágenes óseas pueden obtenerse aproximadamente cada 6 meses o cada año.

La DMO puede calcularse para cada paciente usando puntuaciones T y Z. La puntuación T clasifica la densidad ósea de un paciente en comparación con la de una persona sana del mismo sexo. La puntuación Z clasifica la densidad ósea de un paciente en comparación con la de una persona sana de la misma edad, sexo, peso y etnia.

A partir de IRM seriadas, la CMO puede evaluarse mediante el sistema de puntuación CMO, que se basa en un sistema de puntuación de la intensidad de la señal de la médula ósea que da una puntuación categórica de ocho puntos posibles para la columna lumbar y el fémur -las puntuaciones del fémur promediadas del fémur izquierdo y derecho- para una puntuación total de 16 puntos. El sistema de puntuación de la intensidad de la señal de la médula ósea se describe, por ejemplo, en Hangartner et al., Skeletal Radiol. 37(3): 185-188 (2008); Robertson et al., AJM Am J Roentgenol. 188(6): 1521-1528 (2007); y Maas et al., Radiology 229(2): 554-561 (2003), todos los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad.

En otras realizaciones, se analizarán biomarcadores óseos para evaluar las afecciones óseas de un sujeto. "Biomarcadores óseos", como se usa en el presente documento, se refieren a biomarcadores asociados con la formación y resorción óseas. Por ejemplo, los biomarcadores óseos, tales como la fosfatasa alcalina (ALP) específica del hueso en suero y el telopéptido C pueden analizarse en muestras recogidas de un paciente. La ALP específica del hueso, un marcador de la formación ósea activa, y el telopéptido C, un indicador de la resorción ósea, pueden usarse como indicadores del estado óseo. Por ejemplo, en la enfermedad de Gaucher, otro trastorno por almacenamiento de lípidos, la concentración sérica de telopéptido C está disminuida. En algunas realizaciones, los biomarcadores óseos pueden analizarse aproximadamente cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 meses, o cada 1, 2, 3, 4 o 5 años, y compararse con los niveles basales obtenidos antes del tratamiento de la presente invención. En determinadas realizaciones, los biomarcadores óseos pueden analizarse cada 3 o 6 meses.

La mayoría de los niños con ASMD tienen un retraso en el crecimiento. Las puntuaciones Z de altura y peso en pacientes pediátricos con ASMD son a menudo más bajas que en niños no afectados por ASMD. En pacientes pediátricos con ASMD, pueden analizarse indicadores óseos adicionales tales como la edad ósea (por ejemplo, determinada mediante radiografía de mano) y el crecimiento lineal para evaluar el crecimiento óseo o el desarrollo esquelético. En una realización a modo de ejemplo, pueden realizarse radiografías de la mano para recoger imágenes de las manos, dedos y muñecas de los pacientes. La edad ósea (maduración) puede calcularse a partir de las radiografías utilizando el Atlas de Greulich y Pyle (1959). El crecimiento lineal, como se mide por la puntuación Z de la estatura, es otro indicador óseo para evaluar el crecimiento en pacientes pediátricos.

**Tratamiento de afecciones óseas anormales con ASM**

Los pacientes con afecciones óseas anormales, tales como los pacientes con ASMD, pueden ser tratados con TRE de ASM. Como se usa en el presente documento, "tratan", "tratar" y "tratamiento" se refieren a un método para aliviar,

suprimir o prevenir o retrasar la aparición o el empeoramiento (es decir, la progresión) de un trastorno o afección biológica y/o al menos uno de sus síntomas concomitantes. Como se usa en el presente documento, "aliviar" una enfermedad, trastorno o afección significa reducir la gravedad y/o la frecuencia de aparición de los síntomas de la enfermedad, trastorno o afección.

5 En algunas realizaciones, la ASM usada en la TRE de ASM puede ser ASM humano, por ejemplo, una ASM humana recombinante (rhASM). La ASM recombinante puede producirse mediante tecnología recombinante en células hospedadoras procariontas o eucariotas, tales como células hospedadoras de mamífero (por ejemplo, células de ovario de hámster chino (CHO)). En determinadas realizaciones, la rhASM es olipudasa alfa, la glucoforma alfa de una ASM  
10 humana (EC-3.1.4.12) producida en células CHO. La olipudasa alfa madura es un polipéptido de 570 aminoácidos que conserva la actividad de direccionamiento enzimático y liposómico de la proteína humana nativa. La secuencia de aminoácidos de la olipudasa alfa, incluida su secuencia conductora (residuos 1-57), se muestra a continuación, en donde la secuencia conductora está en cursiva y negrita. La secuencia madura de olipudasa alfa (SEQ ID NO:2, que abarca los residuos 58-627 de la siguiente secuencia) no tiene la secuencia conductora.

15 **MARYGASLRQ SCPRSGREQG QDGTAGAPGL LWMGLALALA LALALSRSRV**  
**LWAPAEAHPL** SPQGHPARLH RIVPRLRDVF GWGNLTCPIC KGLFTAINLG  
 LKKEPNVARV GSVAIKLCNL LKIAPPAVCQ SIVHLFEDDM VEVWRRSVLS  
 PSEACGLLLG STCGHWDIFS SWNISLPTVP KPPPKPPSP APGAPVSRIL  
 FLTDLHWDHD YLEGTDPDCA DPLCCRRGSG LPPASRPGAG YWGEYSKCDL  
 PLRTLLESLLS GLGPAGPFDM VYWTGDIPAH DVVHQTRQDQ LRALTTVTAL  
 VRKFLGVPV YPAVGNHEST PVNSFPFFI EGNHSSRWLY EAMAKAWEPW  
 LPAEALRTLRL IGGFYALSPY PGLRLISLNM NFCSRENFWL LINSTDPAGQ  
 LQWLVGELQA AEDRGDKVHI IGHIPPGHCL KSWSWNYRI VARYENTLAA  
 QFFGHTHVDE FEVFYDEETL SRPLAVAFLA PSATTYIGLN PGYRVYQIDG  
 NYSGSSHVVL DHETYILNLT QANIPGAI PHWQLLYRAR ETYGLPNTLP  
 WHNLVYRMRG DMQLFQTFW LYHKGHPPE PCGTPCRLAT LCAQLSARAD  
 SPALCRHLMP DGSLEPAQSL WPRPLFC (SEQ ID NO:1)

20 En algunas realizaciones, la ASM es 99 %, 98 %, 97 %, 96 % o 95 % idéntica en secuencia de aminoácidos a la olipudasa alfa. Por ejemplo, una ASM útil en la presente invención tiene la secuencia de ASM mostrada en la patente de EE. UU. 6.541.218. Esa secuencia se muestra a continuación, con la secuencia conductora en cursiva y negrita, donde la proteína madura no tiene la secuencia conductora:

**MPRYGASLRQ SCPRSGREQG QDGTAGAPGL LWMGLVLALA LALALSRSRV**  
**RVLWAPAEAH** PLSPQGHPAR LHRIVPRLRD VFGWGNLTCPC ICKGLFTAIN  
 LGLKKEPNVA RVGSVAIKLC NLLKIAPPAV CQSIVHLFED DMVEVWRRSV  
 LSPSEACGLL LGSTCGHWDI FSSWNISLPT VPKPPPSPS PPAPGAPVSR  
 ILFLTDLHWD HDYLEGTDPD CADPLCCRRG SGLPPASRPG AGYWGEYSKC  
 DLPLRTLLESL LSGLGPAGPF DMVYWTGDIP AHDVWHQTRQ DQLRALTTVT  
 ALVRKFLGPV PVYPAVGNHE SIPVNSFPFP FIEGNHSSRW LYEAMAKAWE  
 PWLPAEALRT LRIGGFYALS PYPGLRLISL NMNFCSRENF WLLINSTDPA  
 GQLQWLVGEL QAAEDRGDKV HIIGHIPPGH CLKSWSWNYI RIVARYENTL  
 AAQFFGHTHV DEFEVFYDEE TLSRPLAVAF LAPSATTYIG LNPYRVYQI  
 DGNYSRSSHV VLDHETYILN LTQANIPGAI PHWQLLYRAR ETYGLPNTLP  
 TAWHNLVYRM RGDMLFQTF WFLYHKGHPPE PCGTPCRL ATLCALQSAR  
 25 ADSPALCRHL MPDGSLEPAQ SLWPRPLFC (SEQ ID NO:3)

Una ASM útil en la presente invención también puede ser idéntica en secuencia de aminoácidos a la ASM humana divulgada en la base de datos UTIIPROT como secuencia P17405-1, o variantes polimórficas de la misma. La secuencia P17405-1 se muestra a continuación, con la secuencia conductora en cursiva y negrita, donde la proteína madura no tiene la secuencia conductora:

30

**MPRYGASLRQ SCPRSGREQG QDGTAGAPGL LWMGLVLALA LALALALSDS**  
**RVLWAPAEAH** PLSPQGHPAR LHRIVPRLRD VFGWGNLTCP ICKGLFTAIN  
 LGLKKEPNVA RVGSAIKLC NLLKIAPPAV CQSIVHLFED DMVEVWRRSV  
 LSPSEACGLL LGSTCGHWDI FSSWNISLPT VPKPPPKPPS PPAPGAPVSR  
 ILFLTDLHWD HDYLEGTDPD CADPLCCRRG SGLPPASRPG AGYWGEYSKC  
 DLPLRTLESL LSGLGPAGPF DMVYWTGDIP AHDVWHQTRQ DQLRALTTVT  
 ALVRKFLGPV PVYPAVGNHE STPVNSFPPP FIEGNHSSRW LYEAMAKAWE  
 PWLPAEALRT LRIGGFYALS PYPGLRLISL NMNFCSRENF WLLINSTDPA  
 GQLQWLVGEL QAAEDRGDKV HIIGHIPPGH CLKSWSWNYY RIVARYENTL  
 AAQFFGHYTHV DEFVVFYDEE TLSRPLAVAF LAPSATTYIG LNPGYRVYQI  
 DGNYSGSSHV VLDHETYILN LTQANIPGAI PHWQLLYRAR ETYGLPNTLP  
 TAWHNLVYRM RGMQLFQTF WFLYHKGHPP SEPCGTPCRL ATLCAQLSAR  
 ADSPALCRHL MPDGSLEPAQ SLWPRPLFC (SEQ ID NO:4)

El estudio de viabilidad para la terapia con olipudasa alfa se demostró en un modelo de ratón inactivado en ASM (ASMKO) (véase, por ejemplo, Miranda et al., FASEB 14 (13): 1988-95 (2000); Dhami et al., Lab. Inves. 81(7): 987-99 (2001)). Estos estudios mostraron que la administración intravenosa repetida de olipudasa a ratones ASMKO conducía a una reducción dependiente de la dosis de esfingomielina en órganos viscerales. También se observó una reducción de la esfingomielina en los pulmones. Los estudios de ASMKO también mostraron que la olipudasa alfa puede causar toxicidad cuando se administra en dosis altas. Sin embargo, cuando los ratones ASMKO recibieron múltiples dosis bajas seguidas de una dosis alta, la olipudasa alfa no causó la toxicidad observada con una dosis única alta.

