Industria y Com
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-036036- -00000-0000
Fecha: 2012-03-01 09:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** COMPOSICIONES Y METODOS PARA TRATAR LA ENFERMEDAD DE GAUCHER

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES

DOMICILIO MASSACHUSETTS ESTADOS UNIDOS

74. **APODERADO** ANDREA TOBOS MATEUS

22. **BOGOTÁ, D. C.,** 1 MARZO 2012

(FORMA P-10)

115198-Imprenta Nacional de Colombia-2011

PETIT

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-036036- -00000-0000
Fecha: 2012-03-01 09:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

dicación

FORMULARIO ÙNICO DE SOLICITUD DE PATENTES
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

(1) SOLICITUD DE:

[X] Patente de Invención [ ] Patente de Modelo de Utilidad

[X] Capítulo I [ ] Capítulo II

(2) SOLICITANTE

Nombre: SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES
Dirección: 700 Main Street Cambridge,MA02139 Estados Unidos de América
Nacionalidad o Domicilio: Massachusetts, Estados Unidos de América
Lugar de Constitución: Estados Unidos de América
Teléfono: Fax:
E- mail:

IDENTIFICACION
[ ] C.C. [ ] NIT
[ ] C.E. [ ] Otro
Cúal
Número

(3) REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: Andrea Tobos Mateus
Dirección: Carrera 7C No. 138-19 Of.901 Bogotá, D.C. Colombia
Teléfono: 8123335 Fax: 8123335
E- mail: andrea.tobos@tobos.com.co

IDENTIFICACIÓN
[X] C.C. [ ] NIT
[ ] C.E. [ ] Otro
Cúal
Número 52.223.325 TP 148648

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el numero de radicación (del poder).

(4) INVENTOR (ES) (72)

Nombre: DANIEL, Peter, F. y HEARTLEIN, Michael, W.
Dirección: 700 Main Street Cambridge, MA 02139 Estados Unidos de América
Nacionalidad o Domicilio: Estadounidenses

(5) PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/043586 Fecha 28 julio 2010
Publicación internacional No. WO/2011/017177 Fecha 10 febrero 2011

(6) Título (54) COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA TRATAR LA ENFERMEDAD DE GAUCHER

(7) Clasificación internacional (51)

(8) Prioridad

[X] SI [ ] NO

(33)País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
US	28 julio 2009	61/229,195
US	10 febrero 2010	61/303,044
US	25 marzo 2010	61/317,513
US	11 mayo 2010	61/333,372
US	28 junio 2010	61/359,338

(9) Comprobante de pago No. 11[illegible]00703 y 12- **Fecha** 13 oct 2011 y 1 mar 2012

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

10 Anexos

- [X] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- [ ] Documento que acredita la existencia y representación legal de la persona jurídica peticionaria, en cuanto no estén inscritas en alguna Cámara de Comercio Colombiana.
- [ ] Poderes, si fuere el caso.
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [X] Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- [ ] Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- [ ] Traducción de examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- [ ] Arte final 12x12.
- [ ] De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- [ ] De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- [X] Otros Tarjeta de archivo temático y tarjeta de extracto para publicación

11 FIGURA CARACTERISTICA:

12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE Andrea Tobos Mateus

FIRMA _____

C.C. 52.223.325 **TP** 148648

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 100703

Bogotá D.C., Octubre 13 de 2011 - 15:33:58

RECIBIDO DE : PRODUCTORES DE ENVASES FARMACEUTICOS S.A. PROENFAR S.A. NI 860.513.290

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2516078	14/09/2011	1.142.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	7 TRAMITES DE SOL. DE DISENOS INDUSTRIALES	571.000.00	571.000.00
				$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-*-
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-036036- -00000-0000
Fecha: 2012-03-01 09:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0021511

Bogotá D.C., Marzo 01 de 2012 - 09:18:24

RECIBIDO DE : TOBOS ABOGADOS SAS NI 900.367.556

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	191636476	01/03/2012	19.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	998 VALOR COMPLEMENTO TARIFA A#O ANTRIOR	19.000.00	19.000.00
				$19.000.00

SON: **DIECINUEVE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-036036- -00000-0000

Fecha: 2012-03-01 09:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA TRATAR LA ENFERMEDAD DE GAUCHER

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica prioridad del núm. de serie de Estados Unidos 61/229,195, presentada el 28 de julio de 2009, núm. de serie de Estados Unidos 61/303,044, presentada el 10 de febrero de 2010, núm. de serie de Estados Unidos 61/317,513, presentada el 25 de marzo de 2010, núm. de serie de Estados Unidos 61/333,372, presentada el 11 de mayo de 2010, y núm. de serie de Estados Unidos 61/359,338, presentada el 28 de junio de 2010. El contenido de las solicitudes antes mencionadas se incorpora por este medio como referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES

La enfermedad de Gaucher es un trastorno autosómico recesivo de almacenamiento lisosomal caracterizado por una deficiencia en la enzima lisosomal, glucocerebrosidasa (GCB). La GCB hidroliza el glicolípido glucocerebrósido que se forma después de la degradación de glicoesfingolípidos en las membranas de los glóbulos blancos y glóbulos rojos. La deficiencia de esta enzima causa que los glucocerebrósidos se acumulen en grandes cantidades en los lisosomas de las células fagocíticas situadas en el hígado, bazo y médula ósea de pacientes de Gaucher. La acumulación de estas moléculas provoca una variedad de manifestaciones clínicas, que incluye esplenomegalia, hepatomegalia, trastorno esquelético, trombocitopenia y anemia. (Beutler y otros Gaucher disease; In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (McGraw-Hill, Inc, Nueva York, 1995) pp.2625-2639)

Los tratamientos para pacientes que sufren de esta enfermedad incluyen la administración de analgésicos para el alivio del dolor en los huesos, transfusiones de sangre y plaquetas y, en algunos casos, esplenectomía. A veces es necesario el reemplazo de la articulación para los pacientes que sufren erosión ósea.

La terapia de reemplazo enzimático con GCB se ha usado como tratamiento para la enfermedad de Gaucher. El tratamiento actual de los pacientes con enfermedad de Gaucher incluye la administración de una GCB con carbohidratos remodelados, derivada de placenta humana o de células de ovario de hámster chino (CHO) transfectadas con un constructo de expresión de GCB y

que se conoce como alglucerasa o imiglucerasa, respectivamente.

SUMARIO

La descripción se basa, en parte, en el descubrimiento de que la velaglucerasa provoca menos respuesta inmune (por ejemplo, una menor producción de anticuerpos, por ejemplo, menos producción de anticuerpos neutralizantes) que la imiglucerasa tras su administración a un sujeto (por ejemplo, un sujeto con enfermedad de Gaucher). La invención se refiere, *entre otras cosas*, a composiciones y métodos para seleccionar un tratamiento para un sujeto con enfermedad de Gaucher, seleccionar sujetos para el tratamiento con velaglucerasa (por ejemplo, sola o en combinación con otra terapia), métodos para reducir la reacción en el sitio de inyección en sujetos sometidos a tratamiento para la enfermedad de Gaucher, y métodos de tratamiento de la enfermedad de Gaucher. La invención también se refiere, *entre otras cosas*, a métodos para determinar la producción de anticuerpos, por ejemplo, producción de anticuerpos neutralizantes, en un sujeto que se trata para la enfermedad de Gaucher.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un método de tratamiento de un sujeto con la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher tipo I), el método comprende

administrar una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa, o Uplyso) por infusión intravenosa al sujeto durante un período de menos de 2 horas, por ejemplo, 90 minutos, 80 minutos, 70 minutos, 60 minutos, 50 minutos o 45 minutos, para, de ese modo, tratar al sujeto.

En algunas modalidades, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa, Uplyso) se administra más de una vez y cada dosis adicional de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa, o Uplyso) se administra por administración intravenosa durante un período de menos de 2 horas, por ejemplo, 90 minutos, 80 minutos, 70 minutos, 60 minutos, 50 minutos o 45 minutos), al sujeto.

En algunas modalidades, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa, Uplyso) se administra a una dosis de 15 a 60 U/kg (por ejemplo, 30 U/kg a 60 U/kg, por ejemplo, 15 U/kg, 30 U/kg, 45U/kg, o 60 U/kg), a una dosis igual o por debajo de 22.5 U/kg, a una dosis entre 22.5 y 37.5 U/kg, a una dosis entre 37.5 y 52.5 U/kg, o

a una dosis igual o por encima de 52.5 U/kg. En algunas modalidades, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa, Uplyso) se administra a una dosis de 2.5 U/kg a 60 U/kg. En algunas modalidades, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa, Uplyso) se administra en semanas alternas. En otras modalidades, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa, Uplyso) se administra todas las semanas. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra tres veces por semana por infusión intravenosa, por ejemplo, a una dosis de 2.5 U/kg.

En algunas modalidades, la infusión de una o más dosis (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción) ocurre durante 60 minutos.

En algunas modalidades, la terapia de remplazo de la enzima glucocerebrosidasa es velaglucerasa y el método incluye:

reconstituir la velaglucerasa liofilizada con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril para inyección (por ejemplo, reconstituir un vial de 200 unidades con 2.2 ml de agua estéril para inyección o un vial de 400 unidades con 4.3 ml de agua estéril para inyección), y de este modo formar una solución, por ejemplo, en donde el vial no se agita después de la adición del agua estéril para inyección; opcionalmente, inspeccionar la solución de los viales (y, por ejemplo, opcionalmente determinar si la solución está descolorida o si está presente material particulado, y, opcionalmente, decidir no usar la solución si la solución está descolorida o si está presente el material particulado);

retirar un volumen de solución para proporcionar una dosis pre-seleccionada (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción tal como 15 U/kg, 30 U/kg, 45 U/kg, o 60 U/kg);

diluir el volumen, por ejemplo, en 100 ml de solución 0.9% de cloruro de sodio, adecuada para la administración intravenosa, y de este modo formar una solución diluida; opcionalmente la solución diluida se balancea suavemente, pero no se agita la solución diluida, y

administrar la solución diluida al sujeto por infusión intravenosa, por ejemplo, en el que la solución diluida se administra durante una hora o a una tasa de 1 U/kg/minuto.

En algunas modalidades, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se administra a una tasa de infusión de 2 U/kg/minuto, 1.5 U/kg/minuto, 1 U/kg/minuto, o 0.5 U/kg/minuto.

En algunas modalidades, la administración comprende la terapia a domicilio (por ejemplo, en la casa del sujeto, lugar de trabajo, o entorno de otro tipo no clínico (por ejemplo, no hospitalario). En algunas modalidades, la administración (por ejemplo, a través de infusión) es por un profesional de la salud (por ejemplo, una enfermera o asistente del médico). Por ejemplo, si el sujeto no ha experimentado un evento adverso (EA) (por ejemplo, un EA grave relacionado con el fármaco o un EA relacionado con la infusión, por ejemplo, un evento descrito en la presente), por ejemplo, después de uno, dos, o tres administraciones (por ejemplo, a través de infusión) de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, el sujeto es elegible para recibir terapia a domicilio para las administraciones posteriores.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para identificar un sujeto como adecuado para (por ejemplo, ser un candidato para) el tratamiento con la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa). El método incluye la evaluación (por ejemplo, medir, por ejemplo, por un método descrito en la presente, tal como ELISA o ensayo de radioinmunoprecipitación (RIP)), de la presencia de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) para una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, para la terapia que actualmente se administra al sujeto) (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) en una muestra del sujeto, por ejemplo, y comparar con el valor de anticuerpo medido para la terapia con un estándar (por ejemplo, un control negativo). Por ejemplo, si el sujeto tiene valores de anticuerpos medidos que son mayores que el valor medido para el control negativo (por ejemplo, un control negativo en un ELISA), el sujeto se identifica que tiene anticuerpos para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. El sujeto se identifica opcionalmente como adecuado para el tratamiento con un tratamiento alternativo de la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, tratamiento con velaglucerasa), por ejemplo, si el valor medido es mayor que el valor para el estándar, por ejemplo, en más que 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90%.

En algunas modalidades, la muestra es una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la muestra se modificó. Por ejemplo, los valores de anticuerpos medidos se obtienen al poner en contacto la muestra con un reactivo analítico, por ejemplo, un reactivo marcado (por ejemplo, la glucocerebrosidasa marcada), y/o un sustrato o célula, por ejemplo, un sustrato o célula

que se une a un anticuerpo para el reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, los valores de anticuerpos medidos se obtuvieron de una muestra que se enriqueció en anticuerpos, por ejemplo, una porción concentrada de una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la evaluación se obtuvo por un método descrito en la presente descripción.

En algunas modalidades, el método incluye medir el valor de anticuerpo medido, por ejemplo, por un método descrito en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para seleccionar un sujeto con la enfermedad de Gaucher para el tratamiento con una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. Opcionalmente, el método incluye la selección de un sujeto para dicho tratamiento sobre la base de que el sujeto resulte positivo para la producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher. El método incluye la evaluación (por ejemplo, la medición, por ejemplo, por un método descrito en la presente, tal como ELISA o ensayo de radioinmunoprecipitación (RIP)) o la obtención de una evaluación de la presencia de anticuerpos a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, para la terapia que actualmente se administra al sujeto) (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) en una muestra del sujeto, por ejemplo, y comparar el valor de anticuerpo medido para la terapia con un estándar (por ejemplo, un control negativo). Por ejemplo, si el sujeto tiene valores de anticuerpos medidos que son mayores que el valor medido para el control negativo (por ejemplo, control, negativo en un ELISA), el sujeto se identifica que tiene anticuerpos para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. Opcionalmente, los métodos incluyen, seleccionar un tratamiento alternativo de la enfermedad de Gaucher para el sujeto (por ejemplo, tratamiento con velaglucerasa), por ejemplo, si el valor medido es mayor que el valor para el estándar (por ejemplo, control negativo), por ejemplo, en más que 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90%.

En algunas modalidades, la muestra es una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la muestra se modificó. Por ejemplo, los valores de anticuerpos medidos se obtienen al poner en contacto la muestra con un reactivo analítico, por ejemplo, un reactivo marcado (por ejemplo, la glucocerebrosidasa marcada), y/o un sustrato o célula, por ejemplo, un sustrato o célula que se une a un anticuerpo para el reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, los valores de anticuerpos medidos se obtuvieron de una muestra que se enriqueció

en anticuerpos, por ejemplo, una porción concentrada de una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la evaluación se obtuvo por un método descrito en la presente descripción.

En algunas modalidades, el método incluye medir el valor de anticuerpos, por ejemplo, por un método descrito en la presente descripción.

En algunas modalidades, el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgE al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgM al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgG y/o IgA al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso).

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para el tratamiento de un sujeto con enfermedad de Gaucher. El método incluye la selección de un sujeto sobre la base de que el sujeto resultó positivo para la producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher, por ejemplo, por un método descrito en la presente, o sobre la base de que el sujeto está en riesgo de desarrollar anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) a un tratamiento para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) y la administración al sujeto de velaglucerasa.

En algunas modalidades, el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgE al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgM al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgG y/o IgA al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una dosis de 15 a 60 U/kg (por ejemplo, 30 U/kg a 60 U/kg, por ejemplo, 15 U/kg, 30 U/kg, 45U/kg, o 60 U/kg), a una dosis igual o por debajo de 22.5 U/kg, a una dosis entre 22.5 y 37.5 U/kg, a una dosis entre 37.5 y 52.5 U/kg, o a una dosis igual o por encima de 52.5 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una dosis de 2.5 U/kg a 60 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra en semanas alternas por infusión intravenosa. En otras modalidades, la velaglucerasa se administra todas las semanas por infusión intravenosa. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra tres veces por semana por infusión intravenosa, por ejemplo, a una dosis de 2.5 U/kg.

En algunas modalidades, la infusión de la dosis (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción) ocurre durante menos de 2 horas, por ejemplo, 90 minutos, 80 minutos, 70 minutos, 60 minutos, 50 minutos o 45 minutos. En modalidades preferidas, la infusión de la dosis ocurre durante 60 minutos.

En algunas modalidades, el método incluye:

reconstituir la velaglucerasa liofilizada con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril para inyección (por ejemplo, reconstituir un vial de 200 unidades con 2.2 ml de agua estéril para inyección o un vial de 400 unidades con 4.3 ml de agua estéril para inyección), y de este modo formar una solución, por ejemplo, en donde el vial no se agita después de la adición del agua estéril para inyección; opcionalmente, inspeccionar la solución de los viales (y, por ejemplo, opcionalmente determinar si la solución está descolorida o si está presente material particulado, y opcionalmente, decidir no usar la solución si la solución está descolorida o si está presente el material particulado);

retirar un volumen de solución para proporcionar una dosis pre-seleccionada (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción, por ejemplo, 15 U/kg, 30 U/kg, 45U/kg, o 60 U/kg);

diluir el volumen, por ejemplo, en 100 ml de solución 0.9% de cloruro de sodio, adecuada para la administración intravenosa, y de este modo formar una solución diluida; opcionalmente la solución diluida se balancea suavemente, pero no se agita la solución diluida, y

administrar la solución diluida al sujeto por infusión intravenosa.

En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una tasa de 2 U/kg/minuto, 1.5 U/kg/minuto, 1 U/kg/minuto, o 0.5 U/kg/minuto.

En algunas modalidades, la administración comprende la terapia a domicilio (por ejemplo, en la casa del sujeto, lugar de trabajo, o entorno de otro tipo no clínico (por ejemplo, no

hospitalario). En algunas modalidades, la administración (por ejemplo, a través de infusión) es por un profesional de la salud (por ejemplo, una enfermera o asistente del médico). Por ejemplo, si el sujeto no ha experimentado un evento adverso (AE) (por ejemplo, un EA grave relacionado con el fármaco o un EA relacionado con la infusión, por ejemplo, un evento descrito en la presente), por ejemplo, después de uno, dos, o tres administraciones (por ejemplo, a través de infusión) de velaglucerasa, el sujeto es elegible para recibir terapia a domicilio para las administraciones posteriores.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para identificar un sujeto como adecuado para (por ejemplo, ser un candidato para) el tratamiento con la reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa). El método incluye evaluar (por ejemplo, medición) al sujeto para la presencia de reacción en el sitio de infusión (es decir, evento adverso relacionado con la infusión) (por ejemplo, durante o dentro de 12 horas de la infusión de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa) (por ejemplo, a la terapia que actualmente se le administra al sujeto, por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso), por ejemplo, y comparar con un estándar el nivel de reacción medido en el sitio, (por ejemplo, un control negativo). Por ejemplo, si el sujeto tiene un valor medido de reacción en el sitio al tratamiento en curso que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher, que es mayor que el valor medido para el control negativo (por ejemplo, la reacción en el sitio observada después de la infusión de placebo al sujeto), el sujeto se identifica como adecuado para el tratamiento con un tratamiento alternativo para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, el tratamiento con velaglucerasa), por ejemplo, si el valor medido de reacción en el sitio para el tratamiento que el sujeto lleva para la enfermedad de Gaucher es mayor que el valor para el estándar, por ejemplo, en más de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% , 80%, 85%, o 90%.

En algunas modalidades, el método incluye la determinación del valor del sitio de infusión, por ejemplo, por un método descrito en la presente.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para la selección de un sujeto con enfermedad de Gaucher para el tratamiento con la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. Opcionalmente, el método incluye seleccionar un sujeto para dicho tratamiento sobre la base de que el sujeto está en necesidad de reacción reducida en el sitio de infusión (por

ejemplo, reducido en comparación con la reacción asociada con o causada por el tratamiento que el sujeto lleva actualmente para la enfermedad de Gaucher, por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso). El método incluye evaluar (por ejemplo, medición) u obtener una evaluación del sujeto para la presencia de reacción en el sitio de infusión (es decir, evento adverso relacionado con la infusión) (por ejemplo, durante o dentro de 12 horas de la infusión de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa) (por ejemplo, para la terapia que actualmente se administra al sujeto, por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso), por ejemplo, y comparar el nivel medido de reacción en el sitio con un estándar (por ejemplo, un control negativo). Por ejemplo, si el sujeto tiene un valor medido de reacción en el sitio para el tratamiento que el sujeto lleva actualmente para la enfermedad de Gaucher que es mayor que (por ejemplo, mayor en más de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90%) del valor medido para el control negativo (por ejemplo, la reacción en el sitio que se observa después de la infusión de placebo en el sujeto), el sujeto se selecciona para un tratamiento alternativo de la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, tratamiento con velaglucerasa), por ejemplo, si el valor medido en el sitio de reacción al tratamiento que el sujeto lleva actualmente para la enfermedad de Gaucher es mayor que el valor para el estándar (por ejemplo, control, negativo), por ejemplo, en más de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90%.

En algunas modalidades, el método incluye medir el valor de anticuerpos, por ejemplo, por un método descrito en la presente.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para tratar un sujeto con enfermedad de Gaucher. El método incluye seleccionar un sujeto para dicho tratamiento sobre la base de que el sujeto necesita una reacción reducida en el sitio de infusión (por ejemplo, reducida en comparación con la reacción asociada con o causada por el tratamiento que el sujeto lleva actualmente para la enfermedad de Gaucher, por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso), por ejemplo, por un método descrito en la presente, y administrar velaglucerasa al sujeto.

En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una dosis de 15 a 60 U/kg (por ejemplo, 30 U/kg a 60 U/kg, por ejemplo, 15 U/kg, 30 U/kg, 45U/kg, o 60 U/kg), a una dosis igual o por debajo de 22.5 U/kg, a una dosis entre 22.5 y 37.5 U/kg, a una dosis entre 37.5 y 52.5 U/kg, o a una dosis igual o por encima de 52.5 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una dosis de 2.5 U/kg a 60 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa se

administra en semanas alternas por infusión intravenosa. En otras modalidades, la velaglucerasa se administra todas las semanas por infusión intravenosa. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra tres veces por semana por infusión intravenosa, por ejemplo, a una dosis de 2.5 U/kg.