La olipudasa alfa se ha usado en estudios clínicos para el tratamiento de manifestaciones no neurológicas de ASMD. Las observaciones en ratones condujeron al desarrollo de un estudio de fase 1 para evaluar la seguridad y farmacocinética del tratamiento con olipudasa alfa, en el que se evaluaron dosis únicas ascendentes de olipudasa alfa (0,03, 0,1, 0,3, 0,6 y 1,0 mg/kg) en 11 pacientes (McGovern et al., Genet. Med. 15(8):618-623 (2013) y el documento de patente WO 2011025996. Los pacientes en ese estudio mostraron aumentos relacionados con la dosis en los reactantes de fase aguda, incluida la ceramida, la bilirrubina y la proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP). También se notificaron eventos adversos relacionados con la dosis que incluían síntomas constitucionales (dolor, fiebre, náuseas y vómitos) compatibles con la toxicidad de la primera dosis.

Se realizó un estudio de fase 1b para evaluar la seguridad y tolerabilidad de olipudasa alfa durante un periodo de tratamiento de 26 semanas con 5 pacientes adultos (Wasserstein et al., Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015). Los pacientes de este estudio recibieron olipudasa alfa de forma de dosis escalonada con una dosis inicial de 0,1 mg/kg seguida de aumentos quincenales escalonados hasta alcanzar la dosis objetivo de 3,0 mg/kg. El estudio mostró que el régimen de aumento de dosis fue bien tolerado, sin efectos adversos graves o intensos, y dio lugar a una reducción gradual de la esfingomielina y sus catabolitos. Por reducción se entiende la eliminación de la esfingomielina que se ha acumulado en los órganos viscerales del paciente debido a la ASMD. Las mejoras observadas en los pacientes incluyeron disminución de los volúmenes de bazo e hígado, disminución de las puntuaciones de la enfermedad pulmonar intersticial, aumento de la función pulmonar y reducción de la quitotriosidasa sérica, CCL18, ACE y otros biomarcadores de la enfermedad. Los inventores han descubierto ahora que cuando estos pacientes continuaron siendo tratados y monitorizados durante 30 meses en una evaluación de seguridad y eficacia a largo plazo, mostraron un perfil de seguridad sostenido y una mejora continua en parámetros clínicamente relevantes, incluidos los volúmenes de bazo e hígado, la puntuación de la enfermedad pulmonar, los perfiles lipídicos y los biomarcadores ASM. Los inventores también han descubierto inesperadamente que los pacientes mostraron una notable mejoría de la densidad mineral ósea (DMO) y la carga de médula ósea (CMO). Estos datos demuestran que la TRE de ASM puede aliviar o prevenir el empeoramiento de la afección ósea anormal de un paciente, tal como la osteopenia y la osteoporosis.

**Posología y vía de administración del ASM**

Las composiciones farmacéuticas que comprenden un ASM como se describe en el presente documento se administrarán en una cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de la afección en cuestión (por ejemplo, una afección ósea anormal asociada a ASMD), es decir, en las dosis y durante los periodos de tiempo necesarios para lograr un resultado deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar en función de factores tales como la afección particular que se esté tratando, la edad, el sexo y el peso del paciente, y de si la terapia de reemplazo enzimático se está administrando como tratamiento independiente o en combinación con uno o más tratamientos adicionales. "Cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del agente terapéutico que se administra que

aliviará en cierta medida o evitará el empeoramiento de uno o más de los síntomas del trastorno o afección que se está tratando. Las composiciones de ASM pueden administrarse mediante inyección intravenosa.

En algunas realizaciones, la eficacia puede indicarse como una mejora en las puntuaciones T de densidad mineral ósea (por ejemplo, puntuaciones T de la columna vertebral y/o del fémur). En determinadas realizaciones, la puntuación T mejora en al menos 0,5 puntos. En algunas realizaciones, la eficacia puede indicarse como una mejora en las puntuaciones Z de densidad mineral ósea (por ejemplo, puntuaciones Z de columna y/o fémur). En determinadas realizaciones, la puntuación Z mejora al menos 0,1 puntos. En algunas realizaciones, la eficacia puede indicarse como una mejora, un no empeoramiento o un retraso en la progresión de enfermedades óseas, tales como la osteopenia o la osteoporosis. En algunas realizaciones, la eficacia puede indicarse por mejoras en el desarrollo esquelético, tales como el crecimiento lineal o la edad ósea (maduración). En determinadas realizaciones, la mejora en el desarrollo esquelético puede medirse en relación con los datos recopilados en un estudio de pacientes pediátricos (Wasserstein et al., *J Pediatr* 142(4):424-428 (2003)). En otras realizaciones, la mejora del desarrollo esquelético puede medirse con respecto a la tabla de crecimiento de cada paciente antes del tratamiento con ASM.

Algunas realizaciones implican un protocolo de aumento de dosis en el que se administran dosis crecientes de ASM (por ejemplo, una rhASM, tal como olipudasa alfa) durante un periodo apropiado para reducir gradualmente la esfingomielina acumulada previamente y minimizar los efectos secundarios tóxicos causados por los catabolitos de esfingomielina. Por ejemplo, el tratamiento puede implicar la administración de una o más dosis iniciales, bajas y no tóxicas de ASM a un paciente para reducir la cantidad de esfingomielina que se ha acumulado en el paciente. Cada dosis escalonada puede estar separada de la dosis anterior por una semana, dos semanas o tres semanas. En realizaciones particulares, las dosis escalonadas se administran con un intervalo de dos semanas. Como se usa en el presente documento, el término "dosis no tóxica(s)" y similares se refiere a una dosis de una ASM administrada a pacientes con ASMD sin dar lugar a uno, dos, tres o todos los siguientes: (i) un acontecimiento adverso relacionado moderado o grave como se define por un síntoma clínico que interfiera con el funcionamiento diario normal y requiera monitorización, intervención o tratamiento adicional, o, un valor de laboratorio anormal o resultado de procedimiento de preocupación clínica que requiera monitorización, tratamiento o investigación adicional. Véase, por ejemplo, la terminología habitual del modelo de tabulación de datos de estudios del Consorcio de Estándares de Intercambio de Datos Clínicos v.3.1.1; (ii) un valor de bilirrubina total superior a 1,5 mg/dl, 2 mg/dl, 3 mg/dl o 4 mg/dl, que dure más de una semana, dos semanas o tres semanas después de la administración de una dosis de rhASM; (iii) una concentración plasmática de ceramida superior a 8,2 µg/dl, 9 µg/dl, 10 µg/dl, 15 µg/dl, 20 µg/dl, 30 µg/dl, 40 µg/dl, 50 µg/dl, 60 µg/dl, 70 µg/dl u 80 µg/dl, 24 horas, 36 horas, 48 horas o 72 horas después de la administración de la dosis de rhASM; o (iv) una respuesta/reacción de fase aguda. La "dosis no tóxica" de ASM puede variar en función de, por ejemplo, la estabilidad de la enzima usada, la actividad de la enzima usada y/o la vía de administración de la enzima. Por ejemplo, la dosis de una enzima ASM modificada con actividad aumentada puede ser inferior a la dosis de una ASM no modificada. Un experto en la materia podría ajustar la dosis de enzima administrada en función de la estabilidad de la enzima, la actividad de la enzima y/o la vía de administración de la enzima.

Tras un determinado periodo de tiempo, la dosis de ASM puede aumentarse hasta la dosis terapéuticamente eficaz más alta tolerada por el paciente. Una vez identificada esta dosis, puede usarse como dosis de mantenimiento para tratar al paciente. Alternativamente, la dosis de mantenimiento puede reducirse a partir de la dosis de escalada más alta una vez que el estado de ASMD del paciente se haya estabilizado tras el régimen de aumento de dosis. Las dosis de mantenimiento pueden administrarse al paciente cada 1, 2, 3 o 4 semanas. En determinadas realizaciones, la dosis de mantenimiento se administra quincenalmente.

Como se usa en el presente documento, el término "dosis de mantenimiento" se refiere a una dosis de una ASM descrita en el presente documento administrada a pacientes con ASMD para mantener el efecto terapéutico deseado, por ejemplo, una mejora o un no empeoramiento de una o más afecciones óseas anormales, tales como las descritas en el presente documento. En realizaciones específicas, la(s) dosis(es) de mantenimiento mantiene(n) uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos terapéuticos deseados: (i) una reducción del volumen del bazo evaluada mediante técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, IRM; (ii) una reducción de los niveles de esfingomielina hepática evaluada mediante técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, análisis bioquímico y/o histomorfométrico de muestras de hígado; (iii) un aumento de la capacidad de ejercicio como se evalúa por técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, la carga de trabajo máxima mediante cicloergometría, incluido el porcentaje de carga de trabajo máxima prevista, el consumo máximo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono; (iv) un aumento de la función pulmonar como se evalúa mediante técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, las técnicas descritas en American Thoracic Society, *Am. Rev. Respir. Dis.* 144: 1202-1218 (1991), tales como la capacidad de difusión (DLco), el porcentaje previsto de capacidad vital forzada (FVC) como se mide mediante, por ejemplo, técnicas espirométricas, el volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV1) como se mide, por ejemplo, por técnicas espirométricas, y la capacidad pulmonar total; (v) una disminución de la esfingomielina en el lavado bronquial alveolar (BAL); (vi) una disminución del volumen hepático como se evalúa mediante técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, IRM; (vii) una mejora del aspecto de los pulmones como se evalúa mediante técnicas conocidas en la materia, por ejemplo, tomografía computarizada (TC) de alta resolución o radiografía de tórax; (viii) una disminución de la concentración de esfingomielina o lisoesfingomielina en el hígado, la piel, el plasma y las manchas de sangre seca (DBS) como se mide mediante, por ejemplo, espectrometría de masas en tándem; (ix) una reducción o mejora de la gravedad de la ASMD y/o de un síntoma asociado a ella; (x) una reducción de la duración de un síntoma asociado a la ASMD; (xi) la

prevención de la recurrencia de un síntoma asociado a la ASMD; (xii) reducción de la hospitalización de un sujeto; (vi) la reducción de la duración de la hospitalización; (xiii) un aumento de la supervivencia de un sujeto; (xiv) una reducción de la mortalidad; (xv) una disminución de la tasa de hospitalización; (xvi) una reducción del número de síntomas asociados a la ASMD; (xvii) un aumento de la supervivencia libre de síntomas de los pacientes con ASMD; (xviii) la mejora de la función neurológica (por ejemplo, función psicomotora, capacidad de respuesta social, etc.); (xix) una mejora del aclaramiento pulmonar como se mide, por ejemplo, por el recuento y el perfil de células BAL; (xx) una disminución de los niveles séricos de quitotriosidasa; (xxi) una disminución de los niveles séricos del ligando 18 de motivo de quimiocina (c-c) (CCL18); (xxii) una mejora del perfil lipídico (por ejemplo, HDL, LDL, colesterol, triglicéridos y relación colesterol total:HDL); (xxiii) una mejora de las afecciones óseas anormales; y (xxiv) una mejora de la calidad de vida (CdV) como se evalúa, por ejemplo, mediante un cuestionario, tal como el Inventario Breve de Fatiga (BFI) (Mendoza et al., *Cancer* 85(5):1186-1196 (1999)), el Inventario Breve de Dolor (BPI-SF) (Cleeland C., *Acta Paediatr. Suppl.* 91(439):43-47 (2002)), o el cuestionario de Calidad de Vida Pediátrica (PedsQL) (Varmi et al., *Medical Care* 39(8):800-812 (2001)), o la Escala Multidimensional de Fatiga PedsQL (Varmi et al., *J Rheumatol* 31(12):2494-2500 (2004)). En determinadas realizaciones, la dosis de mantenimiento más alta es la dosis más alta o máxima tolerada por un paciente.

En algunas realizaciones, un paciente que recibe una dosis de mantenimiento es monitorizado cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 meses, o cada año o cada dos años para uno o más de los siguientes: (i) acontecimientos adversos relacionados; (ii) concentraciones de bilirrubina total/directa/indirecta; (iii) concentración de ceramida plasmática; o (iv) una respuesta de fase aguda. En algunas realizaciones, el paciente es monitorizado cada 3 meses, cada 6 meses o anualmente. Si el paciente experimenta un acontecimiento adverso relacionado de intensidad moderada, una concentración de bilirrubina total superior al valor de bilirrubina total para un humano sin ASMD (por ejemplo, un humano sano), una concentración de ceramida plasmática superior a la concentración de ceramida plasmática de un humano sin ASMD (por ejemplo, un humano sano), o una respuesta de fase aguda, entonces la dosis administrada al paciente puede ser evaluada por un médico u otro profesional médico para determinar si la dosis debe ajustarse.

Determinadas realizaciones comprenden: (a) un régimen de aumento de dosis (por ejemplo, para reducir el sustrato de esfingomielina acumulado en el paciente humano) que comprende: (i) administrar una dosis inicial (por ejemplo, una dosis baja no tóxica tal como 0,1 mg/kg) de un ASM (por ejemplo, olipudasa alfa) como se describe en el presente documento al paciente humano; (ii) administrar dosis sucesivamente más altas del ASM al paciente humano, y (iii) monitorizar al paciente para uno o más efectos secundarios adversos después de cada dosis sucesiva como se indica por, por ejemplo, una concentración elevada de bilirrubina total, una concentración elevada de ceramida plasmática, lisoefingomielina, quitotriosidasa, la producción de reactantes de fase aguda, la producción de mediadores inflamatorios, o un acontecimiento adverso (por ejemplo, tal como se define en la terminología habitual del modelo de tabulación de datos de estudios del Consorcio de Estándares de Intercambio de Datos Clínicos v.3.1.1.); y (b) un régimen de mantenimiento que comprende la administración de una dosis igual o inferior a la dosis más alta tolerada por el paciente (por ejemplo, igual o inferior a 3 mg/kg) como dosis de mantenimiento para el paciente.

Determinadas realizaciones comprenden: (a) un régimen de aumento de dosis (por ejemplo, para reducir el sustrato de esfingomielina acumulado en el paciente humano) que comprende: (i) administrar una dosis inicial (por ejemplo, una dosis baja no tóxica tal como 0,1 mg/kg) de un ASM (por ejemplo, olipudasa alfa) como se describe en el presente documento al paciente humano; (ii) administrar dosis sucesivamente más altas del ASM al paciente humano si el paciente no manifiesta uno o más efectos secundarios adversos indicados por, por ejemplo, una concentración elevada de bilirrubina total, una concentración elevada de ceramida plasmática, la producción de reactantes de fase aguda, lisoefingomielina, quitotriosidasa, la producción de mediadores inflamatorios, o un acontecimiento adverso (por ejemplo, como se define en la terminología habitual del modelo de tabulación de datos de estudios del Consorcio de Estándares de Intercambio de Datos Clínicos v.3.1.1.); y (b) un régimen de mantenimiento que comprende la administración repetida de una dosis de mantenimiento que es igual o inferior a la dosis más alta tolerada por el paciente (por ejemplo, igual o inferior a 3 mg/kg). En algunas realizaciones, se monitoriza al paciente durante un periodo de tiempo tras la administración de una dosis de ASM (por ejemplo, 6 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, semanalmente o hasta la siguiente dosis) para uno o más efectos secundarios adversos. En determinadas realizaciones, la dosis de mantenimiento que se administra puede ajustarse durante el curso del tratamiento del paciente. En algunas realizaciones, la dosis de mantenimiento más alta administrada al paciente es la dosis más alta tolerada por el paciente.

En determinadas realizaciones, la dosis inicial oscila de 0,025 a 0,275 mg/kg, por ejemplo, 0,03 mg/kg a 0,5 mg/kg, 0,01 a 0,5 mg/kg, o 0,1 mg/kg a 1 mg/kg, de ASM (por ejemplo, olipudasa alfa). En realizaciones particulares, la dosis inicial es 0,03 mg/kg o 0,1 mg/kg. Por ejemplo, la dosis inicial para un paciente pediátrico puede ser 0,03 mg/kg; y la dosis inicial para un paciente adulto puede ser 0,1 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis inicial para un paciente pediátrico o adulto puede ser de 0,1 mg/kg.

En determinadas realizaciones, los pacientes recibirán la misma dosis de olipudasa alfa al menos dos veces antes de aumentar a una dosis inmediatamente superior. En algunas realizaciones, las dosis sucesivamente más altas se administran una, dos, tres o cuatro semanas después de la dosis anterior. En algunas realizaciones específicas, las dosis sucesivamente más altas se administran cada una dos semanas después de la dosis anterior. En realizaciones particulares, la dosis sucesivamente más alta es 0,05-1,0 mg/kg, 0,1-3,0 mg/kg o 0,5-2,0 mg/kg más alta que la dosis

anterior, por ejemplo, aproximadamente 0,07 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg o 1 mg/kg más alta que la dosis anterior.

5 En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz más alta tolerada por un paciente es 1 mg/kg a 2,5 mg/kg, 2 mg/kg a 3 mg/kg, 3 mg/kg a 5 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz más alta tolerada por un paciente es 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg o 5 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis más alta tolerada por el paciente es 1 mg/kg a 3 mg/kg, por ejemplo, de 1 mg/kg a 2,5 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis más alta se administra al paciente humano como la dosis de mantenimiento más alta. En determinadas realizaciones, la dosis de mantenimiento más alta está en la cantidad de, por ejemplo, 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg o 3 mg/kg. En realizaciones particulares, la dosis de mantenimiento más alta es 3 mg/kg. Las dosis de mantenimiento posteriores pueden administrarse en la misma cantidad o menos que la dosis de mantenimiento más alta. En algunas realizaciones, las dosis de mantenimiento son 0,3-3 mg/kg.

15 En algunas realizaciones, el régimen de aumento de dosis puede implicar la administración del ASM en una pluralidad de dosis en el orden de, por ejemplo, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,6 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg y 3,0 mg/kg (dosis de mantenimiento más alta), donde las dosis sucesivas se administran cada una dos semanas después de la dosis anterior. En otras realizaciones, el régimen de aumento de dosis puede implicar la administración del ASM en una pluralidad de dosis en el orden de, por ejemplo, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,6 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg y 3,0 mg/kg (dosis de mantenimiento más alta), donde las dosis sucesivas se administran cada una dos semanas después de la dosis anterior.