En algunas modalidades, la infusión de la dosis (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción) ocurre durante menos de 2 horas, por ejemplo, 90 minutos, 80 minutos, 70 minutos, 60 minutos, 50 minutos o 45 minutos.

En algunas modalidades, el método incluye:

reconstituir la velaglucerasa liofilizada con un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua estéril para inyección (por ejemplo, reconstituir un vial de 200 unidades con 2.2 ml de agua estéril para inyección o un vial de 400 unidades con 4.3 ml de agua estéril para inyección), y de este modo formar una solución, por ejemplo, en donde el vial no se agita después de la adición del agua estéril para inyección; opcionalmente, inspeccionar la solución de los viales (y, por ejemplo, opcionalmente determinar si la solución está descolorida o si está presente material particulado, y, opcionalmente, decidir no usar la solución si la solución está descolorida o si está presente el material particulado);

retirar un volumen de solución para proporcionar una dosis pre-seleccionada (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción tal como 15 U/kg, 30 U/kg, 45 U/kg, o 60 U/kg);

diluir el volumen, por ejemplo, en 100 ml de solución 0.9% de cloruro de sodio, adecuada para la administración intravenosa, y de este modo formar una solución diluida; opcionalmente la solución diluida se balancea suavemente, pero no se agita la solución diluida, y

administrar la solución diluida al sujeto por infusión intravenosa.

En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una tasa de 2.0 U/kg/minuto, 1.5 U/kg/minuto, 1.0 U/kg/minuto, o 0.5 U/kg/minuto.

En algunas modalidades, la administración comprende la terapia a domicilio (por ejemplo, en la casa del sujeto, lugar de trabajo, o entorno de otro tipo no clínico (por ejemplo, no hospitalario). En algunas modalidades, la administración (por ejemplo, a través de infusión) es por un profesional de la salud (por ejemplo, una enfermera o asistente del médico). Por ejemplo, si el sujeto no ha experimentado un evento adverso (AE) (por ejemplo, un EA grave relacionado con el fármaco o un EA relacionado con la infusión, por ejemplo, un evento descrito en la presente), por ejemplo, después de uno, dos, o tres administraciones (por ejemplo, a través de infusión) de

velaglucerasa, el sujeto es elegible para recibir terapia a domicilio para las administraciones posteriores.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un método para seleccinar un sujeto con la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher de tipo I) para el tratamiento con velaglucerasa, el método comprende

identificar un sujeto con la enfermedad de Gaucher, que ha recibido reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) y tiene un conteo de plaquetas inferior a un estándar, y

seleccionar el sujeto para el tratamiento con velaglucerasa sobre la base de que el sujeto tiene un conteo de plaquetas inferior al estándar.

En algunas modalidades, el método incluye evaluar (por ejemplo, medir el conteo de plaquetas u obtener una evaluación del conteo de plaquetas de una muestra del sujeto, y comparar el valor medido del conteo de plaquetas con el estándar (por ejemplo, control, negativo).

En algunas modalidades, la muestra es una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la muestra se modificó. En algunas modalidades, los valores de anticuerpos medidos se obtuvieron de una muestra que se enriqueció en plaquetas, por ejemplo, una porción concentrada de una muestra de sangre. En algunas modalidades, la evaluación se obtuvo por un método descrito en la presente descripción.

En algunas modalidades, el método incluye medir el conteo de plaquetas, por ejemplo, por un método descrito en la presente.

En algunas modalidades, los métodos incluyen, además, administrar velaglucerasa al sujeto, por ejemplo, a una dosis y/o programa de dosificación que se describe en la presente.

En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra por infusión intravenosa durante el curso de menos de 2 horas, por ejemplo, 90 minutos, 80 minutos, 70 minutos, 60 minutos, 50 minutos o 45 minutos. En algunas modalidades, la infusión ocurre a una tasa de 2 U/kg/minuto, 1.5 U/kg/minuto, 1 U/kg por minuto o 0.5 U/kg/minuto.

En algunas modalidades, el estándar es un conteo de plaquetas inferior o igual a 80×10^3 plaquetas/mm^3. En algunas modalidades, el estándar se basa en el aumento del porcentaje del conteo promedio de plaquetas después de 6, 9, ó 12 meses de tratamiento con la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. Por ejemplo, un sujeto en el cual el conteo

promedio de plaquetas aumentó menos que 80%, 75%, 70%, 65%, 60% o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento en comparación con su conteo de plaquetas promedio de la línea de base antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, el tratamiento de imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas durante 9 meses) se identifica para el tratamiento con velaglucerasa. Como otro ejemplo, un sujeto en el cual el conteo promedio de plaquetas aumentó en menos de 40%, 35%, 30% o 25% después de 6 meses de tratamiento en comparación con su conteo de plaquetas promedio de línea de base antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, el tratamiento de imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas durante 6 meses) se identifica para el tratamiento con velaglucerasa.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un método para tratar un sujeto con la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher tipo I), el método comprende

seleccionar un sujeto con la enfermedad de Gaucher, que ha recibido una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) y tiene un conteo de plaquetas inferior a un estándar, por ejemplo, un sujeto identificado por un método descrito en la presente, y

administrar velaglucerasa al sujeto.

En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una dosis de 15 a 60 U/kg (por ejemplo, 30 U/kg a 60 U/kg, por ejemplo, 15 U/kg, 30 U/kg, 45U/kg, o 60 U/kg), a una dosis igual o por debajo de 22.5 U/kg, a una dosis entre 22.5 y 37.5 U/kg, a una dosis entre 37.5 y 52.5 U/kg, o a una dosis igual o por encima de 52.5 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una dosis de 2.5 U/kg a 60 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra en semanas alternas por infusión intravenosa. En otras modalidades, la velaglucerasa se administra todas las semanas por infusión intravenosa. En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra tres veces por semana por infusión intravenosa, por ejemplo, a una dosis de 2.5 U/kg.

En algunas modalidades, la infusión de la dosis (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción) ocurre durante menos de 2 horas, por ejemplo, 90 minutos, 80 minutos, 70 minutos, 60 minutos, 50 minutos o 45 minutos.

En algunas modalidades, el método incluye:

reconstituir la velaglucerasa liofilizada con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril para inyección (por ejemplo, reconstituir un vial de 200 unidades con 2.2 ml de agua estéril para inyección o un vial de 400 unidades con 4.3 ml de agua estéril para inyección), y de este modo formar una solución, por ejemplo, en donde el vial no se agita después de la adición del agua estéril para inyección; opcionalmente, inspeccionar la solución de los viales (y, por ejemplo, opcionalmente determinar si la solución está descolorida o si está presente material particulado, y, opcionalmente, decidir no usar la solución si la solución está descolorida o si está presente el material particulado);

retirar un volumen de solución para proporcionar una dosis pre-seleccionada (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción tal como 15 U/kg, 30 U/kg, 45 U/kg, o 60 U/kg);

diluir el volumen, por ejemplo, en 100 ml de solución 0.9% de cloruro de sodio, adecuada para la administración intravenosa, y de este modo formar una solución diluida; opcionalmente la solución diluida se balancea suavemente, pero no se agita la solución diluida, y

administrar la solución diluida al sujeto por infusión intravenosa.

En algunas modalidades, la velaglucerasa se administra a una tasa de 2 U/kg/minuto, 1.5 U/kg/minuto, 1 U/kg/minuto o 0.5 U/kg/minuto.

En algunas modalidades, la administración comprende la terapia a domicilio (por ejemplo, en la casa del sujeto, lugar de trabajo, o entorno de otro tipo no clínico (por ejemplo, no hospitalario). En algunas modalidades, la administración (por ejemplo, a través de infusión) es por un profesional de la salud (por ejemplo, una enfermera o asistente del médico). Por ejemplo, si el sujeto no ha experimentado un evento adverso (AE) (por ejemplo, un EA grave relacionado con el fármaco o un EA relacionado con la infusión, por ejemplo, un evento descrito en la presente), por ejemplo, después de uno, dos, o tres administraciones (por ejemplo, a través de infusión) de velaglucerasa, el sujeto es elegible para recibir terapia a domicilio para las administraciones posteriores.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para evaluar un sujeto, por ejemplo, un sujeto al que se le administra actualmente una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso). El método incluye evaluar (por ejemplo, medir) u obtener una evaluación de uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7) de los siguientes parámetros del sujeto:

concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado (por ejemplo, como un porcentaje del peso corporal total), volumen del bazo (por ejemplo, como un porcentaje del peso corporal total), reacción en el sitio de infusión, un parámetro esquelético, o presencia de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, valor medio de uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7) de estos parámetros).

El parámetro esquelético puede ser, por ejemplo, la densidad mineral ósea (DMO) (por ejemplo, medida por un cambio (por ejemplo, mejoría) en la puntuación Z). La DMO se puede evaluar, por ejemplo, por absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA). Otros parámetros esqueléticos que se pueden evaluar incluyen, por ejemplo, puntuación T (por ejemplo, para determinar la clasificación de la OMS de un hueso normal, osteopenia y osteoporosis), el crecimiento de un sujeto (por ejemplo, un sujeto pediátrico), la edad del esqueleto de un sujeto (por ejemplo, un sujeto pediátrico), y la carga de la médula ósea (BMB) (por ejemplo, en un sujeto adulto).

La evaluación puede realizarse, por ejemplo, aproximadamente todas las semanas, aproximadamente cada dos semanas, aproximadamente cada tres semanas, aproximadamente cada cuatro semanas, aproximadamente cada dos meses, aproximadamente cada tres meses, aproximadamente cada cuatro meses, aproximadamente cada cinco meses, aproximadamente cada seis meses, aproximadamente cada siete meses, aproximadamente cada ocho meses, aproximadamente cada nueve meses, aproximadamente cada diez meses, aproximadamente cada once meses, o aproximadamente cada doce meses durante el curso del tratamiento. La evaluación también se puede realizar antes de comenzar el tratamiento (por ejemplo, para establecer un valor de línea de base). La evaluación puede incluir comparar el valor del parámetro del sujeto con un estándar (por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, un control negativo), y opcionalmente determinar si existe una diferencia entre el valor del parámetro del sujeto y el valor del estándar. El estándar puede ser, por ejemplo, un valor del parámetro medido en un sujeto con la enfermedad de Gaucher que se trata con una terapia diferente para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, un tratamiento descrito en la presente descripción), o un valor medio para una cohorte de tales sujetos (por ejemplo, después de la terapia de la misma duración), o el valor de la línea de base para el sujeto (o un valor medio de la línea de base de una cohorte de sujetos con enfermedad de Gaucher) antes de comenzar la terapia (por ejemplo, antes del comienzo de una terapia de

reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o velaglucerasa)). Por ejemplo, un parámetro esquelético (por ejemplo, la densidad mineral ósea) se puede evaluar por cambios a largo plazo, por ejemplo, después de 1, 2, 3, 4, o más años de terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso).

La evaluación puede incluir la determinación de si una o más de los siguientes están presentes:

la diferencia entre una o más de la concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado, volumen del bazo, o un parámetro esquelético

y la de un estándar (para el parámetro dado) es mayor que 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90%. Alternativamente, o además, la evaluación puede incluir determinar si está presente una reacción en el sitio de infusión (por ejemplo, durante o dentro de las 12 horas después de la infusión) y/o si los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) están presentes.

En algunas modalidades, la evaluación puede ser una o más de, concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas y determinar si están presentes anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) contra una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso). En algunas modalidades, la evaluación de uno o más de estos parámetros se realiza en una muestra del sujeto, por ejemplo, una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la muestra se modificó. Por ejemplo, los valores se obtienen mediante el contacto de la muestra con un reactivo analítico y/o un sustrato o célula, por ejemplo, un sustrato o una célula que se une a un anticuerpo para el reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, los valores se obtienen a partir de una muestra que se enriquece para, por ejemplo, hemoglobina, plaquetas y/o anticuerpos, por ejemplo, una porción concentrada de una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la evaluación se obtuvo por un método descrito en la presente descripción.

En base a la determinación, se puede tomar una decisión de tratamiento para el sujeto. Por ejemplo, si un sujeto que recibe un tratamiento para la enfermedad de Gaucher, tal como una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso, tiene un valor para uno o más de los parámetros que difiere del valor de un estándar (por ejemplo, un

sujeto con la enfermedad de Gaucher, que recibe un tratamiento diferente (velaglucerasa)), se puede tomar una decisión de transferir el sujeto que actualmente recibe un tratamiento de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento de imiglucerasa) a un tratamiento de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa diferente (por ejemplo, tratamiento de velaglucerasa). Por ejemplo, si se detectan anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a imiglucerasa en un sujeto sometido a tratamiento con imiglucerasa, el sujeto se puede transferir a un tratamiento con velaglucerasa. Como otro ejemplo, si una reacción en el sitio de infusión se detecta durante o dentro de las 12 horas de la administración de imiglucerasa a un sujeto sometido a tratamiento con imiglucerasa, el sujeto se puede transferir a un tratamiento con velaglucerasa. Como otro ejemplo, si el conteo promedio de plaquetas en un sujeto sometido a tratamiento con imiglucerasa es menor (por ejemplo, menor que 5%, 10%,%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90%) que el valor de conteo promedio de plaquetas obtenido para una cohorte de sujetos con enfermedad de Gaucher tratados con velaglucerasa por la misma duración a la misma dosis y la misma frecuencia de administración del tratamiento, el sujeto se puede transferir a tratamiento de velaglucerasa.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para seleccionar un tratamiento para la administración a un sujeto con enfermedad de Gaucher, el método comprende

seleccionar un tratamiento sobre la base de que el tratamiento pueda aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento. Opcionalmente, el método puede incluir proporcionar el tratamiento al sujeto, por

ejemplo, en la que proporcionar incluye administrar el tratamiento o transferir el tratamiento a posesión del sujeto. En algunas modalidades, el tratamiento se puede administrar en una dosis y/o programa de dosificación descrito en la presente.

El método puede incluir evaluar (por ejemplo, medir) u obtener una evaluación de uno o más de estos parámetros, por ejemplo, por un método descrito en la presente.

En un aspecto, la descripción proporciona un método para seleccionar un tratamiento para la administración un sujeto que necesite un aumento de la concentración de hemoglobina, un aumento del nivel de plaquetas, una disminución del volumen del hígado, una disminución del volumen del bazo, una disminución de la probabilidad de reacción en el sitio de inyección, un cambio del parámetro esquelético (por ejemplo, un aumento de la densidad mineral ósea), y/o una disminución de la probabilidad de producción de anticuerpos para el tratamiento, el método comprende

seleccionar un tratamiento sobre la base de que el tratamiento pueda aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento. Opcionalmente, el método puede incluir proporcionar el tratamiento al sujeto, por ejemplo, en donde proporcionar incluye administrar el tratamiento o transferir el tratamiento a posesión del sujeto. En algunas modalidades, el tratamiento se puede administrar en una dosis y/o programa de dosificación descrito en la presente.

El método puede incluir evaluar (por ejemplo, medir) u obtener una evaluación de uno o más de estos parámetros, por ejemplo, por un método descrito en la presente.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para evaluar un sujeto, por ejemplo, un sujeto que se selecciona para recibir el tratamiento con una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso). El método incluye evaluar (por ejemplo, medir) uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7) de los siguientes parámetros del sujeto:

concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado (por ejemplo, como un porcentaje del peso corporal total), volumen del bazo (por ejemplo, como un porcentaje del peso corporal total), reacción en el sitio de infusión, un parámetro esquelético, o presencia de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, valor medio de uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7) de estos parámetros).

El parámetro esquelético puede ser, por ejemplo, la densidad mineral ósea (DMO) (por ejemplo, medida por un cambio (por ejemplo, mejoría) en la puntuación Z). La DMO se puede evaluar, por ejemplo, por absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA). Otros parámetros esqueléticos que se pueden evaluar incluyen, por ejemplo, puntuación T (por ejemplo, para determinar la clasificación de la OMS de un hueso normal, osteopenia y osteoporosis), el crecimiento de un sujeto (por ejemplo, un sujeto pediátrico), la edad del esqueleto de un sujeto (por ejemplo, un sujeto pediátrico), y la carga de la médula ósea (BMB) (por ejemplo, en un sujeto adulto).

La evaluación puede incluir comparar el valor del parámetro del sujeto con un estándar (por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, un control negativo), y opcionalmente determinar si existe una diferencia entre el valor del parámetro del sujeto y el valor del estándar. El estándar puede ser, por ejemplo, un valor del parámetro medido en un sujeto con la enfermedad de Gaucher que se trata con una terapia diferente para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, un tratamiento descrito en la presente descripción), o un valor promedio para una cohorte de tales sujetos (por ejemplo, después de la terapia de la misma duración), o el valor de la línea de base para el sujeto (o un valor promedio de la línea de base de una cohorte de sujetos con enfermedad de Gaucher) antes de comenzar la terapia.

La evaluación puede incluir determinar si:

la diferencia entre una o más de la concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado, volumen del bazo, o un parámetro esquelético (por ejemplo, medido como

densidad mineral ósea (BMD)) y la de un estándar (para los parámetros dados) es mayor que 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90%.

En algunas modalidades, la evaluación puede ser una o más de, concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas y determinar si están presentes anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) contra una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso). En algunas modalidades, la evaluación de uno o más de estos parámetros se realiza en una muestra del sujeto, por ejemplo, una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la muestra se modificó. Por ejemplo, los valores se obtienen mediante el contacto de la muestra con un reactivo analítico y/o un sustrato o célula, por ejemplo, un sustrato o una célula que se une a un anticuerpo para el reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, los valores se obtienen a partir de una muestra que se enriquece para, por ejemplo, hemoglobina, plaquetas y/o anticuerpos, por ejemplo, una porción concentrada de una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la evaluación se obtuvo por un método descrito en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método de prescribir una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), el método comprende:

recibir un identificador para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, la estructura química, nombre químico, nombre comercial o el nombre genérico de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa;

recibir la información que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa tiene una o más de las siguientes propiedades: puede aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad de una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumento de la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad de una

cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento;

seleccionar un sujeto que necesite reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, sobre la base de que el sujeto necesita de uno o más de: un aumento de la concentración de hemoglobina, un aumento del conteo de plaquetas, una disminución del volumen del hígado, una disminución del volumen del bazo, una disminución de la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminución de la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento, y

hacer que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se prescriba, dispense o administre a un sujeto.

En algunas modalidades, el sujeto necesita de uno o más de un aumento en la concentración de hemoglobina, un aumento en el conteo de plaquetas y disminución de la probabilidad de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso). En algunas modalidades, una determinación de que un sujeto necesita de uno o más de estos cambios se basa en una evaluación de uno o más de estos parámetros que se realiza en una muestra del sujeto, por ejemplo, una muestra de sangre o suero. En algunas modalidades, la muestra se modificó. Por ejemplo, los valores se obtienen mediante el contacto de la muestra con un reactivo analítico y/o un sustrato o célula, por ejemplo, un sustrato o una célula que se une a un anticuerpo para el reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, los valores se obtienen de una muestra que se enriquece en, por ejemplo, hemoglobina, plaquetas y/o anticuerpos, por ejemplo, una porción concentrada de una muestra de sangre. En algunas modalidades, la evaluación se obtuvo por un método descrito en la presente descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para proporcionar a un receptor información sobre, o directrices para, el uso de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o velaglucerasa), el método comprende:

comunicar al receptor un identificador para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, la estructura química, nombre químico, nombre comercial o nombre genérico de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa;

comunicar al receptor la información de que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa tiene una o más de las siguientes propiedades: puede aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y / o IgA) al tratamiento;

recibir una solicitud del receptor para la compra de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, y

vender, transportar o transferir al receptor la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para proporcionar a un receptor información acerca de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), o las directrices para el uso de una reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa o velaglucerasa), el método comprende:

proporcionar un identificador para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, la estructura química, nombre químico, nombre comercial o nombre genérico de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa;

proporcionar la información de que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa tiene una o más de las siguientes propiedades: puede aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad para que en una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumento de la densidad mineral ósea), y/o disminución de la probabilidad (por ejemplo, en relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente, por ejemplo, la probabilidad de que en una cohorte de sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM IgG y/o IgA) al tratamiento;

perpetuar, por ejemplo, en una base de datos, el identificador y la información, y

transferir al receptor la perpetuación (por ejemplo, el identificador e información perpetuada).

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para proporcionar a un receptor información acerca de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), o las directrices para el uso de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), el método comprende:

proporcionar un identificador para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, la estructura química, nombre químico, nombre comercial o nombre genérico de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa;

proporcionar la información que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa tiene una o más de las siguientes propiedades: puede aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por

ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento;

asociar al identificador con la información, por ejemplo, en una base de datos o por asociación física; y

transferir el identificador asociado y la información al receptor.