20 En determinadas realizaciones, una dosis de un ASM según se describe en el presente documento se administra cada semana, cada 2 semanas, cada 3 semanas o cada 4 semanas a un paciente. En realizaciones particulares, las dosis se administran en un intervalo de cada dos semanas, mediante, por ejemplo, inyección intravenosa.

25 Algunas realizaciones implican la administración de las dosis de ASM durante un periodo de 6 a 30 meses, por ejemplo, durante un periodo no superior a 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 12 meses, 13 meses, 14 meses, 15 meses, 16 meses, 17 meses, 18 meses, 19 meses, 20 meses, 21 meses, 22 meses, 23 meses, 24 meses, 25 meses, 26 meses, 27 meses, 28 meses, 29 meses o 30 meses, para que mejore la afección (afecciones) ósea(s) objetivo. En determinadas realizaciones, las dosis de ASM se administran durante un periodo no superior a 30 meses.

30 Otras realizaciones incluyen protocolos de administración y/o vías de administración como se describe en, por ejemplo, el documento de patente WO 2011/025996.

35 En realizaciones particulares, el régimen de aumento de dosis usado para tratar pacientes adultos o pediátricos con ASMD puede ser, por ejemplo, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1 Régimen de aumento de dosis

Semana de tratamiento	Dosis de olipudasa alfa (mg/kg)
0	0,1
2	0,3
4	0,3
6	0,6
8	0,6
10	1,0
12	2,0
14	3,0
16	3,0

40 En otras realizaciones particulares, el régimen de aumento de dosis usado para tratar a pacientes pediátricos con ASMD puede ser, por ejemplo, como se muestra en la siguiente tabla:

45 Tabla 2 Esquema de aumento de dosis para pacientes pediátricos

Semana de tratamiento	Dosis de olipudasa alfa (mg/kg)
0	0,03
2	0,1
4	0,3

Semana de tratamiento	Dosis de olipudasa alfa (mg/kg)
6	0,3
8	0,6
10	0,6
12	1,0
14	2,0
16	3,0

5 En algunas realizaciones, las poblaciones de pacientes pediátricos incluyen la cohorte de adolescentes con ASMD (edades 12 a <18 años), la cohorte de niños con ASMD (edades 6 a <12 años) y la cohorte de lactantes/niños pequeños (desde el nacimiento hasta <6 años).

**Artículos de fabricación y kits**

10 La presente divulgación también proporciona artículos de fabricación y kits que comprenden una ASM como se describe en el presente documento. Los artículos de fabricación y los kits no se reivindican en el presente documento. En algunos casos, los artículos y kits son adecuados para tratar a un paciente como se describe en el presente documento, por ejemplo, un paciente con ASMD. Por ejemplo, los artículos y kits pueden ser adecuados para tratar una afección ósea anormal descrita en el presente documento en un paciente con ASMD. En algunos casos, los principios activos farmacéuticos de los artículos y kits se preparan para su administración a las dosis descritas en el presente documento y se formulan para su administración mediante los métodos descritos en el presente documento.

20 A menos que se definan de otro modo en el presente documento, los términos científicos y técnicos usados en relación con la presente invención tendrán el significado comúnmente entendido por los expertos en la materia. En el presente documento se describen métodos y materiales a modo de ejemplo, aunque también pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de los métodos descritos en el presente documento. En caso de conflicto, controlará la presente memoria descriptiva, que incluye definiciones. En general, la nomenclatura usada en relación con, y las técnicas de, el cultivo de células y tejidos, la biología molecular, la inmunología, la microbiología, la genética, la química analítica, la química orgánica sintética, la química medicinal y farmacéutica, y la química e hibridación de proteínas y ácidos nucleicos descritas en el presente documento, son las conocidas y usadas habitualmente en la técnica. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan según especificaciones del fabricante, como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en el presente documento. Aunque en el presente documento se citan varios documentos, esta cita no constituye una admisión de que cualquiera de estos documentos forme parte del conocimiento general común en la técnica. Además, a menos que se requiera de otro modo por el contexto, términos en singular deben incluir pluralidades y términos en plural deben incluir el singular. A lo largo de esta memoria descriptiva y de las realizaciones, se entenderá que las palabras "tienen" y "comprenden", o variaciones tales como "tiene", "que tiene", "comprende" o "que comprende", implican la inclusión de un número entero establecido o grupo de números enteros, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros.

35 Para que esta invención pueda comprenderse mejor, se exponen los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son únicamente ilustrativos y no deben interpretarse como limitativos del alcance de la invención en modo alguno.

**EJEMPLO**

40 **Ejemplo 1: Estudio a largo plazo para evaluar la seguridad y eficacia de olipudasa alfa en pacientes con ASMD**

**Pacientes y diseño del estudio**

45 El objetivo del estudio es obtener información sobre la seguridad y eficacia de olipudasa alfa en pacientes con ASMD tras su administración a largo plazo. Este estudio a largo plazo (LTS), abierto y en curso (NCT02004704; Número EudraCT: 2013-000051-40) realiza un seguimiento de 5 pacientes adultos con ASMD crónica que participaron previamente en el estudio de fase 1b (Wasserstein et al. Mol Genet Metab 116(1-2):88-97 (2015)). Se analizaron los datos de todos los pacientes después de 30 meses de tratamiento. La Junta de Revisión Institucional o el comité de ética de cada centro aprobaron el protocolo y todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito. El estudio se llevó a cabo según las Buenas Prácticas Clínicas y de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki.

55 Los criterios de elegibilidad para el estudio de fase 1b se describieron previamente. *Ídem* Los pacientes que completaron el estudio de fase 1b con un perfil de seguridad aceptable fueron elegibles para continuar en el LTS y continuaron con la misma dosis de olipudasa alfa que estaban recibiendo al final del estudio de fase 1b.

**Medidas y análisis de los resultados**

Las evaluaciones de seguridad incluyeron paneles hematológicos y químicos estándar y monitorización continua de AE, incluidas las reacciones asociadas a la infusión (IAR) como se describió previamente en McGovern et al. GenetMed 18(1):34-40 (2015) y Wasserstein et al. Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015). La esfingomielina y la ceramida plasmática catabólica se evaluaron mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (CL/EM/EM). Los biomarcadores del estado óseo también incluyeron quitotriosidasa (suero) y lisoesfingomielina [mancha de sangre seca (DBS)] determinadas por CL/EM/EM. El desarrollo de anticuerpos antifármaco se evaluó como se describió previamente en McGovern et al., 2015, arriba, y Wasserstein et al. Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015).

Las mediciones cuantitativas de los volúmenes de bazo e hígado se determinaron a partir de IRM abdominal y los volúmenes de los órganos se expresaron como múltiplos de la normalidad (MN). El porcentaje previsto, ajustado por hemoglobina, de capacidad de difusión del pulmón para el monóxido de carbono (DLco) se calculó mediante fórmulas normalizadas (Crapo and Morris Am Rev Respir Dis 123(2):185-189 (1981), Macintyre et al. Eur Respir J 26(4):720-735 (2005)). La tomografía computarizada de alta resolución (HRCT) evaluó la enfermedad pulmonar infiltrativa. Las imágenes de HRCT del campo pulmonar se puntuaron subjetivamente para el aspecto de vidrio deslustrado (GG), la enfermedad pulmonar intersticial (ILD) y la densidad reticulonodular (RND) de 0 (sin enfermedad) a 3 (enfermedad grave) como se describió previamente en McGovern et al., 2015, arriba, y Wasserstein et al., 2015, arriba.

Los perfiles de lípidos plasmáticos en ayunas, incluida la medición del colesterol total (CT), lipoproteína de baja densidad (LDL-C), lipoproteína de alta densidad (HDL-C) y triglicéridos, se midieron durante todo el estudio. Los niveles de no-HDL se calcularon a posteriori como la diferencia entre los niveles de colesterol total y de HDL-colesterol (Jacobson et al., J. Clin. Lipidol. 9(2):129-169 (2015)).

La carga de médula ósea (CMO) se determinó a partir de IRM de columna lumbar y ambos fémures, donde la cuantificación de imágenes indicó el grado de infiltración de la médula ósea por células cargadas de lípidos (Robertson et al, AJR. Am. J. Roentgenol. 188(6): 1521-1528 (2007)). La densidad mineral ósea (DMO) se determinó a partir de imágenes óseas por absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) de la columna lumbar y ambos fémures y la determinación de las puntuaciones T y Z (WHO JAMA 285(6):785-795 (2001)). La DMO se evaluó siguiendo las directrices proporcionadas por la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD 2015).

Los resultados notificados por los pacientes usando escalas de 11 puntos de 0 (ausencia) a 10 (peor) incluyeron el Inventario Breve de Fatiga (BFI) validado (Mendoza et al., Cancer 85(5):1186-1196 (1999)); y los cuestionarios del Inventario Breve de Dolor-Formulario Corto (BPI-SF) para evaluar la interferencia con las actividades diarias en el nivel basal y periódicamente durante todo el tratamiento (Cleeland C., Acta Paediatr. Suppl. 91(439):43-47 (2002)).

**Métodos estadísticos**

Se proporcionó estadística descriptiva para las variables categóricas y continuas, se calculó el cambio desde el nivel basal y el cambio porcentual desde el nivel basal para los volúmenes de los órganos y la DLco, y se determinaron las diferencias mediante la prueba de la t para datos emparejados y la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney.

**Pacientes y exposición**

Los cinco pacientes adultos (3 varones y 2 mujeres caucásicos) que completaron el estudio de fase 1b continuaron el tratamiento en el LTS. En el nivel basal, todos los pacientes presentaban esplenomegalia (intervalo 7,4 a 16,1 MN), hepatomegalia (intervalo 1,2 a 2,2 MN), alteración del intercambio gaseoso (intervalo de 43 a 80 % de la DLco prevista) y un perfil lipídico proaterogénico. Las características de los pacientes se han publicado anteriormente (Wasserstein et al. Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)) y se resumen en la Tabla 3. La mayoría de los pacientes (4/5) permanecieron en la dosis objetivo de 3 mg/kg de olipudasa alfa durante 30 meses de tratamiento. Para el paciente 2, la dosis se redujo a 2 mg/kg durante 6 meses (meses 12-18) y después a 1 mg/kg (meses 18-actual) debido a los AE que se describen a continuación.