En otro aspecto, la descripción proporciona una base de datos, medio, o computadora que contiene o se programa para contener:

un identificador para una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), por ejemplo, la estructura química, nombre químico, nombre comercial o nombre genérico de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa;

información de que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa tiene una o más de las siguientes propiedades: puede aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento; y

una función asociativa que asocia al identificador con la información, por ejemplo, en una base de datos o por asociación física.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para realizar una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso) disponible para un sujeto, el método comprende:

proporcionar al sujeto un identificador para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, la estructura química, nombre químico, nombre comercial o nombre genérico de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa;

proporcionar al sujeto información de que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa tiene una o más de las siguientes propiedades: puede aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento; y

colocar en el comercio, una dosis de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa que pueda ser administrada a, proporcionada a, o comprada por el sujeto.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para provocar que un sujeto requiera una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), el método comprende:

proporcionar al sujeto un identificador para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, la estructura química, nombre químico, nombre comercial o nombre genérico de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa;

proporcionar al sujeto información de que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa tiene una o más de las siguientes propiedades, puede aumentar la concentración de hemoglobina, aumentar el conteo de plaquetas, disminuir el volumen del hígado, disminuir el

volumen del bazo, disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de reacción en el sitio de infusión, cambiar un parámetro esquelético (por ejemplo, aumentar la densidad mineral ósea), y/o disminuir la probabilidad (por ejemplo, con relación a un estándar, por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción, por ejemplo, la probabilidad para una cohorte de los sujetos que reciben un tratamiento diferente (por ejemplo, imiglucerasa o Uplyso) para la enfermedad de Gaucher) de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) al tratamiento; y

colocar en el comercio, una dosis de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa que pueda ser administrada a, proporcionada a, o comprada por el sujeto.

En otro aspecto, la descripción caracteriza un método de selección de una clase de pago para un curso de tratamiento con una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso) para un sujeto con la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher de tipo I). El método incluye proporcionar (por ejemplo, recibir) una evaluación de si el sujeto experimenta una reacción en el sitio de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa, y llevar a cabo al menos uno de (1) si el sujeto experimenta una reacción en el sitio de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa, seleccionar una primera clase de pago, y (2) si el sujeto no experimenta una reacción en el sitio de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o no produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa, seleccionar una segunda clase de pago.

En algunas modalidades, el sujeto se asigna a la primera clase y la asignación autoriza el pago de un curso de tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa).

En algunas modalidades, el sujeto se asigna a la segunda clase y la asignación autoriza el pago de un curso de tratamiento (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, la evaluación es si un sujeto produce o no anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa y la evaluación se obtiene por un método descrito en la presente.

En otro aspecto, la descripción caracteriza un método para seleccionar una clase de pago para un curso de tratamiento con una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso) para un sujeto con la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, enfermedad de Gaucher de tipo I). El método incluye proporcionar (por ejemplo, recibir) un evaluación acerca de si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó en al menos 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses); y realizar al menos uno de 1) si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses), seleccionar una primera clase de pago, y (2) si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con

glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses), seleccionar un segunda clase de pago.

En algunas modalidades, el sujeto se asigna a la primera clase y la asignación autoriza el pago de un curso de tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa).

En algunas modalidades, el sujeto se asigna a la segunda clase y la asignación autoriza el pago de un curso de tratamiento (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, la evaluación se obtuvo por un método descrito en la presente descripción.

En un aspecto, la descripción caracteriza un método para proporcionar información sobre la cual tomar una decisión sobre un sujeto con enfermedad de Gaucher (por ejemplo, de enfermedad de Gaucher tipo I), o tomar tal decisión. El método incluye proporcionar (por ejemplo, al recibir) una evaluación de un sujeto, en donde la evaluación se realizó mediante un método descrito en la presente, por ejemplo, por la administración opcional de una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso) al sujeto, proporcionar una determinación, posterior a la administración, de si el sujeto experimenta o no una reacción en el sitio de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa, proporcionando de este modo una determinación posterior a la administración; proporcionar una comparación con un estándar de la determinación posterior a la administración (por ejemplo, un estándar descrito en la presente), proporcionando, de este modo, información sobre la cual tomar una decisión sobre un objeto, o tomar tal decisión.

En algunas modalidades, el método incluye tomar la decisión.

En algunas modalidades, el método también incluye la comunicación de la información a un tercero (por ejemplo, por computadora, disco compacto, teléfono, fax, correo electrónico o carta).

En algunas modalidades, la decisión incluye seleccionar un sujeto para el pago, hacer o autorizar el pago de un primer curso de acción (por ejemplo, el tratamiento con velaglucerasa) si el sujeto experimenta una reacción en el sitio de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa, y un segundo curso de acción (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso) si el sujeto no experimenta una reacción en el sitio de infusión, a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o no produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a un reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa.

En algunas modalidades, el sujeto experimenta una reacción en el sitio de infusión, a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o anticuerpos IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa y el curso de acción es la autorización de un curso de terapia (por ejemplo, tratamiento con velaglucerasa).

En algunas modalidades, el sujeto experimenta una reacción en el sitio de infusión, a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa y el curso de acción es asignar el sujeto a una primera clase. En algunas modalidades, la asignación a la primera clase permitirá el pago de un tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa) que se proporciona al sujeto. En algunas modalidades, el pago es de una primera parte a una segunda parte. En algunas modalidades, la primera parte es distinta del sujeto. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona de una tercera parte pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO u otra entidad gubernamental. En algunas modalidades, la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una compañía de seguros y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una

entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una entidad gubernamental y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento.

En algunas modalidades, el sujeto no experimenta una reacción en el sitio de infusión, a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o no produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y / o IgA) a un reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa y el curso de acción es la autorización de un curso de terapia (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, el sujeto no experimenta una reacción en el sitio de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o no produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a un reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa y el curso de acción es la asignación del sujeto a una segunda clase. En algunas modalidades, la asignación a la segunda clase permitirá el pago de un tratamiento (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), que se proporciona al sujeto. En algunas modalidades, el pago es por una primera parte a una segunda parte. En algunas modalidades, la primera parte es distinta del sujeto. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona de una tercera parte pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO u otra entidad gubernamental. En algunas modalidades, la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una compañía de seguros y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una entidad gubernamental y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento.

En un aspecto, la descripción caracteriza un método para proporcionar información sobre la cual tomar una decisión sobre un sujeto con enfermedad de Gaucher (por ejemplo, de enfermedad de Gaucher tipo I), o tomar tal decisión. El método incluye proporcionar (por ejemplo, al recibir)

una evaluación de un sujeto, en donde la evaluación se hizo por un método descrito en la presente descripción, por ejemplo, por la administración opcional de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), al sujeto; proporcionar una determinación, posterior a la administración, de si el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses), proporcionando, de este modo, una determinación posterior a la administración; proporcionar una comparación de la determinación posterior a la administración con un estándar (por ejemplo, un estándar descrito en la presente descripción), proporcionando, de este modo, información sobre la cual tomar una decisión acerca de un sujeto, o tomar tal decisión.

En algunas modalidades, el método incluye tomar la decisión.

En algunas modalidades, el método también incluye comunicar la información a un tercero (por ejemplo, por computadora, disco compacto, teléfono, fax, correo electrónico o carta).

En algunas modalidades, la decisión incluye seleccionar un sujeto para el pago, hacer o autorizar el pago de un primer curso de acción (por ejemplo, tratamiento con velaglucerasa) si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6

meses) y un segundo curso de acción (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso) si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses).

En algunas modalidades, el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) y el curso de acción es la autorización de un curso de terapia (por ejemplo, tratamiento con velaglucerasa).

En algunas modalidades, el sujeto se asigna a la primera clase y la asignación autoriza el pago de un curso de tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa).

En algunas modalidades, el sujeto se asigna a la segunda clase y la asignación autoriza el pago de un curso de tratamiento (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6

meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) y el curso de acción es que el sujeto asista a una primera clase. En algunas modalidades, la asignación a la primera clase permitirá el pago de un tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa) que se proporciona al sujeto. En algunas modalidades, el pago es de una primera parte a una segunda parte. En algunas modalidades, la primera parte es distinta del sujeto. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona de una tercera parte pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO u otra entidad gubernamental. En algunas modalidades, la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una compañía de seguros y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una entidad gubernamental y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento.

En algunas modalidades, el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) y el curso de acción es la autorización de un curso de terapia (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso).

En algunas modalidades, el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de

plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) y el curso de acciónes que el sujeto asista a una segunda clase. En algunas modalidades, la asignación a la segunda clase permitirá el pago de un tratamiento (por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso), que se proporciona al sujeto. En algunas modalidades, el pago es de una primera parte a una segunda parte. En algunas modalidades, la primera parte es distinta del sujeto. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona de una tercera parte pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO u otra entidad gubernamental. En algunas modalidades, la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una compañía de seguros y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una entidad gubernamental y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento.

En otro aspecto, la descripción caracteriza un método de selección de una clase de pago para un curso de tratamiento con una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa) para un sujeto con enfermedad de Gaucher (enfermedad de Gaucher tipo I). El método incluye la determinación de que está presente en el sujeto una reacción en el sitio de infusión durante o dentro de las 12 horas después de la infusión de la terapia o que los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a la terapia están presentes en el sujeto, por ejemplo, por un método descrito en la presente, y se

aprueba, se hace, se autoriza, se recibe, se transmite o cualquier otra manera de permitir el pago de un curso de tratamiento seleccionado, por ejemplo, velaglucerasa.

En otro aspecto, la descripción caracteriza un método para seleccionar una clase de pago para un curso de tratamiento con una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa imiglucerasa, o Uplyso) para un sujeto con la enfermedad de Gaucher (enfermedad de Gaucher de tipo I). El método incluye la determinación de que una reacción en el sitio de infusión durante o dentro de las 12 horas después de la infusión de la terapia no está presente en el sujeto o que anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o anticuerpos IgA) a la terapia no están presentes en el sujeto, por ejemplo, por un método descrito en la presente, y se aprueba, se hace, se autoriza, se recibe, se transmite o cualquier otra manera que permita el pago de un curso de tratamiento seleccionado, por ejemplo, imiglucerasa, velaglucerasa o Uplyso.

En un aspecto, la descripción caracteriza un método de hacer un registro de datos. El método incluye introducir el resultado de un método descrito en la presente en un registro, por ejemplo, un registro legible por computadora. En algunas modalidades, el registro está disponible en la red informática mundial (www, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el registro se evalúa por una tercera pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO o entidad gubernamental, o un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento, o de cualquier otra manera que se invoque en un método descrito en la presente.

En otro aspecto, la descripción caracteriza un registro de datos (por ejemplo, registro legible por computadora), en donde el registro incluye los resultados de un método descrito en la presente. En algunas modalidades, el registro está disponible en la www. En algunas modalidades, el registro se evalúa y/o transmite a una una tercera pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO, o entidad gubernamental, o un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento.

En un aspecto, la descripción caracteriza un método para proporcionar datos. El método incluye proporcionar datos descritos en la presente, por ejemplo, generados por un método descrito en la presente, para proporcionar un registro, por ejemplo, un registro descrito en la presente, para determinar si se proporcionará un pago. En algunas modalidades, los datos se proporcionan por computadora, disco compacto, teléfono, fax, correo electrónico o carta. En algunas modalidades, los datos se proporcionan por una primera parte a una segunda parte. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la segunda parte es una tercera parte pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO u otra entidad gubernamental. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento y la segunda parte es una entidad gubernamental. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento y la segunda parte es una compañía de seguros.

En un aspecto, la descripción caracteriza un método de transmistir un registro descrito en la presente. El método incluye una primera parte que transmite el registro a una segunda parte, por ejemplo, por computadora, disco compacto, teléfono, fax, correo electrónico o carta. En algunas modalidades, la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una compañía de seguros o entidad gubernamental y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento. En algunas modalidades, la primera parte es una entidad gubernamental o compañía de seguros y la segunda parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros, o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento.

En un método, la información, por ejemplo, acerca de si un sujeto con enfermedad de Gaucher experimenta o no una reacción en el sitio de infusión, a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa (por ejemplo, en el que la información se obtiene como se describe en la presente) se proporciona (por ejemplo, comunicada, por ejemplo, comunicada por vía electrónica) a una tercera parte, por ejemplo, un hospital, clínica, una entidad gubernamental, parte reembolsante o compañía de seguros (por ejemplo, una compañía de seguros de vida). Por ejemplo, la elección del procedimiento médico, el pago de un procedimiento médico, el pago por una parte reembolsante, o el costo de un servicio o seguro puede estar en función de la información. Por ejemplo, la tercera parte recibe la información, hace una determinación en base al menos en parte de la información y, opcionalmente, comunica la información o hace una elección del procedimiento, pago, nivel de pago, cobertura, etc. en base a la información.

En un método, la informacion, por ejemplo, si el promedio del conteo de plaquetas de un sujeto con la enfermedad de Gaucher aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) (por ejemplo, en donde la información se obtiene como es descrito en la presente descripción) se proporciona (por ejemplo, comunica, por ejemplo, comunicado electrónicamente) a una tercera parte, por ejemplo, un hospital, clínica, una entidad gubernamental, parte reembolsante o compañía de seguros (por ejemplo, una compañía de seguros de vida). Por ejemplo, la elección del procedimiento médico, el pago de un procedimiento médico, el pago por una parte reembolsante, o el costo de un servicio o seguro puede estar en función de la información. Por ejemplo, la tercera parte recibe la información, hace una determinación en base al menos en parte de la información y,

opcionalmente, comunica la información o hace una elección del procedimiento, pago, nivel de pago, cobertura, etc. en base a la información.

En una modalidad, una prima de seguro (por ejemplo, de vida o médico) se evalúa como una función de la información acerca de si un sujeto con la enfermedad de Gaucher experimenta una reacción en el sito de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. Por ejemplo, las primas pueden aumentar (por ejemplo, por un cierto porcentaje) si el sujeto experimenta una reacción en el sitio de infusión a un reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa.

En una modalidad, una prima de seguro (por ejemplo, de vida o médico) se evalúa como una función de la información acerca de si el promedio del conteo de plaquetas de un sujeto con la enfermedad de Gaucher aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) (por ejemplo, en donde la información se obtiene como es descrito en la presente descripción). Por ejemplo, las primas pueden aumentar (por ejemplo, en un cierto porcentaje) si el promedio del conteo de plaquetas en los sujetos aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con

glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses).

La información acerca de si un sujeto con la enfermedad de Gaucher experimenta una reacción en el sito de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se puede usar, por ejemplo, en un proceso de póliza de seguro para seguro de vida. La información se puede incorporar en un perfil sobre un sujeto. Otra información en el perfil se puede incluir, por ejemplo, fecha de nacimiento, sexo, estado civil, datos bancarios, información de crédito, niños, y así sucesivamente. Puede recomendarse una política de seguro como una función de la información sobre si un sujeto con la enfermedad de Gaucher experimenta una reacción en el sito de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. Una evaluación de riesgo o la prima de seguro puede evaluarse, además, como función de si un sujeto con la enfermedad de Gaucher experimenta una reacción en el sito de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa.

La información acerca de si el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) se peude usar, por ejemplo, en un proceso de póliza de seguro para seguro de vida. La información se puede incorporar en un perfil sobre un sujeto. Otra información en el perfil se puede incluir, por ejemplo, fecha de nacimiento, sexo, estado civil,

datos bancarios, información de crédito, niños, y así sucesivamente. Puede recomendarse una política de seguro como una función de la información de si el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses). Una evaluación de riesgo o la prima de seguro puede evaluarse como una función de si el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses).

En una modalidad, la información acerca de si un sujeto con la enfermedad de Gaucher experimenta una reacción en el sito de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se analiza por una función que determina si se autoriza la transferencia de fondos para pagar por un servicio o tratamiento proporcionado a un sujeto (o se toma otra decisión referida en en la presente descripción). Por ejemplo, los resultados (por ejemplo, que el sujeto experimenta una reacción en el sitio de infusión a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o produce anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes) (por ejemplo, anticuerpos IgE, IgM, IgG y/o IgA) a una terapia de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa) puede indicar que un sujeto es

adecuado para el tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa), lo que sugiere que un curso de tratamiento (por ejemplo, con velaglucerasa) es necesario, de este modo se provoca un resultado que indica o causa la autorización para pagar por un servicio o tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa), que se proporciona a un sujeto. Por ejemplo, una entidad, por ejemplo, un hospital, cuidador, entidad gubernamental, o una compañía de seguros u otra entidad que paga o reembolsa los gastos médicos, puede usar el resultado de un método descrito en la presente para determinar si una parte, por ejemplo, una parte que no sea el sujeto paciente, pagará por los servicios (por ejemplo, una terapia en particular) o tratamiento que se proporcione al paciente. Por ejemplo, una primera entidad, por ejemplo, una compañía de seguros, puede usar el resultado de un método descrito en la presente para determinar si se debe proporcionar el pago financiero a, o en nombre de, un paciente, por ejemplo, si se reembolsa a una tercera parte, por ejemplo, un proveedor de bienes o servicios, un hospital, médico, u otro cuidador, para un servicio o tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa), que se proporcione a un paciente. Por ejemplo, una primera entidad, por ejemplo, una compañía de seguros, puede usar el resultado de un método descrito en la presente para determinar si se debe continuar, interrumpir, inscribir a un individuo en un plan o programa de seguro, por ejemplo, un seguro médico o plan o programa de seguro de vida.

En una modalidad, la información acerca de si el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses) se analiza por una función que determina si se autoriza la transferencia de fondos para pagar por un servicio o tratamiento proporcionado a un sujeto (o se toma otra decisión referida en en la presente descripción). Por ejemplo, los resultados (por ejemplo, que el promedio del conteo de plaquetas del sujeto aumentó al menos en 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, o 55% después de 9 ó 12 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la

terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 9 meses) o si el promedio del conteo de plaquetas de sujeto aumentó al menos en 40%, 35%, 30%, o 25% después de 6 meses de tratamiento comparado con su conteo de plaquetas de línea de base promedio antes de iniciar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, tratamiento con imiglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa a una dosis de 60 U/kg, por ejemplo, administrada en semanas alternas por 6 meses)) puede indicar que un sujeto es indicado para tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa), lo que sugiere que un curso de tratamiento (por ejemplo, con velaglucerasa) es necesario, y de este modo se provoca un resultado que indica o causa la autorización para pagar por un servicio o tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa), que se proporciona a un sujeto. Por ejemplo, una entidad, por ejemplo, un hospital, cuidador, entidad gubernamental, o una compañía de seguros u otra entidad que paga o reembolsa los gastos médicos, puede usar el resultado de un método descrito en la presente para determinar si una parte, por ejemplo, una parte que no sea el sujeto paciente, pagará por los servicios (por ejemplo, una terapia en particular) o tratamiento que se proporcione al paciente. Por ejemplo, una primera entidad, por ejemplo, una compañía de seguros, puede usar el resultado de un método descrito en la presente para determinar si se debe proporcionar el pago financiero a, o en nombre de, un paciente, por ejemplo, si se reembolsa a una tercera parte, por ejemplo, un proveedor de bienes o servicios, un hospital, médico, u otro cuidador, para un servicio o tratamiento (por ejemplo, velaglucerasa), que se proporcione a un paciente. Por ejemplo, una primera entidad, por ejemplo, una compañía de seguros, puede usar el resultado de un método descrito en la presente para determinar si se debe continuar, interrumpir, inscribir a un individuo en un plan o programa de seguro, por ejemplo, un seguro médico o plan o programa de seguro de vida.

En un aspecto, la descripción caracteriza un método para proporcionar datos. El método incluye proporcionar datos descritos en la presente, por ejemplo, generados por un método descrito en la presente, para proporcionar un registro, por ejemplo, un registro descrito en la presente, para determinar si se proporcionará un pago. En algunas modalidades, los datos se proporcionan por computadora, disco compacto, teléfono, fax, correo electrónico o carta. En algunas modalidades, los datos se proporcionan por una primera parte a una segunda parte. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, una

organización para el mantenimiento de la salud (HMO), un hospital, una entidad gubernamental, o una entidad la cual venda o suministre el fármaco. En algunas modalidades, la segunda parte es una tercera parte pagadora, una compañía de seguros, empleador, plan de salud patrocinado por el empleador, HMO u otra entidad gubernamental. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, una organización para el mantenimiento de la salud (HMO), un hospital, una compañia de seguros, o una entidad que venda o suministre el fármaco y la segundad parte es una entidad gubernamental. En algunas modalidades, la primera parte se selecciona del sujeto, un proveedor de atención médica, un médico tratante, un HMO, un hospital, una compañía de seguros o una entidad la cual venda o suministre el tratamiento y la segunda parte es una compañia de seguros.

En algunos aspectos, la descripción proporciona el uso de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa o Uplyso), sola o en combinación con otro(s) agente(s) descrito(s) en la presente (por ejemplo, tartrato de isofagomina, Miglustat, o Genz-112638), para usar en el tratamiento.

En algunos aspectos, la descripción proporciona el uso de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa), sola o en combinación con otro(s) agente(s) descritos en la presente descripción (por ejemplo, tartrato de isofagomina, miglustat, o Genz112638), para la preparación de un medicamento, por ejemplo, para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher.

En otro aspecto, la descripción proporciona una composición farmacéutica de velaglucerasa. La composición comprende: velaglucerasa, un lioprotector (por ejemplo, un carbohidrato (por ejemplo, sacarosa)), una sal tampón (por ejemplo, citrato y/o ácido cítrico, por ejemplo, citrato de sodio y ácido cítrico), y un agente estabilizante (por ejemplo, polisorbato, por ejemplo, polisorbato 20).

En algunas modalidades, la composición puede ser liofilizada. En algunas modalidades, el contenido de humedad de la composición liofilizada es 1% a 6%, por ejemplo, 1.3% a 6.2%. En algunas modalidades, el contenido de humedad de la composición liofilizada es 1% a 5%. En algunas modalidades, el contenido de humedad de la composición liofilizada es 3% a 5%. En algunas modalidades, el contenido de humedad es mayor que o igual a 3%. En algunas modalidades, el contenido de humedad es 3%.

En algunas modalidades, se puede evaluar la composición liofilizada. Por ejemplo, la estructura secundaria de la composición liofilizada se puede evaluar, por ejemplo, mediante FT-IR.

En otras modalidades, la composición puede ser una solución reconstituida. Por ejemplo, la composición es una solución reconstituida en un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como agua estéril para inyección (por ejemplo, un vial de 200 unidades con 2.2 ml de agua estéril para inyección o un vial de 400 unidades con 4.3 ml de agua estéril para inyección). En algunas modalidades, la composición puede comprender además, o consistir en, solución de cloruro de sodio adecuada para la administración intravenosa (por ejemplo, 0.9% de solución de cloruro de sodio adecuada para la administración intravenosa).

En algunas modalidades, la solución reconstituida se puede evaluar, por ejemplo, para degradación. Por ejemplo, la solución reconstituida se puede evaluar por SE-HPLC y/o RP-HPLC, por ejemplo, para la presencia de productos de degradación.

En algunas modalidades, la solución reconstituida se puede evaluar para la oxidación. Por ejemplo, la solución reconstituida se puede evaluar por mapeo de péptidos.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un ensayo (por ejemplo, método) para detectar un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa en una muestra (por ejemplo, una muestra del paciente, por ejemplo, sangre o suero). El método incluye:

proporcionar una glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa o Uplyso) inmovilizada sobre una superficie (por ejemplo, un pocillo) (por ejemplo, la superficie puede estar revestida con un agente de acoplamiento tal como estreptavidina y la glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa o Uplyso) se puede unir a un agente (por ejemplo, biotina) el cual se asocia con, por ejemplo, se une a, el agente de acoplamiento, por ejemplo, la glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa o Uplyso) se inmoviliza a la superficie a través de la unión a la biotina de la estreptavidina;

poner en contacto la muestra con la glucocerebrosidasa inmovilizada (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa o Uplyso), bajo condiciones que permiten que un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa en la muestra, si está presente, se una con la glucocerebrosidasa inmovilizada, y de este modo se forma una mezcla;

opcionalmente, realizar una etapa de lavado para eliminar de la mezcla cualquier material en la muestra que no está unido a la glucocerebrosidasa inmovilizada;

añadir glucocerebrosidasa marcada (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa), en donde la glucocerebrosidasa marcada se marca con una marca detectable (por ejemplo, glucocerebrosidasa marcada con rutenio), a la mezcla bajo condiciones que permiten que la glucocerebrosidasa marcada se una al anticuerpo anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo , que está unido a la glucocerebrosidasa inmovilizada), si está presente, (preferentemente, la marca no es la misma que el agente de acoplamiento y/o el agente que se une al agente de acoplamiento, por ejemplo, si la biotina se usa para inmovilizar glucocerebrosidasa a la superficie, la marca no es biotina);

opcionalmente, realizar una etapa de lavado para eliminar glucocerebrosidasa marcada que no está unida al anticuerpo anti-glucocerebrosidasa de la mezcla, y

detectar (y opcionalmente cuantificar) la marca en la mezcla, por ejemplo, en donde la detección de la marca indica que un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa está presente en la muestra.

En algunas modalidades, la marca detectada se cuantifica en un valor y se compara con un control, por ejemplo, un control negativo, en donde si el valor de la marca detectada es mayor que el control negativo, la muestra contiene anticuerpos anti-glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, el control negativo es el valor medio de control negativo (por ejemplo, de fondo) para una pluralidad de controles negativos. Por ejemplo, el control negativo puede ser suero humano normal (NHS), y el valor medio de control negativo puede ser el promedio de una pluralidad de lotes de NHS, o la media de los valores de control negativo obtenida a partir de una pluralidad de ensayos. Por ejemplo, el valor de control negativo puede ser un valor de 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 ng/ml de anticuerpo, por ejemplo, un valor superior a ese número para una muestra indica que un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa está presente en la muestra. Como otro ejemplo, el valor de control negativo puede ser 200, 250, 300 (por ejemplo, 306), 350 ó 400, por ejemplo, un valor superior a ese número para una muestra indica que un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa está presente en la muestra.

En algunas modalidades, el ensayo es para la detección de anticuerpos anti-velaglucerasa. En otra modalidad, el ensayo es para la detección de anticuerpos anti-imiglucerasa. En algunas modalidades, el ensayo es para la detección de anticuerpos anti-Uplyso.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un ensayo para detectar un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo, anticuerpo IgG anti-glucocerebrosidasa) en una muestra (por ejemplo, una muestra del paciente, por ejemplo, sangre o suero). El método incluye:

poner en contacto la muestra con la glucocerebrosidasa marcada (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa), en donde la glucocerebrosidasa se marca con una marca detectable (por ejemplo, la glucocerebrosidasa está marcada con ^{125}I), bajo condiciones que permiten que un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa en la muestra, si está presente, se una a la glucocerebrosidasa marcada, y de este modo formar una mezcla;

aplicar la mezcla a una resina (por ejemplo, resina de Proteína G, Proteína A, Proteína, A/G, o Proteína L) (por ejemplo, una columna giratoria de Proteína G) bajo condiciones que permiten que si está presente el anticuerpo anti-glucocerebrosidasa, se una a la resina;

opcionalmente, realizar una etapa de lavado para eliminar glucocerebrosidasa marcada que no está unida al anticuerpo anti-glucocerebrosidasa de la mezcla, y

detectar (y opcionalmente cuantificar) la marca en la mezcla (por ejemplo, en la resina), por ejemplo, en donde la detección de la marca indica que el anticuerpo anti-glucocerebrosidasa está presente en la muestra.

En algunas modalidades, el ensayo es para la detección de anticuerpos anti-velaglucerasa. En otra modalidad, el ensayo es para la detección de anticuerpos anti-imiglucerasa. En algunas modalidades, el ensayo es para la detección de anticuerpos anti-Uplyso.

En algunas modalidades, la marca detectada se cuantifica en un valor y se compara con un control, por ejemplo, un control negativo, en el que si el valor de la marca detectada es mayor que el control negativo, la muestra contiene anticuerpos anti-glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, el control negativo es el valor promedio de control negativo (por ejemplo, de fondo) para una pluralidad de controles negativos. Por ejemplo, el control negativo puede ser suero humano normal (NHS), y el valor promedio de control negativo puede ser el promedio de una pluralidad de lotes de NHS, o el promedio de los valores de control negativo obtenida a partir de una pluralidad de ensayos.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un ensayo para detectar un anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa en una muestra (por ejemplo, una muestra del paciente, por ejemplo, sangre o suero). El método incluye:

proporcionar glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa o Uplyso) inmovilizada sobre una superficie (por ejemplo, un micropocillo) (por ejemplo, la superficie puede estar revestida con un agente de acoplamiento tal como estreptavidina y la glucocerebrosidasa se puede unir a un agente (por ejemplo, biotina) que se asocia con, por ejemplo, se une a, el agente de acoplamiento, por ejemplo, la glucocerebrosidase se inmoviliza a la superficie a través de la unión de biotina a la estrepavidina);

poner en contacto la muestra con la glucocerebrosidasa inmovilizada, bajo condiciones que permiten que un anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa en la muestra, si está presente, se una con la glucocerebrosidasa inmovilizada, y de este modo se forma una mezcla;

opcionalmente, realizar una etapa de lavado para eliminar de la mezcla cualquier material en la muestra que no está unido a la glucocerebrosidasa inmovilizada;

añadir un anticuerpo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa a la mezcla, en donde el anticuerpo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa está marcado con una marca detectable (por ejemplo, rutenio o biotina), bajo condiciones que permiten que el anticuerpo marcado que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa se una al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo, que está unido a la glucocerebrosidasa inmovilizada), si está presente, (preferentemente, la marca no es la misma que el agente de acoplamiento y/o el agente que se une al agente de acoplamiento, por ejemplo, si la biotina se usa para inmovilizar glucocerebrosidasa a la superficie, la marca no es biotina);

opcionalmente realizar una etapa de lavado para eliminar el anticuerpo marcado que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa que no está unido al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa a partir de la mezcla; y

detectar (y opcionalmente cuantificar) la marca en la mezcla, por ejemplo, en donde la detección de la marca indica que un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa está presente en la muestra.

En algunas modalidades, el ensayo detecta anticuerpos anti-velaglucerasa. En algunas modalidades, el ensayo detecta anticuerpos anti-imiglucerasa. En algunas modalidades, el ensayo detecta anticuerpos anti-Uplyso.

En algunas modalidades, la marca detectada se cuantifica en un valor y se compara con un control, por ejemplo, un control negativo, en donde si el valor de la marca detectada es mayor que el control negativo, la muestra contiene anticuerpos anti-velaglucerasa. En algunas modalidades, el control negativo es el valor promedio de control negativo (por ejemplo, de fondo) para una

pluralidad de controles negativos. Por ejemplo, el control negativo puede ser suero humano normal (NHS), y el valor promedio de control negativo puede ser el promedio de una pluralidad de lotes de NHS, o el promedio de los valores de control negativo obtenido a partir de una pluralidad de ensayos.

En algunas modalidades, el anticuerpo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa es específico para el isotipo, en donde el anticuerpo específico para el isotipo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa se une específicamente a un anticuerpo humano del isotipo para el cual es específico.

En algunas modalidades, el anticuerpo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa es un anticuerpo específico para IgA y se une a un anticuerpo IgA humano anti-glucocerebrosidasa en la muestra.

En algunas modalidades, el anticuerpo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa es un anticuerpo específico para IgE y se une a un anticuerpo IgE humano anti-glucocerebrosidasa en la muestra.

En algunas modalidades, el anticuerpo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa es un anticuerpo específico para IgM y se une a un anticuerpo IgM humano anti-glucocerebrosidasa en la muestra.

En algunas modalidades,el anticuerpo que se une al anticuerpo humano anti-glucocerebrosidasa es un anticuerpo específico para IgG y se une a un anticuerpo IgG humano anti-glucocerebrosidasa en la muestra.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un método para determinar si un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una muestra) neutraliza (por ejemplo, inhibe) la actividad glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa). El método incluye:

proporcionar una célula (por ejemplo, una célula humana, por ejemplo, una célula de fibroblasto humano) que expresa el receptor manosa de macrófagos humanos (MMR);

poner en contacto el anticuerpo anti-glucocerebrosidasa con la célula, y de este modo formar una mezcla;

poner en contacto la glucocerebrosidasa marcada (por ejemplo, velaglucerasa, imiglucerasa o Uplyso) con la mezcla, en donde la glucocerebrosidasa se marca con una marca detectable (por ejemplo, la glucocerebrosidasa se marca con un marcador fluorescente, por ejemplo, un colorante

fluorescente verde, tal como Alexa FLUOR® 488 o isotiocianato de fluoresceína (FITC)), bajo condiciones que permiten que la glucocerebrosidasa marcada se una al MMR en ausencia de un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo, en donde la unión de glucocerebrosidasa al MMR permite la captación celular de glucocerebrosidasa);

eliminar la glucocerebrosidasa marcada no unida y la glucocerebrosidasa marcada unida a la superficie celular (por ejemplo, a través de la digestión con tripsina), y

medir la cantidad de glucocerebrosidasa marcada en la célula.

En algunas modalidades, los niveles de glucocerebrosidasa marcada se comparan con un control, por ejemplo, el nivel de glucocerebrosidasa marcada que se detecta en ausencia del anticuerpo anti-glucocerebrosidasa bajo condiciones idénticas.

En algunas modalidades, las células no expresan un receptor de Fc (por ejemplo, receptor de Fc humano).

En algunas modalidades, el método detecta si están presentes anticuerpos neutralizantes anti-velaglucerasa. En algunas modalidades, el método detecta si están presentes anticuerpos neutralizantes anti-imiglucerasa. En algunas modalidades, el método detecta si están presentes anticuerpos neutralizantes anti-Uplyso.

En algunas modalidades, el método detecta si un anticuerpo anti-imiglucerasa neutraliza la actividad de la imiglucerasa. En algunas modalidades, el método detecta si un anticuerpo anti-velaglucerasa neutraliza la actividad de la velaglucerasa. En algunas modalidades, el método detecta si un anticuerpo anti-Uplyso neutraliza la actividad del Uplyso.

En algunas modalidades, el método detecta si un anticuerpo anti-imiglucerasa neutraliza la actividad de velaglucerasa y/o de Uplyso. En algunas modalidades, el método detecta si un anticuerpo anti-velaglucerasa neutraliza la actividad de imiglucerasa y/o de Uplyso. En algunas modalidades, el método detecta si un anticuerpo anti-Uplyso neutraliza la actividad de imiglucerasa y/o de velaglucerasa.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un método para determinar si un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una muestra) neutraliza (por ejemplo, inhibe) la actividad imiglucerasa. El método incluye:

proporcionar una célula (por ejemplo, una célula humana, por ejemplo, una célula de fibroblasto humano) que expresa el receptor manosa de macrófagos humanos (MMR);

poner en contacto el anticuerpo anti-velaglucerasa con la célula, y de ese modo formar una mezcla;

poner en contacto la imiglucerasa marcada con la mezcla, en donde la imiglucerasa se marca con una marca detectable (por ejemplo, la imiglucerasa se marca con un marcador fluorescente, por ejemplo, un colorante fluorescente verde, tal como Alexa FLUOR® 488 o isotiocianato de fluoresceína (FITC)), bajo condiciones que permiten que laimiglucerasa marcada se una al MMR en ausencia de un anticuerpo anti-velaglucerasa (por ejemplo, en donde la unión de imiglucerasa al MMR permite la captación celular de la imiglucerasa);

eliminar la imiglucerasa marcada no unida y la imiglucerasamarcada unida a la superficie celular (por ejemplo, a través de la digestión con tripsina); y

medir la cantidad de imiglucerasa marcada en la célula.

En algunas modalidades, los niveles de imiglucerasa marcada se comparan con un control, por ejemplo, el nivel de imiglucerasa marcada detectada en ausencia del anticuerpo anti-velaglucerasa bajo condiciones idénticas.

En algunas modalidades, las células no expresan un receptor de Fc (por ejemplo, receptor de Fc humano).

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un método para determinar si un anticuerpo anti-imiglucerasa (por ejemplo, en una muestra) neutraliza (por ejemplo, inhibe) la actividad velaglucerasa. El método incluye:

proporcionar una célula (por ejemplo, una célula humana, por ejemplo, una célula de fibroblasto humano) que expresa el receptor manosa de macrófagos humanos (MMR);

poner en contacto el anticuerpo anti-imiglucerasa con la célula, y de este modo formar una mezcla;

poner en contacto la velaglucerasa marcada con la mezcla, en donde la velaglucerasa se marca con una marca detectable (por ejemplo, la velaglucerasa se marca con un marcador fluorescente, por ejemplo, un colorante fluorescente verde, tal como Alexa FLUOR® 488 o isotiocianato de fluoresceína (FITC)), bajo condiciones que permiten que la velaglucerasa marcada se una al MMR en ausencia de un anticuerpoanti-imiglucerasa (por ejemplo, en donde la unión de velaglucerasa al MMR permite la captación celular de la velaglucerasa);

eliminar la velaglucerasa marcada no unida y la velaglucerasa marcada unida a la superficie celular (por ejemplo, a través de la digestión con tripsina); y

medir la cantidad de velaglucerasa marcada en la célula.

En algunas modalidades, los niveles de velaglucerasa marcada se comparan con un control, por ejemplo, el nivel de velaglucerasa marcada detectada en ausencia del anticuerpo anti-imiglucerasa bajo condiciones idénticas.

En algunas modalidades, las células no expresan un receptor de Fc (por ejemplo, receptor de Fc humano).

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un anticuerpo híbrido, en donde el anticuerpo híbrido comprende un anticuerpo no-humano anti-fármaco y una inmunoglobulina humana (Ig).

En algunas modalidades, el anticuerpo IgG no-humano anti-fármaco es un anticuerpo IgG anti-fármaco de oveja.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-fármaco se une a la velaglucerasa.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-fármaco se une a la imiglucerasa.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-fármaco se une a Uplyso.

En algunas modalidades, el Ig humano es IgA.

En algunas modalidades, el Ig humano es IgE.

En algunas modalidades, el Ig humano es IgM.

En algunas modalidades, el Ig humano es IgG.

En algunas modalidades, el anticuerpo no-humano anti-fármaco es un anticuerpo IgG.

En algunas modalidades, el anticuerpo no-humano anti-fármaco y la Ig humana están conjugadas entre sí por un agente de reticulación química, por ejemplo, un brazo espaciador, largo, reticulante, por ejemplo, succinimidil 6 - [3'-2-piridilditio-propionamido] hexanoato (LC-SPDP).

En algunas modalidades, el anticuerpo híbrido se usa como un control positivo en ensayos que detectan y/o miden los niveles y/o isotipos de anticuerpos anti-fármacos en una muestra, por ejemplo, en un método descrito en la presente.

En algunas modalidades, el anticuerpo híbrido se usa como un control positivo en ensayos para determinar si un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una muestra) neutraliza (por ejemplo, inhibe) la actividad de la glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa o

imiglucerasa), por ejemplo, en un método descrito en la presente. Por ejemplo, el anticuerpo híbrido se usa como un anticuerpo anti-glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una muestra) en el ensayo.

En algunos aspectos, la descripción caracteriza un método de medición de la captación celular (por ejemplo, internalización) de glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa) en una célula. El método incluye:

poner en contacto la glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa) con una célula (por ejemplo, una línea celular de linfoma de leucemia monocítica humana (por ejemplo, U937) o una célula de una línea celular de macrófagos murina (por ejemplo, J774)) para de este modo formar una mezcla;

incubar la mezcla (por ejemplo, por 1, 2, 3, 4, 5, 6, ó 7 horas o durante la noche), por ejemplo, para permitir la captación celular de la glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa) en la célula, y

medir la cantidad de captación de glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa) en la célula.

En algunas modalidades, la cantidad de captación se mide mediante la medición de la actividad enzimática glucocerebrosidasa en la célula. En algunas modalidades, se usa un sustrato sintético que fluoresce tras la escisión (por ejemplo, 4-MU-glc).

En algunas modalidades, la cantidad de captación se mide mediante la medición de los niveles intracelulares de la proteína glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, se usa el análisis de transferencia de tipo Western. En algunas modalidades, se usa el análisis inmunohistoquímico (por ejemplo, inmunohistoquímica en las células permeabilizadas).

En algunas modalidades, la célula se lava una o más veces antes de la etapa de medición.

En algunas modalidades, el pH de la mezcla es 7.5.

En algunas modalidades, la manosa-6-fosfato (M6P) está presente en la mezcla.

En algunas modalidades, el manano está presente en la mezcla.

En algunas modalidades, calcio está presente en la mezcla.

En algunas modalidades, la cantidad de captación se compara con un estándar, por ejemplo, la cantidad de captación medida en ausencia de contacto de la glucocerebrosidasa con la célula (por ejemplo, velaglucerasa o imiglucerasa), o por la comparación de la cantidad de captación medida

en presencia y ausencia de manosa-6-fosfato, o por comparación de la cantidad de captación medida en presencia y ausencia de manano, o por comparación de la cantidad de la captación medida en presencia y ausencia de calcio.

En algunas modalidades, la glucocerebrosidasa es velaglucerasa.

En algunas modalidades, la glucocerebrosidase es imiglucerasa.

En algunas modalidades, la cantidad de captación de velaglucerasa se compara con la cantidad de captación de imiglucerasa (por ejemplo, en las mismas condiciones).

El término "sujeto" se refiere a cualquier mamífero, e incluye pero no se limita a, cualquier animal clasificado como tal, incluyendo los humanos, primates no humanos, primates, babuinos, chimpancés, monos, roedores (por ejemplo, ratones, ratas), conejos, gatos, perros, caballos, vacas, ovejas, cabras, cerdos, etc. El término "sujeto" se puede usar de manera intercambiable con el término "paciente".

El término "aislado" se refiere a una molécula que está sustancialmente libre de su ambiente natural. Por ejemplo, una proteína aislada está sustancialmente libre de material celular o de otras proteínas de la célula o tejido fuente de la que se deriva. El término se refiere a preparaciones donde la proteína aislada está suficientemente pura para administrarse como una composición terapéutica, o al menos 70% a 80% (p/p) pura, con mayor preferencia, al menos 80% a 90% (p/p) pura, incluso con mayor preferencia, de 90 a 95% pura, y, con la máxima preferencia, al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 99.8% o 100% (p/p) pura.

Como se usa en la presente, el término "aproximadamente" se refiere a un máximo de $\pm$ 10% del valor que califica este término. Por ejemplo, aproximadamente 50 mM se refiere a 50 mM $\pm$ 5 mM; aproximadamente 4% se refiere a 4% $\pm$ 0.4%.

Los términos "dosis terapéuticamente eficaz", y "cantidad terapéuticamente eficaz", se refieren a la cantidad de un compuesto que resulta en la prevención de los síntomas (por ejemplo, la prevención de 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97% 98% o 99% de los síntomas, por ejemplo, los síntomas de la enfermedad de Gaucher en un sujeto que se diagnostica con la enfermedad de Gaucher), retraso de la aparición de los síntomas, o la mejoría de los síntomas de la enfermedad de Gaucher. Una cantidad terapéuticamente eficaz, por ejemplo, será suficiente para tratar, prevenir, reducir la severidad, retrasar la aparición y/o reducir el riesgo de ocurrencia de uno o más síntomas de un trastorno asociado con la enfermedad de Gaucher. La cantidad eficaz se puede determinar

por métodos que se conocen bien en la materia y como se describe en las secciones posteriores de esta descripción.