Tabla 3 Características demográficas y basales del paciente (Wasserstein et al., 2015)

	ID de paciente					Media (DE)
	1	2	3	4	5	
Edad de aparición de los síntomas de ASMD (años)	2	1	6	0	12	4,2 (4,9)
Edad de diagnóstico de ASMD (años)	2	2	12	8	12	7,2 (5,0)
Edad de la primera infusión de olipudasa alfa	31	32	47	28	22	32,6 (9,4)
Volumen de bazo (MN) <sup>a</sup>	14,49	17,92	7,41	16,07	7,96	12,77 (4,81)
Volumen de hígado (MN) <sup>a</sup>	2,23	2,20	1,21	1,76	1,29	1,74 (0,48)
DL <sub>CO</sub> (% predicho) <sup>b</sup>	43,7	48,0	77,0	43,0	80,0	58,3(18,5)
TC (mmol/l) <sup>c</sup>	4,70	3,83	5,26	4,66	3,63	4,42 (0,67)
HDL-C (mmol/l) <sup>d</sup>	0,32	0,36	0,96	0,31	0,57	0,50 (0,28)
<i>No HDL (mmol/l)<sup>e</sup></i>	<i>4,38</i>	<i>3,47</i>	<i>4,30</i>	<i>4,35</i>	<i>3,06</i>	<i>3,91 (0,61)</i>
LDL-C (mmol/l) <sup>f</sup>	3,38	2,59	3,32	2,69	2,25	2,85 (0,49)
VLDL-C (mmol/l) <sup>g</sup>	0,88	0,88	0,98	1,66	0,80	1,04 (0,35)
Triglicéridos (mmol/l) <sup>h</sup>	2,20	1,55	1,14	4,35	1,38	2,12 (1,31)

ASM=esfingomielinasa ácida; ASMD=deficiencia de esfingomielinasa ácida; C=colesterol; DL<sub>CO</sub>=difusión pulmonar de monóxido de carbono; HDL=lipoproteína de alta densidad; LDL=lipoproteína de baja densidad; MN=múltiplos de la normalidad; DE=desviación estándar; TC=colesterol total; VLDL=lipoproteína de muy baja densidad.

<sup>a</sup>MN, múltiplos de la normalidad calculados suponiendo que el volumen de bazo normal es 0,2 % del peso corporal (kg) y el volumen de hígado normal es 2,5 % del peso corporal (kg)

<sup>b</sup> DL<sub>CO</sub> normal >80 %; levemente reducido >60 % a ≤ 80 %; moderadamente reducido 40–60 %; gravemente reducido < 40 %

<sup>c</sup> Intervalo de la normalidad de colesterol total: US <5,18 mmol/l; UK 0–3,9 mmol/l

<sup>d</sup> Intervalo de la normalidad de HDL: US hombre >0,777; US mujer >0,9065 mmol/l; UK >1,2 mmol/l

<sup>e</sup> calculado como la diferencia entre TC y HDL-C (Jacobsen et al., 2015)

<sup>f</sup> Intervalo de la normalidad de LDL: US <3,3411 mmol/l; UK 0–2 mmol/l,

<sup>g</sup> Intervalo de la normalidad de VLDL: US <0,518 mmol/l; UK 0,09–0,71 mmol/l

<sup>h</sup> Intervalo de la normalidad de triglicéridos: <1,7 mmol/l

### Seguridad

- 5 No hubo muertes, acontecimientos graves o intensos, o interrupciones durante 30 meses de tratamiento. Todos los pacientes tuvieron al menos 1 AE, y casi todos (826/838, 98,5 %) fueron de intensidad leve. De los 443 AE considerados relacionados con el tratamiento, 96 (21,7 %) se consideraron IAR (entre ellos, cefalea, náuseas, dolor abdominal, artralgia, dolor musculoesquelético y mialgia). Seis AE moderados considerados IAR se produjeron durante el estudio de fase 1b (primeros 6 meses) y se han notificado anteriormente (Wasserstein et al. Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)).
- 10 De los 6-30 meses en el LTS, 5 AE moderados considerados IAR incluyeron dolor abdominal, dolor hepático, náuseas, espasmo muscular y alteración sensorial en el paciente 2. No se produjeron reacciones de hipersensibilidad, reacciones de fase aguda ni síndrome de liberación de citocinas. Ningún paciente desarrolló

anticuerpos IgG frente a olipudasa alfa. No se produjeron cambios adversos clínicamente significativos en las constantes vitales, la hematología o los parámetros de seguridad cardíacos.

5 Los niveles de los marcadores inflamatorios IL-6, IL-8 y hsCRP estables al final del estudio de fase 1b (Wasserstein et al. Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)) se mantuvieron estables para todos los pacientes excepto para el paciente 2, que tuvo fluctuaciones en la hsCRP (1,10 a 33,3 mg/ml; intervalo normal 0-5) desde el mes 6 hasta el mes 30. Los niveles de ceramida plasmática de todos los pacientes (FIG. 1A) se mantuvieron dentro de los límites de la normalidad (1,8-6,5 µg/ml).

10 Los niveles de enzimas de la función hepática se mantuvieron dentro de los intervalos de la normalidad para todos los pacientes hasta el mes 30, cuando el paciente 4 presentó elevaciones transitorias de ALT (1,4x la normalidad) y AST (2,9x la normalidad), sin AE correspondientes, y con niveles normales posteriores. Los niveles de bilirrubina total y GGT se mantuvieron similares o por debajo de los niveles basales para todos los pacientes. Los niveles de hierro fluctuaron con el tiempo, pero se mantuvieron dentro o cerca de los intervalos de la normalidad.

15 Durante el aumento de dosis de la fase 1b, el paciente 2 experimentó IAR que obligaron a repetir la dosis de 2 mg/kg (Wasserstein et al. Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)). Posteriormente, el paciente recibió la dosis objetivo de 3 mg/kg a lo largo del ensayo de fase 1b y durante los primeros 6 meses del LTS, momento en el que el paciente informó de AE leves 7-10 días después de la mayoría de las infusiones, incluyendo náuseas, dolor de cabeza, fatiga, dolor, dolor abdominal intermitente y fiebre ocasional (38,3 a 40,0 °C). Los episodios duraron ~3 días y se resolvieron completamente en la siguiente infusión. Se redujo la dosis de olipudasa alfa (2 mg/kg durante 6 meses, y luego a la dosis actual de 1 mg/kg). La disminución de la dosis no cambió el momento, la frecuencia o los tipos de acontecimientos notificados.

25 **Eficacia**

**Volúmenes de bazo e hígado**

30 Los volúmenes del bazo e hígado disminuyeron en todos los pacientes en relación con el nivel basal (FIG. 2A). Los volúmenes medios del bazo disminuyeron de 12,8 múltiplos de la normalidad (MN) en el nivel basal a 6,7 MN a los 30 meses, una disminución del 47,3 % desde el nivel basal ( $p < 0,0001$ ). Los volúmenes hepáticos medios disminuyeron de 1,7 MN en el nivel basal a 1,07 MN a los 30 meses, una disminución del 35,6 % desde el nivel basal ( $p = 0,006$ ).

35 **Enfermedad pulmonar infiltrativa**

40 El porcentaje previsto de DLco aumentó en todos los pacientes en relación con los valores basales (FIG. 2B) y mejoró de una media del 53,2 % (moderada) en el nivel basal a un 67,1 % a los 30 meses (leve). Los mayores cambios se produjeron en los tres pacientes con los valores de % de DLco predicho más bajos en el nivel basal (<40 %, en el intervalo grave). La FIG. 2B también muestra la evaluación de la enfermedad pulmonar infiltrativa con puntuaciones medias para los componentes en el nivel basal, a los 6 meses, a los 18 meses y a los 30 meses. Los datos muestran disminuciones progresivas en todos los parámetros, particularmente en el aspecto de GG y RND, que se resolvieron casi por completo.

45 **Parámetros lipídicos en ayunas**

50 Los perfiles lipídicos en ayunas se muestran en las FIG. 4A-4D. A los 30 meses, los triglicéridos disminuyeron el 42,99 % ( $p = 0,02$ ), el colesterol total el 12,7 % ( $p = 0,04$ ), el LDL-C el 22,8 % ( $p = 0,007$ ) y el HDL-C aumentó el 137,6 % ( $p = 0,01$ ). El nivel de colesterol no HDL (colesterol total menos HDL-C) fue >3,37 mmol/l (>130 mg/dl) en 4/5 pacientes al inicio (media 3,91 mmol/l) y fue <3,37 mmol/l en todos los pacientes a los 30 meses (media 2,66 mmol/l).

**Evaluación de biomarcadores**

55 Los niveles medios de lisoefingomielina en la ECP fueron 5 veces superiores al límite superior de la normalidad (ULN = 69 µg/l) al inicio del estudio y disminuyeron a niveles casi normales que se mantuvieron estables de 6 a 30 meses (FIG. 1B).

60 Los niveles séricos de quitotriosidasa antes de la infusión disminuyeron de forma constante en el 72,3 %, de 735 nmol/h/ml en el nivel basal a 221 nmol/h/ml a los 30 meses ( $p = 0,0007$ ), acercándose al límite superior de la normalidad del intervalo de quitotriosidasa ( $\leq 181$  nmol/h/ml) (FIG. 1C). Los datos no se ajustaron para tener en cuenta a dos pacientes heterocigotos para una duplicación común de 24 pb que reduce la actividad de quitotriosidasa sérica.