Los términos "tratamiento" y "método terapéutico" se refieren al tratamiento de un trastorno existente y/o medidas profilácticas/preventivas. Aquellos que necesiten de tratamiento, puede incluir individuos que ya tienen un trastorno médico en particular, así como aquellos en riesgo o que tengan, o que en última instancia pueden adquirir el trastorno. La necesidad de tratamiento se evalúa, por ejemplo, por la presencia de uno o más factores de riesgo asociados con el desarrollo de un trastorno, la presencia o progresión de un trastorno o probabilidad de receptividad al tratamiento de un sujeto que tiene el trastorno. El tratamiento puede incluir detener o revertir la progresión de un trastorno.

El término "tratar" se refiere a la administración de una terapia en una cantidad, forma, y/o modo eficaz para mejorar o prevenir una afección, síntoma o parámetro asociado con un trastorno (por ejemplo, un trastorno descrito en la presente) o para prevenir la aparición, progresión, o exacerbación del trastorno, ya sea a un grado estadísticamente significativo o en un grado detectable para alguien con experiencia en la materia. En consecuencia, el tratamiento puede lograr beneficios terapéuticos y/o profilácticos. Una cantidad, forma o modo eficaz puede variar en dependencia del sujeto y se puede adaptar al sujeto.

"Reacción en el sitio de infusión" como se usa en la presente se refiere a una o más síntomas de hipersensibilidad que desarrolla un sujeto durante o poco después de una infusión de una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, dentro de las 12 horas de la infusión de un tratamiento de reemplazo de la enzima glucocerebrosidasa al sujeto). Los síntomas incluyen, por ejemplo, prurito, ardor, hinchazón o absceso en el sitio de infusión, rubor, urticara/angioedema, molestias en el pecho, taquicardia, cianosis, síntomas respiratorios y parestesia.

El término "combinación" se refiere al uso de dos o más agentes o terapias para tratar al mismo paciente, en donde el uso o acción de los agentes o terapias se solapan en el tiempo. Los agentes o terapias se pueden administrar al mismo tiempo (por ejemplo, como una sola formulación que se administra a un paciente o como dos formulaciones separadas que se administran al mismo tiempo) o secuencialmente en cualquier orden.

Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias mencionadas en la presente descripción se incorporan como referencia en su totalidad. En caso de conflicto, controla la presente especificación, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos, y ejemplos son ilustrativos solamente y no pretenden ser limitantes.

Los detalles de una o más modalidades de la invención se exponen en los dibujos acompañante y la descripción más abajo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 (a) - (f) representa el % de cambio promedio de los valores hematológicos, valores de los órganos, y biomarcadores en el ensayo Fase I/II.

La FIG. 2 representa el % de cambio promedio de los principales parámetros clínicos en los ensayos Fase I/II y de extensión.

La FIG. 3 representa el cambio promedio de los parámetros hematológicos de TKT025EXT (N=10), de la línea de base en TKT025.

La FIG. 4 representa el cambio promedio de los volúmenes normalizados de órganos de TKT025EXT (N=10) de la línea de base en TKT025.

La FIG. 5 representa el cambio temporal en la puntuación Z promedio de la columna lumbar de TKT025 y TKT025EXT de la línea de base.

La FIG. 6 representa el cambio temporal en la puntuación Z promedio de la línea de base de TKT025 y TKT025EXT.

La FIG. 7 representa el cambio promedio de la concentración de hemoglobina de la línea de base de TKT032 (N=25).

La FIG. 8 representa el cambio promedio del conteo de plaquetas de la línea de base de TKT032 (N=25).

La FIG. 9 representa el cambio promedio del volumen normalizado del bazo de la línea de base de TKT032 (N=25).

La FIG. 10 representa el cambio promedio del volumen normalizado del hígado de la línea de base de TKT032 (N=25).

La FIG. 11 representa el cambio promedio de la concentración de hemoglobina de la línea de base de HGT-GCB-039 (N=34).

La FIG. 12 representa el cambio promedio del conteo de plaquetas de la línea de base de HGT-GCB-039 (n = 34).

La FIG. 13 representa el cambio promedio de la línea de base del conteo de plaquetas en los pacientes sin bazo de HGT-GCB-039 (N=34).

La FIG. 14 representa el cambio promedio del volumen normalizado del hígado de la línea de base de HGT-GCB-039 (N=34).

La FIG. 15 representa el cambio promedio de la línea de base de la concentración de hemoglobina de TKT034.

La FIG. 16 representa el porcentaje de cambio medio de la línea de base en el conteo de plaquetas de TKT034.

La FIG. 17 representa el porcentaje de cambio medio de la línea de base del volumen normalizado del hígado de TKT034.

La FIG. 18 representa el porcentaje de cambio medio de la línea de base del volumen normalizado del bazo de TKT034.

La FIG. 19 representa el porcentaje de cambio medio de la línea de base de la quitotriosidasa plasmática de TKT034.

La FIG. 20 representa el porcentaje de cambio medio de la línea de base de CCL18 plasmática de TKT034.

La FIG. 21 representa una evaluación de la inmunogenicidad de pacientes en estudios clínicos de alfa velaglucerasa.

La FIG. 22 representa una detección de anticuerpos anti-fármacos por inmunoensayo de electro-quimioluminiscencia (ECL).

La FIG. 23 representa una curva de respuesta a la dosis del ensayo de detección.

La FIG. 24 representa un ensayo confirmatorio de ADA IgG.

La FIG. 25 representa una curva de respuesta a la dosis del ensayo RIP.

La FIG. 26 representa ensayos confirmatorios de ADA IgA, IgM e IgE.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La descripción se basa, en parte, en el descubrimiento de que la velaglucerasa provoca menos respuesta inmune (por ejemplo, una menor producción de anticuerpos, por ejemplo, menos producción de anticuerpos neutralizantes) que la imiglucerasa tras su administración a un sujeto

(por ejemplo, un sujeto con enfermedad de Gaucher). Se descubrió que la velaglucerasa provoca menos reacción en el sitio de infusión después de la administración a un sujeto (por ejemplo, un sujeto con enfermedad de Gaucher) que la imiglucerasa y la velaglucerasa puede resultar en un aumento en el conteo de plaquetas cuando se administra a un sujeto (por ejemplo, un sujeto que tiene la enfermedad de Gaucher) en relación a la imiglucerasa. La invención se refiere, *entre otras cosas*, a composiciones y métodos para seleccionar un tratamiento para un sujeto con enfermedad de Gaucher, seleccionar sujetos para el tratamiento con velaglucerasa (por ejemplo, solo o en combinación con otra terapia), y los métodos para reducir la reacción en el sitio de inyección en sujetos sometidos a tratamiento para la enfermedad de Gaucher.

Velaglucerasa

La velaglucerasa es la glucocerebrosidasa β humana que se produce por la activación de genes en una línea celular humana. La activación del gen se refiere a la recombinación dirigida con un promotor que activa el gen endógeno de la glucocerebrosidasa β en la línea celular humana seleccionada. La velaglucerasa se secreta como una glicoproteína monomérica de aproximadamente 63 kDa y está compuesta de 497 aminoácidos con una secuencia idéntica a la proteína humana natural. La secuencia de aminoácidos de la velaglucerasa se describe en Zimran y otros (2007) *Blood Cells Mol Dis*, 39: 115-118.

La glicosilación de la alfa velaglucerasa se altera mediante el uso de kifunensine, un inhibidor de la manosidasa I, durante el cultivo celular, lo que resulta en la secreción de una proteína que contiene principalmente alto contenido en glicanos de tipo manosa que tienen 6-9 unidades de manosa por glicano. Un resumen de la estructura de glicano de la velaglucerasa se proporciona a continuación.

Sitio de glicosilación	**Glicano predominante**	**Otros glicanos**
Asn19	Alto contenido de manosa $(Man)_9(GlcNAc)_2$	Alto contenido de manosa $(Man)_{6-8}(GlcNAc)_2$ Alto contenido de manosa fosforilada $(Phos)_1(Man)_{8-9}(GlcNAc)_2$ GlcNAc fosfato de terminación $(Phos)_1(Man)_{8-9}(GlcNAc)_3$ Híbrido $(Hex)_2(Man)_3(GlcNAc)_3(Fuc)_1$
Asn59	Alto contenido de manosa $(Man)_9(GlcNAc)_2$	Alto contenido de manosa $(Man)_{5-8}(GlcNAc)_2$ Alto contenido de manosa fosforilada $(Phos)_1(Man)_{7-9}(GlcNAc)_2$ GlcNAc fosfato de terminación $(Phos)_1(Man)_{8-9}(GlcNAc)_3$ Híbrido $(NeuAc)_1(Gal)_1(Man)_5(GlcNAc)_3(Fuc)_1$ Complejo $(NeuAc)_{0-2}(Gal)_2(Man)_3(GlcNAc)_4(Fuc)_1$ $(Gal)_3(Man)_3(GlcNAc)_5(Fuc)_1$
Asn146	Alto contenido de manosa $(Man)_9(GlcNAc)_2$	Alto contenido de manosa $(Man)_{6-8}(GlcNAc)_2$ Alto contenido de manosa fosforilada $(Phos)_1(Man)_{7-9}(GlcNAc)_2$ GlcNAc fosfato de terminación $(Phos)_1(Man)_9(GlcNAc)_3$ Híbrido $(NeuAc)_1(Gal)_1(Man)_5(GlcNAc)_3(Fuc)_1$
Asn270	Alto contenido de manosa $(Man)_9(GlcNAc)_2$	Alto contenido de manosa $(Man)_{6-8}(GlcNAc)_2$ Alto contenido de manosa fosforilada $(Phos)_1(Man)_{6-9}(GlcNAc)_2$ GlcNAc fosfato de terminación $(Phos)_1(Man)_9(GlcNAc)_3$ Híbrido $(Gal)_1Man)_7GlcNAc)_3Fuc)_1$ $(NeuAc)_1(Gal)_1(Man)_5(GlcNAc)_3(Fuc)_1$ Complejo $(NeuAc)_2(Gal)_2(Man)_3(GlcNAc)_4(Fuc)_1$
Asn462	No detectado	No detectado

La velaglucerasa tiene tres dominios no contiguos, el sitio catalítico situado en el barril del dominio III (residuos 76-381 y 416-430), un (β/α) 8 (TIM).

La velaglucerasa (VPRIV™) está disponible comercialmente de Shire Human Genetics Therapies, Inc. Lo métodos de hacer velaglucerasa se describen, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos núm. 7,138,262.

Forma farmacéutica. La velaglucerasa (que también se denomina en la presente como alfa velaglucerasa) es un polvo liofilizado sin conservantes, blanco o casi blanco, estéril para solución en viales de un solo uso para infusión intravenosa (IV) después de la reconstitución con agua estéril para inyección.

Composición cualitativa y cuantitativa. Tras la reconstitución con agua estéril para inyección, cada vial contiene aproximadamente 2.5 mg/ml (40 U/ml) de alfa velaglucerasa, 50 mg/ml de sacarosa, 12.9 mg/ml de citrato de sodio dihidratado, 1.3 mg/ml de ácido cítrico monohidratado y 0.11 mg/ml de polisorbato 20. Cada vial contiene un volumen extraíble de 2.0 ml para el vial de 200 U y 4.0 ml para el vial de 400 U. La velaglucerasa se suministra en un vial (5 mg)/200 U o vial (10 mg)/400 U de alfa velaglucerasa, una unidad (U) de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima que se requiere para convertir un micromol de p-nitrofenil ß-D-glucopiranósido a p-nitrofenol por minuto a 37°C.

Contenedor y contenido. La velaglucerasa es un polvo estéril, liofilizado para solución que se suministra ya sea en un vial de vidrio de tipo I de 5 ml (200 U/ presentación del vial) o 20 ml (400 U/presentación del vial). Cada vial contiene 200 U (5 mg) o 400 U (10 mg) de alfa velaglucerasa. Los viales se cierran con un tapón de caucho de butilo con un revestimiento de fluoro-resina y se sellan con una cápsula de aluminio con una tapa de plástico tipo precinto.

Instrucciones de uso. La velaglucerasa es un polvo liofilizado para solución destinada para infusión intravenosa. Los viales son viales de un solo uso. La velaglucerasa no se infunde con otros productos en la misma infusión. El volumen total de infusión se entrega durante un período de 60 minutos. La velaglucerasa se debe manipular como sigue:

1. Determinar el número de viales a reconstituir, basándose en el peso individual del paciente y la dosis prescrita.

2. Retirar de la nevera el número de viales que se requiere. Reconstituir los viales de 200 unidades con 2.2 ml de agua estéril para inyección y los viales de 400 unidades con 4.3 ml de agua estéril para inyección. No agitar.

3. Antes de diluir, inspeccionar visualmente la solución de los viales. No usar si la solución está decolorada o si contiene materia particulada.

4. Retirar el volumen calculado de fármaco a partir del número apropiado de viales.

5. Diluir el volumen total que se requiere en 100 ml de solución de cloruro de sodio al 0.9% adecuada para la administración IV, balancear suavemente, pero sin agitarla.

Dosis. La elaglucerasa se administra a dosis entre (e incluye) 2.5 U/kg y 60 U/kg del peso corporal del sujeto, por ejemplo, 15 U/kg a 60 U/kg (por ejemplo, 15 U/kg, 30 U/kg, 45 U/kg, o 60 U/kg). La velaglucerasa puede administrarse a una tasa de 2 U/kg/minuto, 1.5 U/kg/minuto, 1 U/kg/minuto o 0.5 U/kg/minuto. La dosis de velaglucerasa se administra al sujeto en semanas alternas.

La velaglucerasa puede administrarse a una dosis de 15 a 60 U/kg (por ejemplo, 30 U/kg a 60 U/kg, por ejemplo, 15 U/kg, 30 U/kg, 45U/kg, o 60 U/kg), a una dosis igual o por debajo de 22.5 U/kg, a una dosis entre 22.5 y 37.5 U/kg, a una dosis entre 37.5 y 52.5 U/kg, o a una dosis igual o por encima de 52.5 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa puede administrarse a una dosis de 2.5 U/kg a 60 U/kg. En algunas modalidades, la velaglucerasa puede administrarse en semanas alternas por infusión intravenosa. En otras modalidades, la velaglucerasa puede administrarse todas las semanas por infusión intravenosa. En algunas modalidades, la velaglucerasa puede administrarse tres veces por semana por infusión intravenosa, por ejemplo, a una dosis de 2.5 U/kg.

En algunas modalidades, la infusión de la dosis (por ejemplo, una dosis descrita en la presente descripción ocurre durante menos de 2 horas, por ejemplo, menos de 90 minutos, 80 minutos, 70 minutos, 60 minutos, 50 minutos o 45 minutos.

Glucocerebrosidasa humana producida por vía recombinante. Otras formas de glucocerebrosidasa humana producida por vía recombinante se pueden usar en las composiciones, ensayos y métodos descritos en la presente. Por ejemplo, la imiglucerasa (Cerazyme ®) se produce por vía recombinante en ovario de hámster chino (CHO) y está disponible comercialmente. Además, se puede usar Uplyso, una glucocerebrosidasa recombinante (prGCD) que se expresa en células de plantas. La glucocerebrosidasa recombinante de planta se puede obtener por métodos descritos, por ejemplo, en las publicaciones de Estados Unidos núms.: US 20090208477 y US 20080038232 y las publicaciones de PCT núms.: WO 2004/096978 y WO 2008/132743.

Dosis de mantenimiento

Tras la mejora de la condición de un sujeto, se puede administrar una dosis de mantenimiento de un tratamiento, si es necesario. Posteriormente, la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas, se pueden reducir, en función de los síntomas, a un nivel en el que se mantiene la afección mejorada. Sin embargo, puede que los sujetos requieran un tratamiento intermitente a largo plazo tras la recurrencia de cualquiera de los síntomas de la enfermedad.

Los sujetos tratados con una dosis de 60 U/kg de velaglucerasa cada dos semanas, y después de aproximadamente 15-18 meses de tratamiento total con velaglucerasa, tras mostrar mejorías en 2 de 4 criterios terapéuticos recomendados (concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado, volumen del bazo), se cambiaron a una dosis reducida de 30 U/kg cada dos semanas. A pesar de esta reducción de dosis, estos sujetos mostraron cambios clínicamente significativos en los 4 parámetros (concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del bazo, y volumen del hígado) y biomarcadores (quitotriosidasa y CCL18) en el transcurso de 48 meses.

La comparación cualitativa entre la velaglucerasa y la imiglucerasa indica el beneficio potencial adicional para los sujetos de Gaucher en el que, a pesar de una reducción de la dosis a casi la mitad de imiglucerasa, los pacientes siguen una evolución clínica favorable en los 4 parámetros que demuestran un marcado aumento en la concentración de hemoglobina, aumento continuo del conteo de plaquetas después de 36 meses, y una tasa de disminución del volumen del hígado/bazo.

Terapia alternativa

La administración de velaglucerasa (con o sin el agente adicional) se puede usar como un tratamiento alternativo, por ejemplo, para los sujetos que se tratan previamente con otro tratamiento (es decir, una terapia que no sea velaglucerasa, por ejemplo, imiglucerasa, alglucerasa, Uplyso, tartrato de isofagomina, Miglustat o Genz-112638). Por ejemplo, un sujeto que está en tratamiento para la enfermedad de Gaucher con otra terapia se puede transferir a un tratamiento con velaglucerasa, por ejemplo, si el sujeto experimenta un efecto secundario o efecto adverso de la otra terapia. Por ejemplo, un sujeto que está en tratamiento para la enfermedad de Gaucher con imiglucerasa se puede transferir a tratamiento con velaglucerasa, por ejemplo, la velaglucerasa se puede administrar en la misma dosis y con la misma frecuencia en la que se administra la

imiglucerasa. Por ejemplo, el sujeto puede experimentar una reacción en el sitio de infusión con o después de la administración de imiglucerasa y/o desarrollar anticuerpos anti-imiglucerasa (por ejemplo, anticuerpos neutralizantes a la imiglucerasa).

Terapia de combinación

A un sujeto que padece la enfermedad de Gaucher se le puede administrar una terapia que incluye velaglucerasa en una cantidad y durante un tiempo para proporcionar un efecto terapéutico global. La velaglucerasa se puede administrar sola o en combinación con un agente(s) adicional. En el caso de una terapia de combinación, las cantidades y los tiempos de administración pueden ser aquellos que proporcionan, por ejemplo, un efecto terapéutico sinérgico o un efecto terapéutico aditivo.

En algunas modalidades, la velaglucerasa se puede usar en combinación con otra terapia para la enfermedad de Gaucher, por ejemplo, un tratamiento que no sea la terapia de reemplazo enzimático, por ejemplo, tartrato de isofagomina, Miglustat, o Genz-112638.

Tartrato de isofagomina. El tartrato de isofagomina (AT-2101, HGT-34100, PLICERA ®) ((3*R*,4*R*,5*R*) -3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) piperidina L-(+)-tartrato; CAS núm. 957230-65-8) se une selectivamente y estabiliza la glucocerebrosidasa, y facilita el tráfico correcto de la enzima a los lisosomas, los compartimientos de la célula donde se necesita para romper glucocerebrosidos. Véase también la patente de Estados Unidos núm. 7,501,439.

Miglustat. El miglustat (Zavesca ®) ((2*R*,3*R*,4*R*,5*S*)-1-butil-2-(hidroximetil) piperidina-3, 4, 5-triol; CAS núm. 72599-27-0) es un azúcar imino N-alquilado, un análogo sintético de la D-glucosa y un sólido cristalino blanco o casi blanco que tiene un sabor amargo. El miglustat exhibe un gran volumen de distribución y tiene la capacidad de acceso a los órganos profundos, tales como, cerebro hueso y pulmón.

El miglustat inhibe la glucosilceramida sintasa, una enzima esencial para la síntesis de la mayoría de los glicoesfingolípidos. El miglustat es un inhibidor de la glucosilceramida sintasa. Funciona mediante el bloqueo de una enzima que reduce la formación de ciertas sustancias químicas en el cuerpo (glicoesfingolípidos de base glucosilceramidas). El miglustat se usa para tratar a adultos con enfermedad de Gaucher tipo I leve a moderada.

Genz112638. El Genz-112638 es análogo de la glucosilceramida, que se administra por vía oral, y está diseñado para inhibir parcialmente la glucosilceramida sintasa, lo que resulta en producción reducida de glucosilceramida.

Además, se pueden usar moléculas pequeñas referidas como chaperones farmacológicos para unirse selectivamente a una macromolécula diana y aumentar su estabilidad. Por ejemplo, la unión de un chaperón farmacológico puede ayudar a una molécula diana, tal como una proteína (pro ejemplo, GCB) u otra macromolécula (por ejemplo, glucocerebrosida) a plegarse en su forma tridimensional correcta. Esto puede facilitar la actividad función celular de la molécula (por ejemplo, actividad enzimática en el caso de GCB). Además o alternativamente, el chaperón farmacológico puede facilitar el tráfico de las moléculas chaperonas del ER al lugar adecuado en la célula. Una o ambas funciones pueden reducir la tensión celular.

Los chaperones farmacológicos pueden además disminuir la agregación y/o acumulación de macromléculas no plegadas. Además, la restauración del tráfico de macromléculas no plegadas (por ejemplo, proteínas) y la reducción de su retención en el ER puede tener el beneficio adicional de aliviar los efectos tóxico (por ejemplo, efectos proteotóxicos) asociados con la acumulación y/o segregación de la macromlécula mutante.

En ciertas modalidades, las terapias de combinación puedenincluir uno, dos o más terapias de reemplazo con glucocerebrosida, opcionalmente en combinación con una o más terapias con moléculas pequeñas, tal como tartrato de isofagomina, miglustat, o Genz112638, y/o opcionalmente en combinaicón con uno o más chaperones farmacológicos y/u otros agentes.

En algunas modalidades, cuando la velaglucerasa se administra en combinación con un agente adicional, la combinación puede resultar en que sea necesaria una dosis más baja del agente adicional o de la velaglucerasa, de tal manera que los efectos secundarios se reducen. La combinación puede resultar en una mejor entrega y eficacia de uno o ambos agentes.