**Hematología**

65 La mayoría de los pacientes mantuvieron recuentos de plaquetas justo por debajo de la normalidad o dentro del intervalo bajo de la normalidad. El paciente 1 tuvo valores (57-102x10<sup>9</sup>/l) por debajo de la normalidad (150 x10<sup>9</sup>/l) durante todo el estudio. Los cambios medios en el recuento de plaquetas con respecto al valor basal (aumentos)

fluctuaron con el tiempo [entre el 5,9 % (mes 27) y el 25,7 % (mes 9)], y fueron del 20,6 % a los 30 meses. Los niveles de hemoglobina se mantuvieron similares a los niveles basales (los cambios medios respecto a los basales oscilaron de -6,1 % en la semana 12 a 6,9 % en el mes 24) y estuvieron dentro de los niveles de la normalidad en todos los pacientes (datos no mostrados).

5

### **Densidad ósea**

En el nivel basal, las puntuaciones T medias de la columna vertebral se encontraban en el intervalo osteopénico (entre -1,0 y -2,5) con  $-1,48 \pm 1,14$ , mientras que las puntuaciones Z indicaban una DMO normal ( $-1,36 \pm 1,26$ ) dentro de la desviación estándar de -1 del corte de DMO baja (-2,0). Tanto la puntuación T como la Z mejoraron a los 30 meses ( $-0,94 \pm 1,03$  y  $-0,78 \pm 1,11$ , respectivamente). El paciente 2 (mujer, 32 años en el nivel basal) tenía una puntuación T espinal basal (-3,06) en el intervalo osteoporótico que mejoró a los 18 (-2,48) y 30 meses (-2,65) hasta valores en el límite osteopenia/osteoporosis. Dos pacientes con puntuaciones T en el intervalo osteopénico en el nivel basal (Paciente 1, varón de 31 años en el nivel basal, -1,31 y Paciente 4, varón de 28 años en el nivel basal, -2,14) tenían puntuaciones en el intervalo de la normalidad a los 30 meses (-0,76 y -0,82, respectivamente). Los resultados de las puntuaciones Z individuales a lo largo del tiempo fueron similares.

10

15

Las puntuaciones medias T y Z del fémur estaban en el intervalo de la normalidad en el nivel basal ( $-0,38 \pm 1,35$  y  $-0,27 \pm 1,46$ , respectivamente) y a los 30 meses ( $-0,28 \pm 1,27$  y  $-0,13 \pm 1,4$ , respectivamente). El Paciente 2 tenía una puntuación T de fémur basal en el intervalo osteopénico (-2,23) y una puntuación Z que indicaba una DMO baja (-2,18); ambas mejoraron ligeramente (-1,89 y -1,82, respectivamente) a los 30 meses.

20

### **Carga de médula ósea**

Las puntuaciones categóricas medias de CMO fueron similares en el nivel basal ( $6,2 \pm 2,5$ ) y a los 30 meses ( $5,6 \pm 1,1$ ). El Paciente 2 tenía la puntuación total más alta de CMO de 10 en el nivel basal, que mejoró en 3 puntos (puntuación de 7) a los 18 y 30 meses. En las FIG. 3A y 3B se muestran imágenes ponderadas en T1 y T2 del fémur y la columna vertebral del Paciente 2 en el nivel basal y después de 30 meses de tratamiento con olipudasa alfa. La hipointensidad de la médula ósea de la epífisis proximal observada en el nivel basal se redujo tras 30 meses de tratamiento. En la columna vertebral, la infiltración difusa de la médula ósea y la intensidad de señal hiperintensa de la grasa presacra observadas al inicio no cambiaron y mejoraron, respectivamente, después de 30 meses de tratamiento.

25

30

### **Resultados notificados por los pacientes**

Las puntuaciones medias de fatiga BFI $\pm$ DE fueron  $3,04 \pm 2,29$  en el nivel basal y  $2,44 \pm 3,44$  a los 30 meses. Las puntuaciones medias BPI $\pm$ DE de intensidad del dolor fueron  $3,45 \pm 2,77$  en el nivel basal y  $2,90 \pm 2,70$  a los 30 meses, y las puntuaciones medias BPI $\pm$ DE de interferencia del dolor fueron  $2,03 \pm 1,58$  en el nivel basal y  $3,29 \pm 3,51$  a los 30 meses. La mayoría de las puntuaciones individuales de gravedad del dolor del BFI y el BPI se encontraban en las categorías leve (0-3) o moderada (4-6) en todos los momentos de tiempo. La excepción fue el paciente 5, cuyo dolor según IFS fue intenso (7-10) tanto en el nivel basal del estudio (6,8) como a los 30 meses (7). Las puntuaciones de interferencia del dolor del IFS aumentaron en los Pacientes 2 (2 en el nivel basal, 8,1 a los 30 meses) y 3 (1,9 en el nivel basal, 5,3 a los 30 meses). La fatiga notificada por el Paciente 2 fue moderada (5,8) en el nivel basal y grave (8,3) a los 30 meses.

35

40

Este estudio demuestra que el tratamiento durante 30 meses con olipudasa alfa, el primer tratamiento específico de la etiología en desarrollo para la ASMD, es bien tolerado y se asocia con mejoras sostenidas que transforman la vida en medidas clínicas relevantes de la enfermedad. El perfil de seguridad a 30 meses fue similar al perfil del estudio de fase 1b (Wasserstein et al., Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)). No se produjeron reacciones de hipersensibilidad ni se detectaron anticuerpos antifármaco. Hasta la fecha no se ha observado ningún síndrome de liberación de citocinas en ningún paciente expuesto a olipudasa alfa. Dado que las IAR no fueron reacciones inmunológicas, es probable que estén relacionadas con la liberación de metabolitos de esfingomielina biológicamente activos, principalmente ceramida, que es un producto intermedio de la señalización en la liberación de citocinas, la inflamación y la apoptosis (Spiegel et al., Curr. Opin. Cell Biol. 8(2):159-167 (1996); Gulbins et al., J. Mol. Med. 82(6):357-363 (2004)). Durante los seis primeros meses de tratamiento, las dosis de olipudasa alfa provocaron aumentos transitorios de los niveles de ceramida plasmática que, en general, alcanzaron su máximo a las 48 horas después de la infusión (Wasserstein et al. Mol. Genet. Metab. 116(1-2):88-97 (2015)). Los niveles de ceramida antes y después de la infusión disminuyeron de forma constante con cada infusión sucesiva de olipudasa alfa, estabilizándose después de 3 meses de tratamiento y permaneciendo estables durante 30 meses.

45

50

55

Las mejoras clínicas se mantuvieron a lo largo de los 30 meses. Las mejoras estadísticamente significativas en los volúmenes del hígado y el bazo (disminuciones porcentuales medias del volumen del hígado del 31,2 % y del bazo del 39,3 %) son comparables a las respuestas de otros trastornos por almacenamiento lisosómico a la TRE. En la enfermedad de Gaucher, el objetivo terapéutico para el volumen del bazo es una disminución del 30 % al 50 % durante el primer año de tratamiento, y para el volumen del hígado una disminución del 20 % al 30 % durante los 2 primeros años de tratamiento (Pastores et al., Semin Hematol 41 (Supple 5):4-14 (2004)).

60

65

Los pacientes con ASMD visceral crónica o neurovisceral crónica muestran un empeoramiento de la enfermedad pulmonar infiltrativa con la edad (Wasserstein et al., *Pediatrics* 114(6):e672-677 (2004)). A lo largo de 30 meses de tratamiento se produjo un aumento del 35 % de la capacidad de difusión pulmonar con respecto al nivel basal, con cambios notables en los 3 pacientes con la DLCO más baja en el nivel basal del tratamiento. Se observaron mejoras en las puntuaciones de la enfermedad pulmonar durante los primeros 6 meses de tratamiento (Wasserstein et al. *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2):88-97(2015)) continuaron durante los 2 años posteriores de tratamiento, de forma que algunos parámetros (por ejemplo, el aspecto del GG y el RND) se habían normalizado.

Los perfiles lipídicos aterogénicos empeoran normalmente con la edad en pacientes con ASMD crónica (Wasserstein et al., *Pediatrics* 114(6):e672-677(2004)), y las anomalías lipídicas pueden estar asociadas con la enfermedad arterial coronaria temprana (McGovern et al., *J. Pediatr.* 145(1):77-81(2004)). En el nivel basal, los pacientes presentaban un riesgo de leve a moderado de enfermedad cardiovascular basada en sus perfiles lipídicos (Wasserstein et al. *Mol. Genet. Metab.* 116(1-2): 88-97(2015)), y los perfiles mejoraron a lo largo de 30 meses de tratamiento. El nivel de colesterol no HDL se considera un buen factor pronóstico del riesgo cardiovascular en muchas poblaciones de pacientes, y un nivel deseable es  $< 3,37$  mmol/l ( $< 130$  mg/dl) (Jacobson et al., *J. Clin. Lipidol.* 9(2): 129-169 (2015)). Todos los pacientes menos uno tuvieron niveles de no HDL por encima de 3,37 mmol/l antes de la TRE, y a los 30 meses los niveles de colesterol total y HDL mejoraron en todos los pacientes con no HDL por debajo del umbral de 3,37 mmol/l.

Las complicaciones esqueléticas también son características destacadas de la ASMD crónica. Se observaron mejoras en la DMO en algunos pacientes, particularmente en la columna vertebral, lo que demuestra que la olipudasa alfa tiene un efecto beneficioso sobre la DMO en adultos con ASMD. En otros trastornos por almacenamiento de lípidos con DMO baja, tal como la enfermedad de Gaucher, la TRE en combinación con terapia antirresortiva puede mejorar la osteopenia (Wenstrup et al., *Blood* 104(5):1253-1257 (2004)), aunque la respuesta de la enfermedad ósea a la TRE sola es lenta en pacientes adultos (Wenstrup et al., *J. Bone Miner. Res.* 22(1):119-126 (2007)). Sin embargo, los bifosfonatos pueden no ser apropiados en pacientes con ASMD debido a la inhibición de la actividad de ASM (Arenz *Cell Physiol. Biochem.* 26(1):1-8 (2010)). Ningún paciente del estudio recibía tratamiento con bifosfonatos. Los resultados de este estudio indican una mejoría de la osteopenia con olipudasa alfa sola.