Los agentes o terapias se pueden administrar al mismo tiempo (por ejemplo, como una sola formulación que se administra a un paciente o como dos formulaciones separadas que se administran al mismo tiempo) o secuencialmente en cualquier orden. Administraciones secuenciales son las administraciones que se dan en momentos diferentes. El tiempo entre la administración del agente uno y el otro agente puede ser minutos, horas, días o semanas. El uso de velaglucerasa, también se puede usar para reducir la dosis de otra terapia, por ejemplo, para reducir los efectos secundarios asociados con otro agente que se administra, por ejemplo, para reducir los

efectos secundarios de una terapia que no sea la terapia de reemplazo enzimático. En consecuencia, una combinación puede incluir la administración de un segundo agente a una dosis al menos 10, 20, 30, ó 50% menor que la que se usa en ausencia de la velaglucerasa.

Una terapia de combinación puede incluir la administración de un agente que reduce los efectos secundarios de otras terapias. Por ejemplo, un corticosteroide se puede administrar a un sujeto antes de la administración del tratamiento para la enfermedad de Gaucher, para disminuir la reacción en el sitio de infusión. Como otro ejemplo, la terapia de suplemento de hierro se puede dar durante el curso de la terapia de velaglucerasa.

Enfermedad de Gaucher

La enfermedad de Gaucher es la más común de las enfermedades de depósito lisosomal. La causa es una deficiencia hereditaria de la enzima glucocerebrosidasa (también conocida como ácido β-glucosidasa). La enzima actúa sobre una sustancia grasa glucocerebrósido (también conocida como glucosilceramida). Cuando la enzima está defectuosa, la sustancia se acumula, en particular, en células del linaje de células mononucleares. El material graso se acumula en el bazo, hígado, riñones, pulmones, cerebro y médula ósea. Los síntomas pueden incluir agrandamiento del bazo y el hígado, disfunción hepática, trastornos esqueléticos y lesiones óseas que pueden ser dolorosas, complicaciones neurológicas severas, inflamación de los ganglios linfáticos y (ocasionalmente) articulaciones adyacentes, abdomen distendido, un matiz pardusco en la piel, anemia, plaquetas en sangre bajas y depósitos de grasa de color amarillo en la parte blanca del ojo (esclera). Las personas más seriamente afectadas también pueden ser más susceptibles a infección. La causa de la enfermedad es un gen recesivo en el cromosoma 1 y afecta tanto a hombres y mujeres.

La enfermedad de Gaucher tiene tres subtipos clínicos comunes:

Tipo I (o tipo no neuropático) es la forma más común de la enfermedad, ocurre en aproximadamente 1 de cada 50,000 nacidos vivos. Ocurre con más frecuencia entre personas de herencia judía asquenazí. Los síntomas pueden comenzar temprano en la vida o en la edad adulta e incluyen agrandamiento del hígado y bazo agrandado enormemente (junto con hepatoesplenomegalia), el bazo puede romperse y causar complicaciones adicionales. La debilidad esquelética y trastorno óseo pueden ser extensos. El agrandamiento del bazo y el reemplazo de la médula ósea causan anemia, trombocitopenia y leucopenia. El cerebro no se afecta, pero se puede

deteriorar el pulmón y, raramente, los riñones. A los pacientes en este grupo usualmente le salen moretones con facilidad (debido a los bajos niveles de plaquetas) y experimentan fatiga debido al bajo número de glóbulos rojos. En dependencia de la aparición de la enfermedad y la severidad, los pacientes de tipo I, pueden vivir bien en la adultez. Muchos pacientes tienen una forma leve de la enfermedad o pueden no mostrar ningún síntoma. En algunas modalidades, los métodos y composiciones descritos en la presente se usan para tratar la enfermedad de Gaucher tipo I.

Tipo II (o enfermedad de Gaucher neuropática infantil aguda) por lo general comienza dentro de 6 meses del nacimiento y tiene una tasa de incidencia de aproximadamente 1 de cada 100,000 nacidos vivos. Los síntomas incluyen un agrandamiento del hígado y el bazo, daño cerebral extenso y progresivo, trastornos del movimiento ocular, espasticidad, convulsiones, rigidez de los miembros, y poca capacidad para succionar y tragar. Los niños afectados generalmente mueren a los 2 años.

Tipo III (la forma neuropática crónica) puede comenzar en cualquier momento en la infancia o incluso en la edad adulta, y ocurre en aproximadamente 1 de cada 100,000 nacidos vivos. Se caracteriza por progresar lentamente pero síntomas neurológicos más leves en comparación con la versión aguda o de tipo II. Los síntomas principales incluyen un agrandamiento del bazo y/o hígado, convulsiones, mala coordinación, irregularidades esqueléticas, trastornos del movimiento ocular, trastornos hematológicos como anemia y problemas respiratorios. Los pacientes a menudo viven sus primeros diez años y la adultez.

Densidad mineral ósea

Como se usa en la presente la densidad de los huesos (o densidad mineral ósea) se refiere a la cantidad de materia por centímetro cuadrado de hueso. La densidad ósea se puede usar en la medicina clínica como un indicador indirecto de osteoporosis y/o el riesgo de fractura. La DMO se puede medir por una serie de procedimientos, por ejemplo, absorciometría de rayos X de energía dual (DXA o DEXA), tomografía computarizada cuantitativa (QCT), ecografía cualitativa (QUS), absorciometría de fotón simple (SPA), absorciometría fotónica dual (DPA) , radiogrammetría digital de rayos X (DXR), y absorciometría de rayos X de energía única (SEXA). Las mediciones se pueden realizar, por ejemplo, sobre la columna lumbar, la parte superior de la cadera, o el antebrazo.

La densidad mineral ósea promedio puede definirse como BMC/W [g/cm^2], en donde BMC = contenido mineral óseo = g/cm, y W = ancho en la línea escaneada.

Los resultados de la densitometría pueden reportarse en, por ejemplo, densidad medida en g cm^{-3}, puntuación Z, y puntuación T. Las puntuaciones negativas indican una menor densidad ósea, y los resultados positivos indican mayor.

La puntuación Z se refiere al número de desviaciones estándar por encima o por debajo del promedio para la edad del paciente, sexo y origen étnico.

La puntuación T se refiere al número de desviaciones estándar por encima o por debajo del promedio para un adulto sano de 30 años de edad, del mismo sexo y origen étnico que el paciente. Los criterios de la Organización Mundial de la Salud son los siguientes:

- Normal es una puntuación T de -1.0 o superior.
- Osteopenia se define como menor que -1.0 y mayor que -2.5.
- Osteoporosis se define como -2.5 o inferior, lo que significa una densidad ósea que es dos y media desviaciones estándar por debajo del promedio de una mujer de treinta años de edad.

Administración

La terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa descrita en la presente puede administrarse, por ejemplo, por inyección, por vía intravenosa, intraarterial, subdérmica, intraperitoneal, intramuscular o subcutánea. Preferentemente, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se administra por vía intravenosa, con una dosificación que varía en el intervalo de aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 ó 80 U/kg, administrada en semanas alternas, o de acuerdo con los requisitos del compuesto en particular. Los métodos en la presente descripción contemplan la administración de una cantidad eficaz de compuesto o composición del compuesto para lograr el efecto deseado o indicado. Típicamente, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se puede administrar como una infusión continua, por ejemplo, una infusión continua durante 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, o 150 minutos. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación simple variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Una preparación típica contendrá desde 5% a 95% del compuesto

activo (p/p). Alternativamente, estas preparaciones contienen desde 20% a 80% del compuesto activo.

Puede que se requieran dosis inferiores o superiores a las indicadas anteriormente. Los regímenes de dosificación y tratamiento específicos para cualquier sujeto en particular dependerán de una variedad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico que se emplee, la edad, peso corporal, estado de salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, la severidad y curso de la enfermedad, afección o síntomas, la disposición del sujeto a la enfermedad, afección o síntomas, y el juicio del médico tratante.

Tras la mejora de la condición de un sujeto, una dosis de mantenimiento de un compuesto, composición o combinación de esta invención se puede administrar, si es necesario. Posteriormente, la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas, se pueden reducir, en función de los síntomas, a un nivel en el que se mantiene la afección mejorada. Los sujetos pueden, sin embargo, requerir un tratamiento intermitente a largo plazo si vuelven a aparecer los síntomas.

Un compuesto, composición o combinación de esta invención puede administrarse como una terapia a domicilio (por ejemplo, en la casa del sujeto, lugar de trabajo, y otro entorno no clínico (por ejemplo, no hospital)). Este puede administrarse (por ejemplo, a través de infusión) por un profesional de la salud (por ejemplo, una enfermera o asistente del médico). Por ejemplo, si el sujeto no ha experimentado un evento adverso (AE) (por ejemplo, un EA grave relacionado con el fármaco o un EA relacionado con la infusión, por ejemplo, un evento descrito en la presente), por ejemplo, después de uno, dos, o tres administraciones (por ejemplo, a través de infusión) del compuesto, composición o combinación, el sujeto es elegible para recibir terapia a domicilio para las administraciones posteriores.

Composiciones farmacéuticas

Una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa) se puede incorporar en una composición farmacéutica para la administración a un sujeto. Tales composiciones incluyen típicamente, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en la presente descripción, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable o adyuvante" incluye disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Compuestos activos suplementarios también se

pueden incorporar en las composiciones. El término "vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable " se refiere a un vehículo o adyuvante que se puede administrar a un sujeto, junto con la glucocerebrosidasa, y que no destruye la actividad farmacológica de ésta y no es tóxico cuando se administra en dosis suficientes para entregar una cantidad terapéutica de la glucocerebrosidasa.

Una composición farmacéutica se formula para que sea compatible con su ruta de administración prevista. Los ejemplos de rutas de administración incluyen parenteral, por ejemplo, intradérmica intravenosa y subcutánea. Las soluciones o suspensiones que se usan para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral se puede encerrar en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico.

Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen agua estéril para inyección, solución salina fisiológica, agua bacteriostática, CREMOPHOR EL ™ (BASF, Parsippany, NJ) o tampón fosfato salino (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y fluida hasta el punto que sea fácilmente inyectable. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción de contaminación de los microorganismos tales como bacteria y hongos. El portador puede ser un medio de dispersión o solvente que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propileno glicol, y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de éstos. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse por varios agentes antibacteriales y antimicóticos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares tales como sacarosa, polialcoholes tales como manitol, sorbitol cloruro de sodio. La

absorción prolongada de las composiciones inyectables puede producirse incluyendo en la composición un agente que retarda la absorción, por ejemplo, monoestearato alumínico y gelatina.

La composición farmacéutica puede incluir, por ejemplo, agua estéril para inyección, sacarosa, citrato de sodio, ácido cítrico y polisorbato.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación de la glucocerebrosidasa en la cantidad requerida en un solvente adecuado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido por la esterilización con filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación del compuesto activo 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 soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son secado al vacío y liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución estéril previamente filtrada de éste.

Es ventajoso formular las composiciones parenterales en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y por la uniformidad de la dosis. La forma de dosis unitaria como se usa en la presente descripción se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para el sujeto a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido.

Las composiciones farmacéuticas se pueden incluir en un contenedor, paquete o dispensador junto con instrucciones para su administración.

Kit

Una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, velaglucerasa) se puede proporcionar en un kit. El kit incluye: (a) la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, por ejemplo, una composición que incluye la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, y (b) material informativo. El material informativo puede ser descriptivo, de instrucción, comercialización u otro material que se refiera a los métodos descritos en la presente y/o el uso de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa para los métodos descritos en la presente. Por ejemplo, el material informativo describe métodos para la

administración de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher.

En una modalidad, el material informativo puede incluir instrucciones para administrar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa de una manera adecuada, por ejemplo, en una dosis, forma de dosificación, o modo de administración adecuados (por ejemplo, una dosis, forma de dosificación, o modo de administración descrito en la presente). En otra modalidad, el material informativo puede incluir instrucciones para la identificación de un sujeto adecuado, por ejemplo, un humano. El material informativo de los kits no se limita en su forma. En muchos casos, el material informativo, por ejemplo, instrucciones, se proporciona en material impreso, por ejemplo, un texto, figura, y/o fotografía impresos, por ejemplo, una etiqueta o una hoja impresa. Sin embargo, el material informativo también se puede proporcionar en otros formatos, tales como Braille, material legible por computadora, grabación de vídeo o grabación de audio. En otra modalidad, el material informativo del kit es un enlace o información de contacto, por ejemplo, una dirección física, dirección de correo electrónico, hipervínculo, página web, o número de teléfono, donde un usuario del kit puede obtener información sustantiva sobre el modulador y/o su uso en los métodos descritos en la presente. Por supuesto, el material informativo también se puede proporcionar en cualquier combinación de formatos.

Además de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, la composición del kit puede incluir otros ingredientes, tales como un disolvente o tampón, un estabilizador o un conservante, y/o un segundo agente para tratar la enfermedad de Gaucher. Alternativamente, los otros ingredientes se pueden incluir en el kit, pero en composiciones o contenedores diferentes del de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. En tales modalidades, el kit puede incluir instrucciones para mezclar la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa y los otros ingredientes (por ejemplo, reconstituir una terapia liofilizada y/o diluir la terapia reconstituida antes de la administración), o para el uso de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa junto con los otros ingredientes.

La terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa puede proporcionarse en cualquier forma, por ejemplo, en forma líquida, seca o liofilizada. Se prefiere que la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa sea sustancialmente pura y/o estéril. Cuando la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se proporciona en una solución líquida, la solución líquida preferentemente es una solución acuosa, se prefiere una solución acuosa estéril.

Cuando la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se proporciona como una forma seca, la reconstitución generalmente es mediante la adición de un disolvente adecuado. El disolvente, por ejemplo agua, estéril o tampón, opcionalmente se puede proporcionar en el kit.

El kit puede incluir uno o más recipientes para la composición que contiene la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. En algunas modalidades, el kit contiene recipientes separados, divisores o compartimentos para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una composición) y el material informativo. Por ejemplo, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una composición) puede estar en una botella, vial o jeringa, y el material informativo puede estar en un paquete o manguito de plástico. En otras modalidades, los elementos separados del kit están dentro de un solo recipiente, no dividido. Por ejemplo, la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una composición) está en una botella, vial o jeringa que tiene unido a la misma el material informativo en forma de una etiqueta. En algunas modalidades, el kit incluye una pluralidad (por ejemplo, un paquete) de recipientes individuales, cada uno contiene una o más formas de dosificación unitaria (por ejemplo, una forma de dosificación descrita en la presente) de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una composición). Por ejemplo, el kit incluye una pluralidad de jeringas, ampollas, paquetes de papel de aluminio, o paquetes de tipo burbuja, cada uno contiene una sola dosis unitaria de la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa. Los recipientes de los kits pueden ser herméticos y/o impermeables.

La terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa (por ejemplo, en una composición) se puede administrar a un sujeto con la enfermedad de Gaucher. El método puede incluir evaluar un sujeto, por ejemplo, como se describe en la presente y de ese modo identificar un sujeto con necesidad de tratamiento con la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa.

Los siguientes ejemplos proporcionan modalidades ilustrativas de la invención. Alguien con experiencia en la materia reconocerá las numerosas modificaciones y variaciones que se pueden realizar sin alterar el espíritu o el alcance de la presente invención. Tales modificaciones y variaciones están comprendidas dentro del alcance de la invención. Los ejemplos no limitan en modo alguno la invención.

EJEMPLOS

La introducción de la terapia enzimática impactó significativamente la historia natural de la enfermedad de Gaucher tipo I. Desafortunadamente, la existencia de una opción terapéutica única representa una vulnerabilidad inherente en el tratamiento de pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I. Aproximadamente 15% de los pacientes tratados con imiglucerasa reportaron el desarrollo de anticuerpos IgG y aproximadamente la mitad de estos pacientes reportaron síntomas de hipersensibilidad (Starzyk K. *y otros, Molec Genet Metab.* 2007; 90:157-163). A nivel mundial, la dependencia de un único producto en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher se subraya por la reciente escasez de imiglucerasa (Steinbrook R. *y otros, N Engl J Med.* 2009; 361:1525-1527). Entre aquellos que reciben infusiones de imiglucerasa, un número desconocido de pacientes requiere de pre-medicación para mitigar una potencial respuesta mediada por el sistema inmune. En algunos casos los pacientes requieren de hidrocortisona, que a su vez está asociada con riesgos médicos, que incluyen AVN. Además, datos publicados recientemente sugieren que el 59% de los pacientes de GD1 tratados con imiglucerasa no alcanzaron al menos un objetivo terapéutico tras un mínimo de 4 años de tratamiento independientemente de la dosis y duración del tratamiento (Weinreb N. *y otros, Am J Hematol.* 2008; 83: 890-895).

La alfa velaglucerasa es una nueva terapia de reemplazo enzimático (ERT, por sus siglas en inglés) con características únicas (secuencia salvaje de aminoácidos y un alto contenido α-manosil) que la distingue de la imiglucerasa. Algunos de los ejemplos que se proporcionan a continuación describen los ensayos clínicos y estudios de extensión para evaluar la seguridad y eficacia de la alfa velaglucerasa. Estos son el primer ensayo clínico con una ERT para poner en práctica la reducción de dosis y terapia a domicilio.

Ejemplo 1: Estudios TKT025 y TKT025EXT

Sumario

Este ejemplo describe un ensayo abierto Fase I/II de nueve meses, en un centro único con alfa velaglucerasa (TKT025) y el estudio de extensión en curso (TKT025EXT) que se lleva a cabo para evaluar la seguridad y eficacia de la alfa velaglucerasa.

El objetivo principal del ensayo Fase I/II fue evaluar la seguridad de la alfa velaglucerasa administrada por vía intravenosa en una dosis de 60U/kg en semanas alternas durante nueve meses

en pacientes adultos con síntomas de enfermedad de Gaucher tipo I (GD1) (no neuropática). El objetivo secundario de este estudio fue evaluar la actividad clínica de la alfa velaglucerasa sobre las características clave de la enfermedad (Barton NW. *y otros, N Engl J Med.* 1991; 324:1464-1470). El estudio de extensión se diseñó de manera similar para evaluar la seguridad a largo plazo y evaluar los efectos de la alfa velaglucerasa en cuatro mediciones de la enfermedad, concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado y volumen del bazo (Barton NW. *y otros, N Engl J Med.* 1991; 324:1464-1470).

Doce pacientes adultos con síntomas de la enfermedad de Gaucher tipo I y bazos intactos recibieron alfa velaglucerasa (60 U/kg/infusión) durante la Fase I/II. Originalmente trece pacientes se seleccionaron para participar en el estudio, pero uno se excluyó debido a la presencia de anticuerpos anti-imiglucerasa. Un estudio de extensión se ofreció a los pacientes que completaron el ensayo y se instituyó una reducción de la dosis paso a paso (para 30 U/kg/infusión). Once pacientes completaron la Fase I/II; diez entraron en el estudio de extensión, nueve pacientes alcanzaron 39 meses en la extensión. No se observaron eventos adversos graves, abandonos, ni anticuerpos relacionados con el fármaco. La terapia a domicilio se aplicó con éxito durante la extensión. Se observaron mejorías estadísticamente significativas ($p < 0.004$) en el porcentaje de cambio promedio de la línea de base a nueve meses y de la línea de base a 48 meses para la hemoglobina ((+19.2%, +21.7% respectivamente), conteo de plaquetas (+67.6%, +157.8%, respectivamente), volumen normalizado del hígado (-18.2%, -42.8%, respectivamente), y volumen normalizado del bazo (-49.5%, -79.3%, respectivamente). Estos cambios clínicos significativos y el perfil de seguridad conllevaron a ensayos Fase III y a poner de relieve el potencial de la alfa velaglucerasa como terapia alternativa para la enfermedad de Gaucher tipo I.

Métodos

El estudio Fase I/II y de extensión se realizaron en un solo centro (Clínica de Gaucher, Centro Médico Shaare Zedek, Jerusalén, Israel).

Pacientes: Se seleccionaron adultos sintomáticos, confirmados enzimáticamente como pacientes con GD1. Los criterios de selección fueron: edad $\geq$ 18 años, un bazo intacto, anemia relacionada con la enfermedad (valor de hemoglobina al menos 1g/dl por debajo del límite inferior normal (LLN) para el género), trombocitopenia (recuento de plaquetas por debajo del LLN), y un resultado negativo para el antígeno de la hepatitis B y C y el virus de la inmunodeficiencia humana.

Los pacientes eran elegibles si no recibieron ERT previamente o no recibieron imiglucerasa dentro de los 12 meses anteriores a la inscripción y eran negativos para anticuerpos contra imiglucerasa. Los pacientes se excluyeron si habían recibido una terapia en investigación para cualquier otra indicación ≤ 30 días antes de la inscripción, o si no podían cumplir con el protocolo ya sea por razones médicas o no médicas.

Preparación y Dosificación: La alfa velaglucerasa la suministró Shire HGT como un producto liofilizado y la envió a 2°-8°C. El producto se reconstituyó con agua estéril para inyección, libre de conservantes. La cantidad apropiada de alfa velaglucerasa (en base al peso corporal) se mezcló lentamente con solución salina normal para un volumen final de 100 ml. La alfa velaglucerasa diluida se administró por vía intravenosa a través de un filtro de 0.2 μm por un período de 60 minutos (velocidad máxima de 1.5 mg/kg/hora; 1 U/kg/min).