Otras medidas clínicas mostraron mejoras o estabilidad durante la TRE. Los recuentos de plaquetas y los niveles de hemoglobina se mantuvieron estables. Se midieron niveles moderados de CMO en el nivel basal y después de 30 meses de tratamiento con olipudasa alfa, con mejoras observadas en algunos pacientes. Los pacientes tuvieron niveles de dolor y fatiga de leves a moderados en el nivel basal, que se mantuvieron estables a los 30 meses en la mayoría de ellos. El empeoramiento de los resultados notificados por el Paciente 3 no se asoció a AE. El paciente 2 notificó un empeoramiento de la fatiga y el dolor con AE caracterizados por síntomas parecidos a los de la gripe después de un año de TRE. Este paciente tiene lupus eritematoso atípico y no se sabe con certeza si esto contribuyó a la fatiga y el dolor, los AE y las fluctuaciones de las citocinas inflamatorias. La disminución de la olipudasa alfa a 1 mg/kg/semana en este paciente no ha tenido ningún impacto en la incidencia de AE, fatiga o dolor. Con la dosis más baja de olipudasa alfa (12 meses de exposición), el paciente sigue presentando beneficios clínicos, incluida la reducción de los volúmenes del bazo y el hígado, así como la mejora del porcentaje de DLCo predicho, la compensación sostenida de los parámetros infiltrativos de la HRCT y la estabilización de los biomarcadores.

La quitotriosidasa, un biomarcador bien conocido para la monitorización terapéutica durante la TRE en la enfermedad de Gaucher (Guo et al., *J. Inherit. Metab. Dis.* 18(6):717-722 (1995)), y un marcador de enfermedades inflamatorias crónicas, disminuyó de forma constante durante el tratamiento con olipudasa alfa (Boot et al., *Clin Chim Acta* 411(1-2):31-36 (2010)). La lisoesfingomielina, la forma desacilada de la esfingomielina, disminuyó en la DBS, lo que sugiere su utilidad como biomarcador para monitorizar los resultados de la TRE, reflejados por disminuciones constantes a medida que los pacientes se someten a reducción de la esfingomielina, seguidas de estabilidad durante el tratamiento a largo plazo. La lisoesfingomielina está elevada aproximadamente 5 veces en DBS de pacientes con ASMD visceral crónica (Chuang *Mol. Genet. Metab.* 111(2):209-211 (2014)).

Este estudio de extensión abierto de olipudasa alfa demuestra que el tratamiento con olipudasa alfa durante 30 meses fue bien tolerado y clínicamente eficaz.

**REIVINDICACIONES**

1. Una esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método de tratamiento de una afección ósea anormal en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD), en donde:
- 5 (a) se administra al paciente una pluralidad de dosis de rhASM,  
(b) se mide un indicador óseo del paciente, y  
(c) el indicador óseo del paciente se compara con el indicador óseo basal del paciente antes de la pluralidad de dosis de rhASM, en donde el indicador óseo del paciente mejora o no empeora después de la pluralidad de dosis de rhASM.
- 10 2. La rhASM para uso de la reivindicación 1, en donde el indicador óseo es:
- (i) densidad mineral ósea (DMO), en donde la DMO mejora o no empeora tras la pluralidad de dosis de rhASM,  
(ii) carga de médula ósea (CMO), en el que la CMO disminuye o no aumenta tras la pluralidad de dosis de rhASM,  
15 (iii) maduración ósea, en donde la maduración ósea mejora después de la pluralidad de dosis de rhASM, o  
(iv) crecimiento lineal, en donde el crecimiento lineal mejora después de la pluralidad de dosis de rhASM.
3. La rhASM para uso de la reivindicación 1 o 2, en donde la afección ósea anormal es osteopenia u osteoporosis.
- 20 4. Una esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para disminuir la carga de médula ósea (CMO) en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que lo necesite, en donde:
- (a) se determina la CMO del paciente, y  
(b) se administra al paciente una pluralidad de dosis de rhASM, disminuyendo así la CMO del paciente.
- 25 5. Una esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para mejorar la densidad mineral ósea (DMO) en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que lo necesite, en donde:
- (a) se determina la DMO del paciente, y  
30 (b) se administra al paciente una pluralidad de dosis de rhASM, mejorando así la DMO del paciente.
6. Una esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método para disminuir la carga de la médula ósea (CMO) o mejorar la densidad mineral ósea (DMO) en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida que no recibe terapia con bifosfonatos, en donde se administra al paciente una pluralidad de dosis de rhASM, disminuyendo así la CMO o mejorando la DMO del paciente.
- 35 7. Una esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método de mejora de la maduración ósea en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD) que necesita mejorar la maduración ósea, en donde se administra al paciente una pluralidad de dosis de rhASM, mejorando así la maduración ósea del paciente.
- 40 8. Una esfingomielinasa ácida humana recombinante (rhASM) para su uso en un método de tratamiento de la osteopenia o la osteoporosis en un paciente con deficiencia de esfingomielinasa ácida (ASMD) que lo necesite, en donde una pluralidad de dosis de la rhASM se administra al paciente, tratando así la osteopenia u osteoporosis en el paciente.
- 45 9. La rhASM para uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pluralidad de dosis se administra al paciente durante un periodo de seis a treinta meses.
10. La rhASM para uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el paciente tiene la enfermedad de Niemann-Pick tipo A, la enfermedad de Niemann-Pick tipo B, o la enfermedad de Niemann-Pick tipo A/B; y/o es un paciente adulto o pediátrico.
- 50 11. La rhASM para uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde
- (i) las dos o más primeras dosis son dosis escalonadas y se administran en una cantidad sucesivamente creciente,  
(ii) las dosis posteriores a las dosis escalonadas son dosis de mantenimiento y se administran en la misma cantidad que o menos que la última dosis escalonada,  
(iii) la primera dosis es de la cantidad de 0,1 mg/kg y el paciente es un paciente pediátrico,  
(iv) la primera dosis es de la cantidad de 0,1 mg/kg y el paciente es un paciente adulto,  
60 (v) la dosis de mantenimiento más alta es de la cantidad de 0,3 mg/kg a 3 mg/kg,  
(vi) la dosis de mantenimiento más alta es de la cantidad de 1 mg/kg,  
(vii) la dosis de mantenimiento más alta es de la cantidad de 2 mg/kg,  
(viii) la dosis de mantenimiento más alta es de la cantidad de 3 mg/kg,  
(ix) la dosis de mantenimiento más alta es la dosis más alta tolerada por el paciente, y/o  
65 (x) las dosis escalonadas se administran en el orden de 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,6 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg y 3,0 mg/kg.

12. La rhASM para uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pluralidad de dosis se administra en un intervalo de cada 2 semanas.
- 5 13. La rhASM para uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pluralidad de dosis se administra mediante inyección intravenosa.
14. La rhASM para el uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la rhASM es olipudasa alfa.