Durante el estudio Fase I/II, los tres primeros pacientes recibieron alfa velaglucerasa en un programa de cada dos semanas en el lugar del ensayo. El escalado de la dosis se llevó a cabo para los tres primeros pacientes, para los cuales se duplicó la dosificación de una dosis inicial de 15 U/kg hasta una dosis final de 60 U/kg. El segundo y tercer paciente recibieron su infusión inicial de 15 U/kg sólo después que se completó un período de observación de 7 días para los pacientes primero y segundo respectivamente. Una vez que el tercer paciente recibió una dosis única de 60 U/kg y se observó por un período de 7 días, nueve pacientes adicionales se inscribieron y recibieron infusiones de 60 U/kg cada dos semanas para un total de 20 dosis. Los pacientes que se sometieron al escalado de dosis se continuaron en un programa cada dos semanas durante 17 infusiones adicionales de 60 U/kg para un total de 20 infusiones.

Durante el estudio de extensión, todos los pacientes continuaron en 60 U/kg/infusión cada dos semanas. Después de aproximadamente 6-9 meses del estudio de extensión, los pacientes que consiguieron al menos 2 de los 4 objetivos terapéuticos para mejora de la anemia, trombocitopenia, hepatomegalia y/o esplenomegalia (Pastores GM. *y otros, Semin Hematol.* 2004; 41:4-14) hicieron la transición a 45 U/kg/infusión cada dos semanas durante tres meses y luego la transición a 30 U/kg/infusión cada dos semanas. Esta convención de reducción de dosis en función del logro de los objetivos terapéuticos está de acuerdo con las recomendaciones para la individualización de la ERT en pacientes con imiglucerasa (Andersson HC. *y otros, Genet Med.* 2005; 7:105-110).

Además, los siete pacientes que residen en Israel hicieron la transición a la terapia a domicilio durante la fase de extensión.

Evaluaciones de seguridad: La seguridad se evaluó a través del estudio de evaluaciones de efectos adversos cada dos semanas (incluidas las reacciones relacionadas con la infusión), medicación concomitante, y signos vitales, realizados antes, durante y después de las infusiones. Se llevaron a cabo evaluaciones de seguridad adicionales aproximadamente cada 12 semanas e incluyeron exámenes físicos, pruebas de laboratorio clínico (hematología, bioquímica sanguínea, análisis de orina, y prueba de embarazo), los electrocardiogramas de 12 derivaciones y ecocardiogramas en el lugar del ensayo. Se realizaron determinaciones de la presencia de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa a intervalos de 3 meses en Shire HGT.

Ensayos de anticuerpos: Todos los participantes se examinaron para anticuerpos circulantes anti-alfa velaglucerasa, mediante el uso de un ELISA indirecto validado. Las placas de micropocillos se recubrieron con alfa velaglucerasa, se lavaron, y se bloquearon con albúmina de suero bovino para limitar la unión no específica de anticuerpos. Se incubaron muestras de suero de pacientes diluidas 100 veces en tampón fosfato salino que contenía 0.05 % de Tween 20 durante 60 minutos a 37 °C. Los pocillos se lavaron y se incubaron después con el anticuerpo secundario adecuado conjugado con peroxidasa de rábano (HRP). Se probaron por separado con los siguientes anticuerpos secundarios específicos de isotipos, conjugados a HRP: 1) de cabra anti- Fc de IgG humana, 2) de cabra anti- cadena α de IgA humana, 3) de cabra anti- cadena μ de IgM humana, o 4) cabra anti- cadena ε de IgE humana. Los pocillos se lavaron una última vez y se incubaron con el sustrato cromogénico de HRP 3, 3', 5, 5' tetrametil bencidina. La reacción se detuvo mediante la adición de ácido sulfúrico 2N, y la absorbancia de cada pocillo se cuantificó a 450 nm (A_{450}) mediante el uso de un lector de placas Molecular Devices SPECTRAmax Plus384 y del software SOFTmax PRO. Se obtuvieron muestras de suero, positivas para anticuerpos, de pacientes que recibían imiglucerasa. Estos anticuerpos de pacientes mostraron reacción cruzada con la alfa velaglucerasa y se usaron como controles positivos humanos en el ensayo de detección de anticuerpos anti-velaglucerasa. Por tanto, estos sueros fueron positivos tanto para anti-imiglucerasa y anti-alfa velaglucerasa. Dentro de cada placa de ensayo se incluyeron controles de suero humano negativos, así como positivos.

Se estableció para el ELISA positivo de anticuerpo, un robusto punto de corte de absorción para anticuerpos anti-alfa velaglucerasa a partir de la absorbancia media de las muestras de suero de pacientes de Gaucher que no recibieron ERT previamente (N=108). El análisis paramétrico de los datos de absorbancia del ELISA se usó para calcular el límite inferior de anticuerpos positivos (la media más 1.645 x desviaciones estándar, donde 1.645 es el 95° por ciento de la distribución normal, por lo tanto, aceptación potencial de 5% de falsos positivos) para cada isotipo de anticuerpo (Mire-Sluis AR. *y otros, J Immunol Methods.* 2004; 289:1-16). El fondo de A_{450} del ELISA para las muestras de suero de Gaucher que no recibieron ERT previamente se calculó que era 0.040 para todos los ensayos de isotipos de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa. El punto de corte positivo del ELISA de anticuerpos se estableció como una relación de ≥ 2.0 y una $A_{450} \geq 0.040$, donde la relación es la A_{450} de una muestra del paciente tomada en cualquier punto de tiempo, dividida por la A_{450} de la muestra del paciente tomada en la línea de base antes del primer tratamiento con la ERT. Cualquier muestra que excediera el punto de corte positivo del ELISA tendría que confirmarse por un ensayo de radioinmunoprecipitación cuantitativa y probarse para anticuerpos neutralizantes, sin embargo ninguna de las muestras cumplieron los criterios de corte establecidos (Mire-Sluis AR. *y otros, J Immunol Methods.* 2004; 289:1-16).

Actividad Clínica: Las evaluaciones de eficacia principal de la concentración de hemoglobina y conteo de plaquetas se evaluaron a los intervalos trimestrales predeterminados. Se midieron los volúmenes del hígado y del bazo mediante el uso de MRI cuantitativa del abdomen (en el aparato del mismo modelo) se realizó en la línea de base, seis y nueve meses (Centro Médico Universitario Hebreo en Hadassah), y a los 24, 33 y 45 meses (en la unidad de imagen MOR-MAR) durante el estudio de extensión. Los volúmenes del hígado y del bazo se evaluaron al final del ensayo por un radiólogo que no conocía la identidad del paciente y la secuencia en que se realizaron las imágenes de MRI cuantitativa del abdomen. La quitotriosidasa y el CCL18 se midieron en el Academic Medical Center, Amsterdam, Países Bajos.

Análisis estadístico: La población de seguridad, que era también la población con intención de tratar, se definió como todos los pacientes incluidos que recibieran al menos una infusión (parcial o total) de la alfa velaglucerasa, y se usó para todas las actividades clínicas. No se usó ninguna imputación.

Para los principales parámetros de actividad clínica de, concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, y volúmenes del hígado y del bazo, la hipótesis nula es que no hay diferencia entre el valor de la línea de base y el valor al final del estudio (nueve meses), y el valor de la línea de base y el valor al final de 48 meses (es decir, la diferencia entre los miembros de cada par de observación tiene un promedio de valor cero.) Las comparaciones se realizaron mediante el uso de hipótesis de dos colas al nivel de 5% de significación. Las diferencias entre los valores de la línea de base y los períodos finales se analizaron mediante el uso de la prueba de rangos de Wilcoxon. Los cambios desde la línea de base se calcularon y los porcentajes de cambios desde la línea de base se resumieron mediante el uso de la estadística descriptiva.

Para parámetros secundarios de actividad clínica, los datos observados, el cambio de la línea de base y el cambio porcentual de la línea de base se resumieron por visita, se incluyeron, el promedio, el error típico (SE) y la mediana. Ninguna prueba estadística formal se aplicó a estos conjuntos de datos.

Resultados del estudio TKT025 (9 M, 60 U/kg de alfa velaglucerasa)

La alfa velaglucerasa se toleró bien y los pacientes no desarrollaron anticuerpos. Se observaron mejorías clínicas estadísticamente significativas en los parámetros hematológicos y volúmenes de órganos tan temprano como de 3 a 6 meses (**Tabla 1**).

Tabla 1 Resultados clínicos para TKT025 (N=12)

Actividad clínica Parámetro	**Valor de línea de base promedio**	**Cambio promedio de línea de base ± desviación estándar**		
		Mes 3	**Mes 6**	**Mes 9**
Concentración de hemoglobina (g/dl)	10.95	1.24 ± 0.90	1.92 ± 0.82	2.24 ± 0.89
Conteo de plaquetas (x 10^9/l)	57.5	8.9 ± 11.20	23.4 ± 24.63	40.6 ± 30.68
Hígado (% de peso corporal)	4.43	NA	-0.67 ± 0.64	-0.79 ± 0.48
Bazo (% de peso corporal)	3.63	NA	-1.62 ± 0.67	-1.89 ± 0.75

Demografía y disposición: Un total de trece pacientes se examinaron y todos dieron su consentimiento para participar en este estudio, un paciente (0004) se excluyó debido a anticuerpos contra imiglucerasa. Todos los pacientes estaban sin tratamiento previo en el advenimiento de acuerdo con el protocolo en virtud de no haberse expuesto a ninguna terapia específica de Gaucher en los 12 meses anteriores a la inscripción, aunque en el pasado más lejano, 2 pacientes (0008 y 0009) cada uno recibió 3 infusiones de imiglucerasa, un paciente (0003) se expuso al Miglustat, y dos pacientes (0005 y 0007) se expusieron a miglustat e imiglucerasa.

La población con intención de tratar (**Tabla 2**) incluyó doce pacientes que recibieron al menos una dosis de alfa velaglucerasa, de los cuales 11 pacientes (92%) completaron el estudio Fase I/II (un paciente, 0006, abandonó después de una repentina muerte en la familia, retiró su consentimiento después de que recibió tres infusiones).

En el momento de la inscripción en el ensayo Fase I/II, siete pacientes (58%) eran mujeres; la edad promedio fue 41.7 años (SD ± 17.3, intervalo 19-70), el peso promedio fue 59.6 kg (SD ± 9.1 intervalo 50 a 73) y la altura promedio fue 169 cm (SD± 8.0, intervalo 160 a 184). Dos pacientes (16.7%) presentaban necrosis avascular (NAV) de la articulación de la cadera en el momento de la inscripción y otro tenía una lesión destructiva en cada tobillo. **La Tabla 2** proporciona las características demográficas, genotípicas y clínicas de la línea de base del estudio, así como los hallazgos clínicos de cada uno los pacientes que se pretendía tratar, en los principales puntos de recolección de datos dentro de los estudios Fase I/II.

Tabla 2 Datos demográficos y características del paciente

				Hemoglobina g/dl					Plaquetas, 10/l					Volumen del bazo normalizado, múltiplo del normal					Volumen del hígado normalizado, múltiplo del normal				
Paciente	Edad	Sexo	Genotipo	BL	6 Mes	9 Mes	24 Mes	48 Mes	BL	6 Mes	9 Mes	24 Mes	48 Mes	BL	6 Mes	9 Mes	24 Mes	45 Mes	BL	6 Mes	9 Mes	24 Mes	45 Mes
1	24	F	N370S/N370S	10.8	12.2	12.5	12.4	12.7	80	123	149	155	130	17.5	11.0	10.0	8.0	6.5	2.3	1.8	1.9	1.5	1.2
2	62	M	N370S/L444P	12.7	14.1	14.8	14.3	14.2	69	74	90	127	142	11.0	7.5	6.0	4.0	3.0	1.0	1.0	0.9	1.0	0.8
3	35	M	N370S/Otro	13.5	15.7	16.5	15.7	16.0	48	95	128	140	151	17.5	8.0	6.5	·	·	2.2	1.6	1.7	1.3	1.2
5	35	F	N370S/N370S	10.6	11.7	12.0			52	68	72			32.5	23.0	24.5			1.7	1.8	1.6		
6	44	F	N370S/IVS2+1	10.9					56					16.0					2.1				
7	42	F	N370S/N370S	10.5	12.5	12.5	13.8	13.0	37	32	39	42	95	21.0	13.5	13.0	7.0	4.0	1.8	1.7	1.6	1.4	1.0
8	23	F	N370S/RecNc1	10.0	12.1	11.8	12.7	14.2	65	137	150	154	203	19.0	9.0	7.0	3.5	3.5	2.2	1.6	1.6	1.2	1.2
9	25	M	N370S/RecNc1	12.6	15.8	15.9	15.8	15.1	69	97	120	178	183	28.0	12.5	10.0	4.0	2.5	2.0	1.4	1.4	1.1	0.9
10	60	F	N370S/N370S	10.1	11.1	12.5	12.4	12.4	48	60	86	121	139	19.0	11.0	8.5	3.5	3.0	1.4	1.2	1.0	0.8	0.8
11	18	F	N370S/Otro	11.0	13.8	13.6	13.6	12.6	59	98	110	122	130	15.0	9.0	8.0	5.0	3.5	1.4	1.1	1.0	1.1	0.8
12	69	M	N370S/N370S	13.5	14.4	14.1			59	65	99			13.0	9.0	7.5			1.0	1.0	1.0		
13	56	M	N370S/V394L	12.9	15.9	16.6	15.4	16.0	46	40	36	111	135	19.5	10.0	8.0	4.5	2.5	1.0	0.8	0.8	0.8	0.7

Los datos demográficos del paciente y las características en la línea de base del estudio y en los puntos de evaluación seleccionados durante los ensayos Fase I/II y de extensión, que incluyen los últimos valores se recogieron para cada parámetro clínico para la cohorte. Los volúmenes normalizados del hígado y del bazo se definieron como un 2.5% y un 0.2% respectivamente del peso corporal total en kilogramos (Pastores GM. *y otros, Semin Hematol.* 2004; 41:4-14). Múltiplos de lo normal es el volumen del órgano observado dividido por el volumen del órgano normalizado. A los 24 meses, todos los pacientes demostraron normalización de las concentraciones de hemoglobina y todos, excepto un paciente demostró conteo de plaquetas mayor que $100*10^9$/l. BL, línea de base, Mo, mes, M, masculino, F, femenino, * volumen del bazo no interpretable debido a artefactos técnicos.

Los resultados de imágenes por resonancia magnética (MRI) del hígado y del bazo fueron a ciegas y los interpretó un único revisor para minimizar la desviación. La recogida de datos de la línea de base de otros parámetros clínicos, que incluyeron las PFT (pruebas de función pulmonar), MRI de los fémures y la columna vertebral lumbar y densitometría también se realizaron en diversos puntos temporales durante todo el estudio.

El estudio comprendió 2 fases, una fase de escalado de dosis y una fase de dosis continua. Durante la fase de escalado de dosis, el primer paciente se inscribió y se le administró por vía intravenosa (IV) alfa velaglucerasa 15 U/kg, y luego se siguió por 7 días para la valoración de la seguridad. Después que se confirmó la seguridad para el primer paciente, se reclutaron 2 pacientes adicionales, se inscribieron y se les administró por vía intravenosa alfa velaglucerasa 15 U/kg y se siguieron durante 7 días para la valoración de seguridad. Después que se confirmó la seguridad para los 3 pacientes que recibieron la dosis de 15 U/kg, las próximas dos dosis más altas (30 y 60 U/kg) se administraron de la misma manera. Una vez que se confirmó la seguridad para los 3 pacientes, se inscribieron 9 pacientes adicionales y se les administró la dosis de 60 U/kg. Todos los pacientes recibieron entonces la dosis de 60 U/kg cada dos semanas para un total de 20 dosis de alfa velaglucerasa.

La farmacocinética (PK) en humanos se evaluó en las semanas 1, 3, 5, y 37/39 en TKT025. Otros estudios de PK se llevaron a cabo en la semana 65 del estudio TKT025EXT. La alfa velaglucerasa se eliminó rápidamente de la sangre con una cinética de eliminación de primer orden en cada evaluación. Los valores de eliminación de la vida media para los pacientes después de la exposición inicial a la alfa velaglucerasa y tras la administración repetida de la alfa velaglucerasa fueron similares. En contraste, los valores de distribución del volumen aparente y de eliminación se redujeron después de la administración repetida de la alfa velaglucerasa.

Se observó un aumento promedio estadísticamente significativo a partir de los valores de la línea de base de la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas 3 meses después del inicio de la dosificación de 60 U/kg de alfa velaglucerasa dos veces por semana en el estudio de TKT025. En la semana 25 (mes 6) en TKT025, las concentraciones promedio de hemoglobina fueron 13.57 g/dl (dentro del intervalo normal) y se mantuvieron dentro de intervalos normales para el resto del estudio. Al final del estudio, 10 de 11 pacientes experimentaron normalización de la concentración de hemoglobina. Se observaron aumentos estadísticamente significativos a partir de los valores de la línea de base (57.3 x $10^3/mm^3$) en el conteo de plaquetas promedio en la

semana 13 (mes 3) y continuaron a lo largo del estudio. La semana 37, el conteo de plaquetas promedio había aumentado a 98.1 x $10^3/mm^3$.

Además, se observaron reducciones estadísticamente significativas a partir de los valores de la línea de base en los volúmenes de hígado y bazo medios y normalizados (corregidos por el porcentaje de peso corporal), a 6 (semana 25) y 9 meses (semana 37) después de iniciar el tratamiento de alfa velaglucerasa. Marcadas reducciones en los valores de biomarcadores (quitotriosidasa y quimioquinas en suero (motivo C-C) ligando 18 [CCL18]) se observaron el mes 3. En general, la mejoría promedio de todos estos parámetros fue continua durante el curso de administración de alfa velaglucerasa. Además, cada paciente experimentó mejoría en al menos 2 de los 4 parámetros terapéuticos específicos para la enfermedad de Gaucher (por ejemplo, concentraciones de hemoglobina, conteo de plaquetas y volúmenes de bazo e hígado).

En resumen, **las Figuras 1A-1F** presentan el porcentaje de cambio promedio en los parámetros hematológicos, los volúmenes de órganos, y biomarcadores para el estudio Fase I/II. Un aumento marcado en (a) concentración de hemoglobina y (b) conteo de plaquetas se observó durante las semanas 25 y 37 junto con una reducción marcada en (c) el volumen del hígado y (d) el volumen del bazo. A pesar de que la toma de muestras de biomarcadores para (e) quitotriosidasa y (f) CCL18 fue incompleta, se observó por paciente, una disminución general en el tiempo, de los dos marcadores biológicos respecto al valor de la línea de base. Mejorías estadísticamente significativas ($p < 0.003$) se observaron en el porcentaje de cambio promedio del valor de la línea de base a nueve meses para la concentración de hemoglobina ((+21.7%), conteo de plaquetas (+67.6%), volumen del hígado normalizado (-18.2%), y volumen del bazo normalizado (-49.5%), con mejorías estadísticamente significativas respecto al valor de la línea de base tanto en la concentración de hemoglobina como el conteo de plaquetas que se alcanzaron en los primeros 3 meses (**Figura 2**). En **la Figura. 2**, el porcentaje de cambio promedio en la concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado y volumen del bazo se graficaron en el tiempo y se demarcaron, para ambos estudios, el Fase I/II y el de extensión. Un cambio estadísticamente significativo respecto a la línea de base se observó desde el valor de la línea de base a 9 meses ($p < 0.003$) para cada parámetro. Los cambios más notables se observaron en el conteo de plaquetas y el volumen del bazo.

En TKT025, los 12 pacientes experimentaron una o más EAs (eventos adversos), en total se informaron 103 eventos adversos. Un paciente informó dos EAs (mareos e hiperhidrosis) durante la dosis de 15 U/kg, los restantes 101 eventos adversos se informaron por los pacientes que

recibieron la dosis de 60 U/kg. Los EA que se informaron más frecuentemente fueron mareos, dolor de huesos y dolor de cabeza (5 pacientes cada uno; 41.7%). Artralgia, dolor de espalda, dolor en las extremidades, gripe, dolor abdominal superior, y astenia, cada uno se produjo en 3 pacientes (25%). Todos los EA fueron leves (grado 1), excepto un caso de dolor de huesos, el cual fue de severidad moderada (grado 2) y sin relación con el fármaco del estudio. Ninguno de los 103 EA se consideró severo o con peligro para la vida (grados 3 ó 4). Ningún paciente abandonó el estudio debido a un evento adverso.

La mayoría de los EA que se observaron durante TKT025 se determinaron por el investigador como no relacionados con la administración del fármaco del estudio (**Tabla 3A**). Diez (10) pacientes experimentaron 22 EA que se consideraron posible o probablemente relacionados con el fármaco del estudio, con mayor frecuencia mareos (3 pacientes), dolor de espalda, dolor de huesos, dolor de cabeza, aumento de la temperatura corporal, y náuseas (cada uno 2 pacientes). Nueve (9) pacientes presentaron un total de 17 eventos adversos relacionados con la infusión, los cuales se definieron en el protocolo como un EA que se produjo en el día de la infusión, comenzaron ya sea durante o después de la infusión, y se consideró como posible o probablemente relacionados al fármaco en estudio. Estos EA incluyen mareos, dolor de cabeza, dolor de espalda, dolor de huesos, aumento de la temperatura corporal, cada uno se presentó en 2 pacientes. Todos los eventos adversos relacionados con la infusión se informaron en pacientes que recibieron la dosis de 60 U/kg. A un paciente se le aumentó la dosis a 60 U/kg/infusión cada dos semanas, 24 meses luego de la reducción de dosis, debido al empeoramiento del dolor en los huesos, pero no experimentó ningún alivio después de aumentar la dosis. Por lo tanto, no hubo eventos adversos graves relacionados con el fármaco, independientemente de la configuración de la infusión. No se administraron medicamentos previamente, y ningún paciente abandonó debido a un evento adverso. Ningún paciente desarrolló anticuerpos a la alfa velaglucerasa.