FIG. 1A

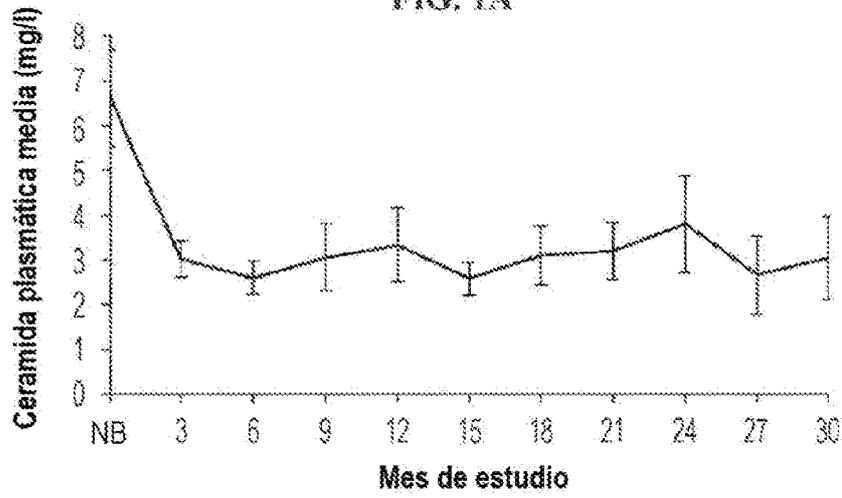


FIG. 1B

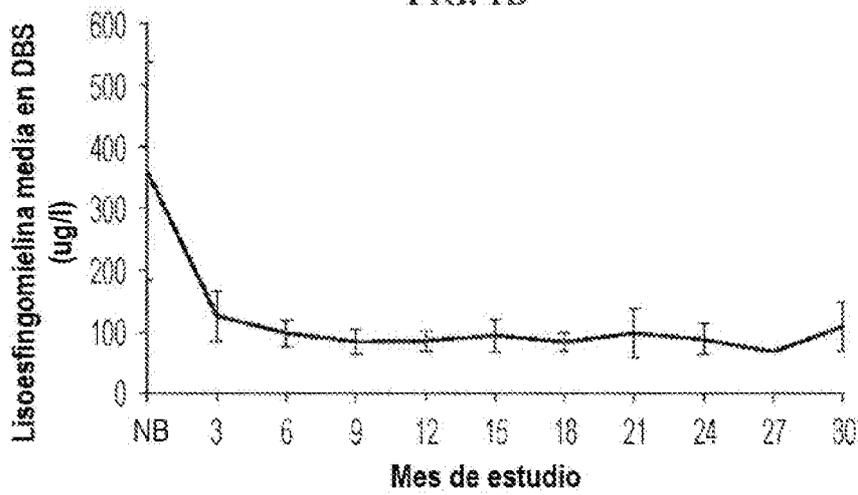


FIG. 1C

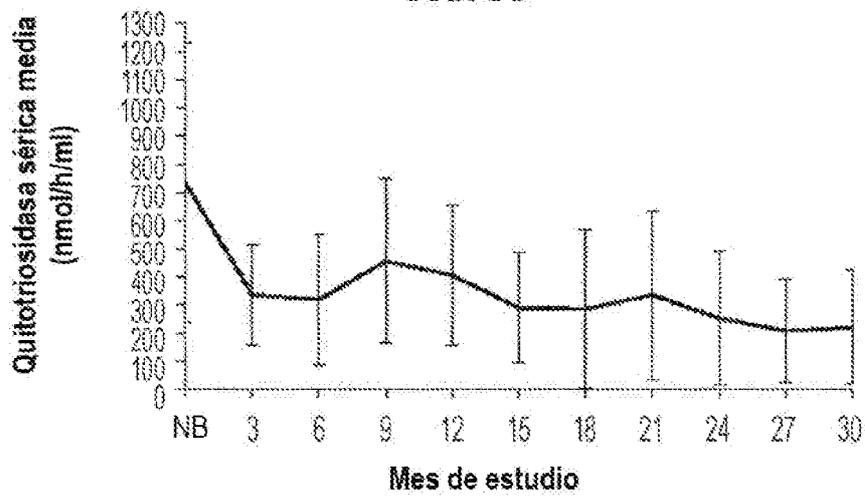


FIG. 2A

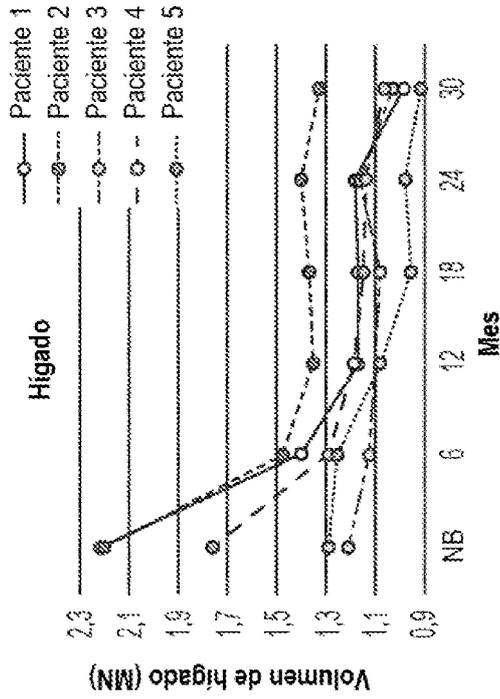
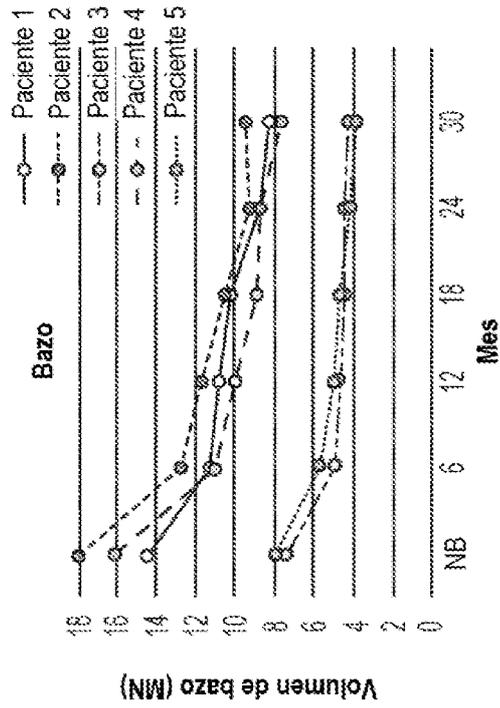


FIG. 2B

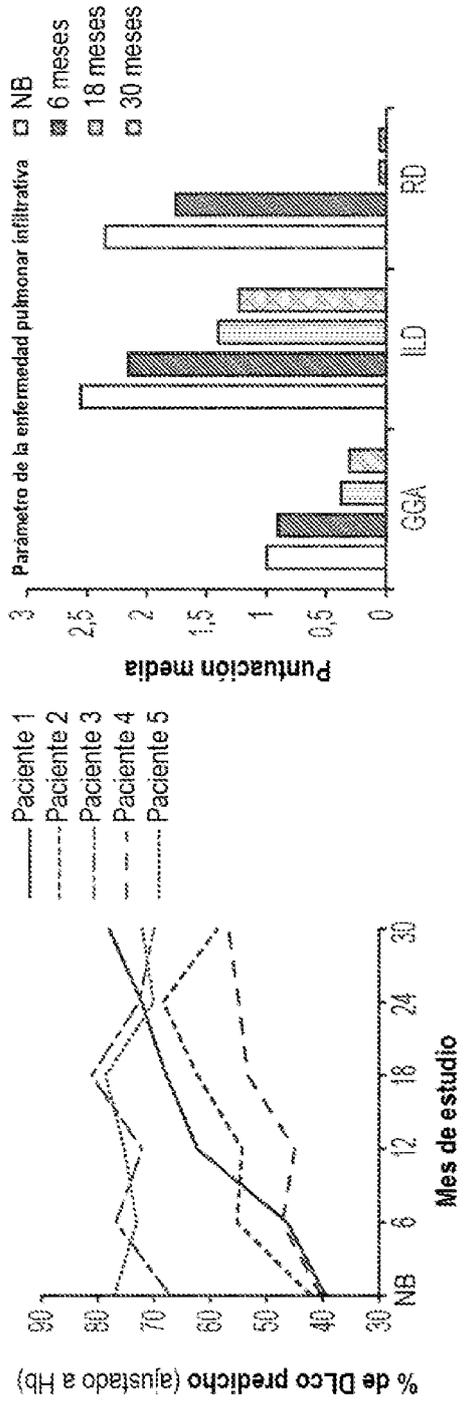


FIG. 3B

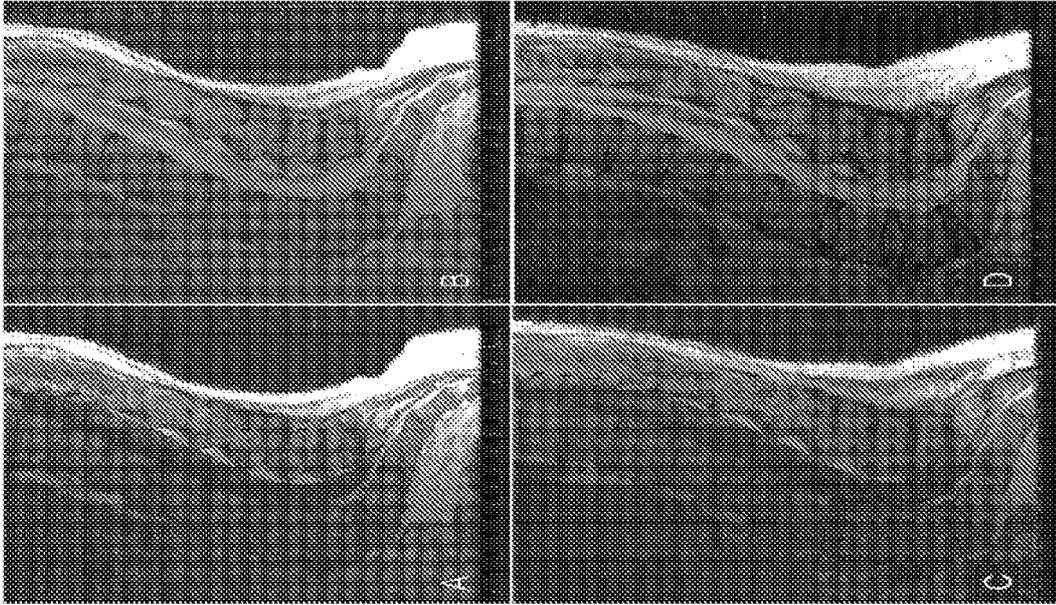
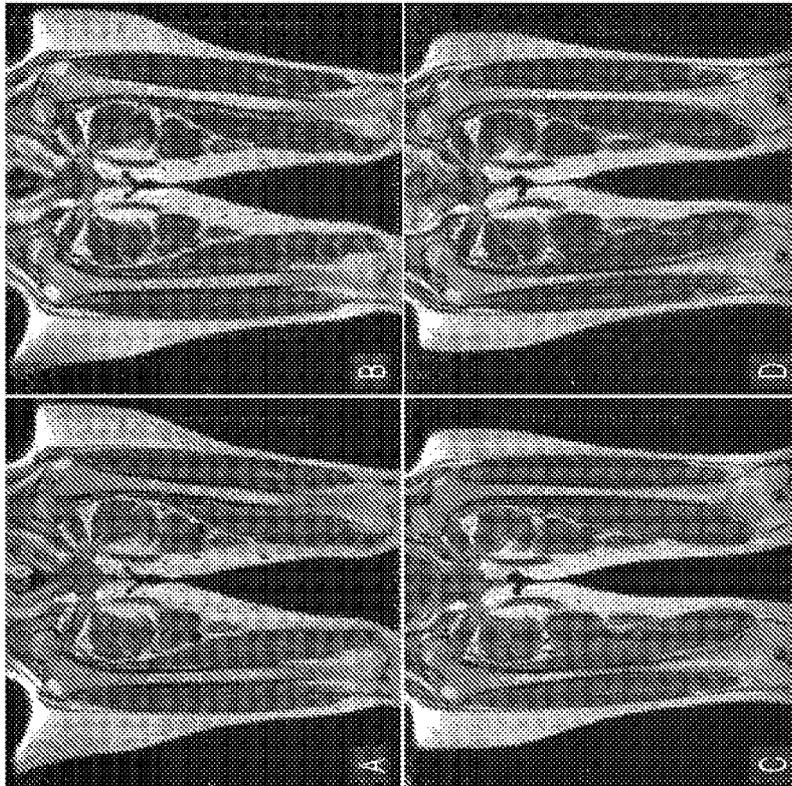


FIG. 3A



FIGS. 4A-D