Tabla 3A Eventos adversos derivados del tratamiento determinados por estar posiblemente o probablemente relacionados con la administración de alfa velaglucerasa (GA-GCB) observados durante el ensayo en fase I/II (TKT025)

Término preferido para la clase de órgano del sistema	alfa velaglucerasa 60 U/kg EOW n = 12 pacientes	
	Pacientes, n (%)	Eventos, n (%)

Cualquier evento adverso	10 (83.3)	22 (21.8)
Trastornos del sistema nervioso		
Mareos	3 (25.0)	4(4.0)
Dolor de cabeza	2 (16.7)	2(2.0)
Sensación de ardor	1 (8.3)	1 (1.0)
Migraña	1 (8.3)	3 (3.0)
Temblor	1 (8.3)	1 (1.0)
Trastornos gastrointestinales		
Náuseas	2 (16.7)	2(2.0)
Dolor abdominal superior	1 (8.3)	1 (1.0)
Trastornos del tejido conectivo y musculoesquelético		
Dolor de espalda	2 (16.7)	2(2.0)
Dolor de huesos	2 (16.7)	2(2.0)
Dolor en las extremidades	1 (8.3)	1 (1.0)
Trastornos generales y condiciones del sitio de administración		
Astenia	1 (8.3)	1 (1.0)
Investigaciones		
Temperatura corporal aumentada	2 (16.7)	2(2.0)

Los porcentajes de pacientes se basan en el número total de pacientes en el grupo de tratamiento. Los eventos adversos se codificaron mediante el uso del diccionario MedDRA versión 7.0. EOW: en semanas alternas.

Resultados de TKT025EXT (30-60 U/Kg de alfa velaglucerasa a largo plazo)

Sumario: TKT025EXT es un estudio de extensión abierto, de terapia de alfa velaglucerasa en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I, que completaron el estudio TKT025. El objetivo principal de TKT025EXT fue evaluar la seguridad a largo plazo de la alfa velaglucerasa cuando se administró por vía intravenosa en una dosis de 30 o 60 U/kg cada dos semanas durante un total de 4 años. El objetivo secundario fue continuar la evaluación de los efectos de la alfa velaglucerasa sobre la actividad clínica en estos pacientes, medida en los parámetros hematológicos y las

reducciones en los volúmenes del hígado y del bazo. También se evaluaron la quitotriosidasa y CCL18 plasmática, así como PFT, MRI del cuello femoral y de columna lumbar, estudio del esqueleto, y densitometría ósea.

Diez pacientes se eligieron para participar en este estudio clínico. Después de 60 meses de tratamiento acumulado (TKT025 + TKT025EXT), la alfa velaglucerasa se toleró bien y los paciente no desarrollaron anticuerpos. Se observaron mejorías continuas estadísticamente significativas y clínicamente sostenidas en los parámetros hematológicos y volúmenes de órganos (**Tabla 4**). **La Figura 3** muestra el aumento del promedio de la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas a partir de valores de la línea de base en los pacientes tratados con alfa velaglucerasa durante 60 meses. **La Figura 4** muestra la disminución del promedio del volumen del hígado y del bazo a partir de valores de la línea de base en pacientes tratados con alfa velaglucerasa durante 60 meses.

Tabla 4 Resultados clínicos para TKT025EXT (N=10)

Actividad clínica Parámetro	Valor de línea de base Promedio	Cambio promedio de la línea de base [95% Intervalo de confidencia]			
		Mes 24	Mes 36[a]	Mes 48[a]	Mes 60[a]
Concentración de hemoglobina (g/dl)	10.90	2.30 [1.78, 2.82]	2.13 [1.59, 2.67]	2.31 [1.66, 2.96]	2.38 [1.60, 3.16]
Conteo de plaquetas (x 10^9/l)	55.5	66.5 [45.3, 87.7]	71.1 [53.6, 88.6]	82.3 [60.1, 104.5]	85.1 [59.8, 110.4]
Hígado (% de peso corporal)	4.40	-1.29 [-1.91, -0.67]	-1.37 [-1.90, -0.84]	-1.74 [-2.40, -1.08]	-1.70 [-2.33, -1.07]
Bazo (% de peso corporal)	3.80	-2.63 [-3.44, -1.83]	-2.69 [-3.51, -1.87]	-2.88 [-3.72, -2.03]	-2.89 [-3.72, -2.06]

a - Los volúmenes del órgano se evaluaron los meses 33, 45 y 57 desde le inicio de TKT025

Demografía y disposición: Al finalizar la semana 41 se evaluaron en TKT025, los pacientes que eran elegibles para participar en TKT025EXT. De los 11 pacientes que completaron el estudio TKT025, 10 pacientes entraron en el estudio TKT025EXT. Un paciente (0012) no dio su consentimiento para entrar en el estudio de extensión debido a la inconveniencia de asistir al hospital en semanas alternas, y un paciente (0005) abandonó el estudio de extensión debido a su

embarazo. **La Tabla 2** proporciona las características demográficas, genotípicas y clínicas en la línea de base, así como los hallazgos clínicos de cada uno de los pacientes que se pretendía tratar en los principales puntos de recogida de datos dentro de los estudios de extensión.

Todos los pacientes incluidos inicialmente recibieron alfa velaglucerasa 60 U/kg cada dos semanas. Las dosis se ajustaron hasta 30 U/kg los pacientes suministrados tuvieron una mejoría en los parámetros hematológicos (concentración de hemoglobina o niveles de plaquetas) y/o mejorías en los volúmenes de órganos (hígado o bazo) después de 1 año de tratamiento acumulativo. Los 10 pacientes incluidos inicialmente en el TKT025EXT cumplieron con los criterios de reducción de la dosis necesaria y realizaron la transición a la dosis de 30 U/kg.

Los 9 pacientes en TKT025EXT tenían datos de concentración de hemoglobina y conteo de plaquetas disponibles hasta el mes 42, mientras que 3 pacientes tenían datos disponibles hasta el mes 45. Los cambios promedio (error estándar [SE]) en la hemoglobina a partir del valor de la línea de base de pretratamiento a los 42 meses fueron 2.18 (0.25) g/dl ($p = 0.004$), lo que corresponde a un porcentaje de cambio medio desde la línea de base de pretratamiento de 19.0%. Con respecto al conteo de plaquetas, el cambio promedio (SE), a partir del valor de la línea de base de pretratamiento fue 82.1 (8.4) x $10^3/mm^3$ ($p = 0.004$) en el mes 42, que corresponde a un porcentaje de cambio promedio a partir del valor de la línea de base de pretratamiento de 149.8%.

Los volúmenes de hígado y bazo normalizados por el porcentaje de peso corporal se analizaron durante el mes 33, los 9 pacientes tenían datos del hígado disponibles y 8 pacientes tenían datos del bazo disponibles para esta evaluación. El cambio promedio (SE) a partir del valor de la línea de base de pretratamiento de los volúmenes normalizados del hígado y del bazo en el mes 33 fue -1.5 (0.22) y -2.8 (0.37), respectivamente. Los resultados corresponden a -34.0% y -73.5%, porcentajes de cambios promedio respecto a la línea de base de pretratamiento para los volúmenes normalizados del hígado y del bazo, ($p = 0.004$ y $p= 0.008$, respectivamente). Se observaron también mejorías adicionales para ambos parámetros de quitotriosidasa y CCL18 plasmáticas.

En resumen, **la Figura 2** presenta el porcentaje de cambio promedio en la concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado y volumen del bazo que se graficaron en el tiempo y se demarcaron para los estudios de extensión. Un cambio estadísticamente significativo se observó a partir del valor de la línea de base hasta 48 meses ($p <0.004$) para cada parámetro. Los cambios más notables se observaron en el conteo de plaquetas y el volumen del bazo. Los

valores de hemoglobina se normalizaron para todos los pacientes por 24 meses. Los volúmenes del hígado se aproximaron a la normalidad. Se observó mejoría continua en estos parámetros clínicos durante todo el estudio de extensión (**Figura 2**) y la normalización de la hemoglobina se observó en todos los pacientes a los 24 meses (**Tabla 2**). El porcentaje de cambio promedio a partir del valor de la línea de base a los 48 meses fue estadísticamente significativo ($p < 0.004$) para la concentración de hemoglobina (+21.7%), conteo de plaquetas (+157.8%), volumen del hígado (-42.8%), y volumen del bazo (-79.3%).

Los datos de seguridad y de actividad clínica para el estudio TKT025EXT disponibles hasta una fecha determinada se analizaron. Los pacientes que se inscribieron en este estudio tuvieron una duración de exposición promedio acumulada de 43.2 meses (intervalo: 13.2-45.0 meses). Se reportó un total de 248 eventos adversos entre todos los 10 pacientes incluidos. La mayoría de los EA fueron de severidad leve a moderada. Se reportaron tres eventos adversos severos (grado 3), considerados por el investigador como no relacionados con el fármaco del estudio, para 2 pacientes (artralgia y hueso con necrosis aséptica en 1 paciente, y dolor de cabeza en 1 paciente). Se reportaron tres (3) EAG (2 eventos de necrosis ósea aséptica en 1 paciente, y un evento de cicatriz en 1 paciente). El investigador consideró cada uno de estos EAG no relacionados con el fármaco del estudio, y cada uno se resolvió sin secuelas. Los efectos adversos más frecuentes derivados del tratamiento fueron la influenza (8 pacientes, 24 eventos), artralgia (8 pacientes, 21 eventos), dolor de cabeza (6 pacientes, 13 eventos), dolor de espalda (6 pacientes, 10 eventos), dolor faringolaríngeo (5 pacientes, 7 eventos), dolor abdominal superior (5 pacientes, 7 eventos), y sangrado gingival, pirexia y fatiga (cada uno 4 pacientes, 4 eventos).

La mayoría de los eventos adversos reportados en TKT025EXT se consideraron por el investigador como no relacionados con el fármaco de estudio (**Tabla 3B**). Se reportó un total de 7 eventos adversos relacionados con el tratamiento en 4 pacientes, que incluyeron epistaxis (2 pacientes, 1 evento cada uno), dolor abdominal (1 paciente, 1 evento), dolor abdominal superior (1 paciente, 1 evento), fatiga (1 paciente, 1 evento), y aumento del dolor (1 paciente, 1 evento). Dos pacientes experimentaron un EA relacionado con la infusión cada uno: moderada (grado 2) dolor en las extremidades en 1 paciente, y leve temblor (grado 1) en un paciente. Por lo tanto, no hubo eventos adversos graves relacionados con el fármaco, independientemente de la configuración de la infusión. Además, ningún paciente tuvo un evento adverso relacionado con la infusión que requiriese la interrupción de la administración de la alfa velaglucerasa.

Ningún paciente desarrolló anticuerpos a la alfa velaglucerasa. Durante el primer año del estudio de extensión los siete residentes de Israel hicieron la transición a la terapia a domicilio con éxito.

Tabla 3B Eventos adversos derivados del tratamiento determinados por estar posiblemente o probablemente relacionados con la administración de alfa velaglucerasa (GA-GCB) observados durante el estudio de extensión (TKT025 EXT)

Término preferido para la clase de órgano del sistema	alfa velaglucerasa 30 U/kg - 60 U/kg EOW	
	Pacientes, n (%) n=10	Eventos, n (%) N=311
Cualquier evento adverso relacionado	4 (40.0)	7 (2.8)
Trastornos del sistema nervioso		
Temblores	1 (10.0)	1 (0.32)
Trastornos respiratorios, torácicos o mediastínicos		
Epistaxis	2 (20.0)	2 (0.6)
Trastornos gastrointestinales		
Dolor abdominal	2 (20.0)	2 (0.6)
Trastornos del tejido conectivo y musculoesquelético		
Dolor en las extremidades	1 (10.0)	1 (0.3)
Trastornos generales y condiciones del sitio de administración		
Fatiga	1 (10.0)	1 (0.3)

Los porcentajes de pacientes se basan en el número total de pacientes en la población de seguridad. Los porcentajes de pacientes se basan en el número total de eventos que experimentan los pacientes en la población de seguridad. Los eventos adversos se codificaron mediante el uso del diccionario MedDRA versión 9.0. EOW: en semanas alternas.

Resultados de la densidad mineral ósea en pacientes de enfermedad de Gaucher tipo I en TKT025 y TKT025EXT

Se evaluaron los cambios de densidad mineral ósea (DMO) a largo plazo, en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I que se trataron con alfa velaglucerasa. Los pacientes demostraron una mejoría significativa y continua en la DMO.

Evaluaciones: Durante la inscripción en TKT025, el reconocimiento del esqueleto y la absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA) se usaron para evaluar la patología esquelética. La puntuación Z de la columna lumbar y cuello femoral se analizaron en momentos predeterminados a lo largo del estudio. Para algunos pacientes, se realizaron exploraciones de DEXA, pero la puntuación Z no se pudo evaluar a partir de las exploraciones. Las puntuaciones Z faltantes incluyeron: un paciente - cuello femoral en la línea de base y mes 9, un paciente - columna lumbar en la línea de base, y un paciente - cuello femoral en el mes 9. Las puntuaciones Z de la columna lumbar y el cuello femoral tampoco se evaluaron para dos pacientes después de que ellos abandonaron el estudio: un paciente antes del mes 24 y un paciente antes del mes 57.

La puntuación T se usa para comparar la densidad ósea a un "joven normal", adulto sano de 30 años de edad, con una densidad ósea máxima. El estado clínico de los huesos en la línea de base y 69 meses se caracterizó de acuerdo a los criterios de la OMS para la puntuación T $\geq$ -1 es normal; > -2.5 y < -1 es osteopenia, $\leq$ -2.5 es osteoporosis.

Métodos:

Población de análisis: El análisis primario se realizó en la población con intención de tratar (ITT) (N=10), que se definió como, todos los pacientes que firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio de extensión a largo plazo y recibieron $\geq$ 1, dosis total o parcial de alfa velaglucerasa. El efecto de la alfa velaglucerasa en la densidad mineral ósea también se evaluó en subgrupos que recibieron o no recibieron bisfosfonatos concomitantes con la ERT.

Metodología estadística: Las puntuaciones Z faltantes de la línea de base se sustituyeron por el siguiente valor. El análisis de la última observación que se realizó (LOCF) se usó para el resto de las puntuaciones Z faltantes. Se usaron modelos lineales mixtos como un análisis de las medidas repetidas para analizar las puntuaciones Z con el tiempo. El intercepto Y- y la estimación de la pendiente, que muestran el aumento anual de las puntuaciones Z, se mostraron. Un cambio

de la osteoporosis a la osteopenia o normal, y de osteopenia a la normalidad se registraron y se informaron.

Resultados

Características de la línea de base: Todos los pacientes incluidos en TKT025EXT tenían patología ósea relacionada con la GD1. El estado clínico de la patología ósea de la columna lumbar (LS) fue: 1 paciente (10%) estaba en el intervalo normal; 8 pacientes (80%) tenían osteopenia y 1 paciente (10%) tenía osteoporosis. El estado clínico de la patología ósea del cuello femoral (FN) fue: 1 paciente (10%) estaba en el intervalo normal; 5 pacientes (50%) tenían osteopenia, y 4 pacientes (40%) pacientes que tenían osteoporosis. Las puntuaciones Z de DXA fueron (media [intervalo]): LS, -1.8 [-2.9 a -0.4], FN -1.5 [-2.9 a -0.2]. A lo largo de 69 meses, el promedio de dosis de alfa velaglucerasa fue de 40 U/kg. Cuatro de cada diez pacientes también se trataron con bifosfonatos.

La puntuaciones Z: Las puntuaciones Z en la línea de base y en diversos puntos de tiempo de la población ITT (n = 10), los pacientes que recibieron bisfosfonatos concomitantes, y los pacientes que no recibieron bisfosfonatos se muestran en **las Tablas 5-7**, respectivamente. Los cambios temporales en las medias de las puntuaciones Z de columna lumbar y cuello femoral también se muestran en **las Figuras 5** y **6**, respectivamente.

Tabla 5 Puntuaciones Z; N=10, ITT

Tiempo	puntuaciones Z	
	Columna lumbar Promedio [95% CI]	**Femur Promedio [95% CI]**
Valores de la línea de base	-1.59 [-2.17, -1.01]	-1.46 [-2.11, -0.81]
Mes 9	-1.50 [-2.05, -0.95]	-1.39 [-2.06, -0.72]
Mes 24	-1.20 [-1.80, -0.60]	-1.23 [-2.04, -0.42]
Mes 33	-1.16 [-1.80, -0.52]	-1.07 [-1.82, -0.32]
Mes 45	-1.12 [-1.72, -0.52]	-1.14 [-1.86, -0.42]
Mes 57	-1.07 [-1.68, -0.46]	-1.10 [-1.89, -0.31]
Mes 69	-0.91 [-1.55, -0.27]	-1.06 [-1.83, -0.29]

Tabla 6 Puntuaciones Z; n=4 [con bisfosfonatos]

Tiempo	puntuaciones Z	
	Columna lumbar Promedio [95% CI]	**Femur Promedio [95% CI]**
Valores de la línea de base	-1.88 [-3.25, -0.50]	-1.70 [-3.13, -0.27]
Mes 9	-1.90 [-3.14, -0.66]	-1.68 [-3.15, -0.20]
Mes 24	-1.78 [-2.89, -0.66]	-1.75 [-3.52, 0.02]
Mes 33	-1.68 [-3.14, -0.21]	-1.45 [-3.19, 0.29]
Mes 45	-1.60 [-2.74, -0.46]	-1.48 [-3.23, 0.28]
Mes 57	-1.50 [-2.96, -0.04]	-1.40 [-3.25, 0.45]
Mes 69	-1.23 [-2.78, 0.33]	-1.48 [-3.22, 0.27]

Tabla 7 Puntuaciones Z; n=6 [sin bisfosfonatos]

Tiempo	puntuaciones Z	
	Columna lumbar Promedio [95% CI]	**Femur Promedio [95% CI]**
Valores de la línea de base	-1.40 [-2.22, -0.58]	-1.30 [-2.30, -0.30]
Mes 9	-1.23 [-1.97, -0.50]	-1.20 [-2.22, -0.18]
Mes 24	-0.82 [-1.57, -0.06]	-0.88 [-2.03, 0.26]
Mes 33	-0.82 [-1.62, -0.02]	-0.82 [-1.91, 0.28]
Mes 45	-0.80 [-1.64, 0.04]	-0.92 [-1.95, 0.11]
Mes 57	-0.78 [-1.55, -0.01]	-0.90 [-2.07, 0.27]
Mes 69	-0.70 [-1.61, 0.21]	-0.78 [-1.91, 0.34]

Los cambios en las puntuaciones Z de la columna lumbar (LS) y cuello femoral (FN) a partir de las puntuaciones Z de línea base durante un curso de 69 meses se muestran en la**Tabla 8**.

Tabla 8

Visita programada	sin bisfosfonatos n=6	Bisfosfonatos* n=4	Población ITT N=10
	Cambio en la columna lumbar a partir de las puntuaciones Z de la línea base (95% CI)		
Mes 9	0.17 (-0.03, 0.36)	-0.03 (-0.18, 0.13)	0.09 (-0.04, 0.22)

Mes 24	**0.58 (0.08, 1.09)**	0.10 (-0.27, 0.47)	**0.39 (0.06, 0.72)**
Mes 33	0.58 (-0.06, 1.22)	0.20 (-0.14, 0.54)	**0.43 (0.06, 0.80)**
Mes 45	**0.60 (0.03, 1.17)**	0.28 (-0.12, 0.67)	**0.47 (0.14, 0.80)**
Mes 57	**0.62 (0.05, 1.18)**	0.38 (-0.04, 0.79)	**0.52 (0.20, 0.84)**
Mes 69	**0.70 (0.16, 1.24)**	0.65 (-0.04, 1.34)	**0.68 (0.35, 1.01)**
	Cambio en el cuello femoral a partir de las puntuaciones Z de la línea base (95% CI)		
Mes 9	0.10 (-0.03, 0.23)	0.03 (-0.18, 0.23)	0.07 (-0.02, 0.16)
Mes 24	0.42 (-0.04, 0.87)	-0.05 (-0.47, 0.37)	0.23 (-0.08, 0.54)
Mes 33	**0.48 (0.10, 0.87)**	0.25 (-0.13, 0.63)	**0.39 (0.16, 0.62)**
Mes 45	**0.38 (0.18, 0.59)**	0.23 (-0.15, 0.60)	**0.32 (0.17, 0.47)**
Mes 57	**0.40 (0.06, 0.74)**	0.30 (-0.20, 0.80)	**0.36 (0.14, 0.58)**
Mes 69	**0.52 (0.22, 0.81)**	0.23 (-0.25, 0.70)	**0.40 (0.18, 0.62)**

P≤0.05 vs valor de la línea base

Como se muestra en la **Tabla 8**, la DMO de la población con intención de tratar mejoró significativamente en 24 meses (LS: 0.39 (0.06, 0.72)) y 33 meses (FN: 0.39 (0.16, 0.62). DMO para los pacientes que no recibieron bifosfonatos concomitantes mejoró significativamente a 24 meses (LS: 0. 8 (0.08, 1.09)) y 33 meses (FN: 0.48 (0.10, 0.87)).

Puntuaciones Z estimadas por el modelo mixto lineal: Las puntuaciones Z (población ITT, n = 10, IC 95%) fueron significativamente menores que la población de referencia (intercepto -Y de LS = -1.56 [-2.09, -1.03], *P*<0.0001) y FN (intercepto -Y = -1.42 [-2.06, -0.79], *P*=0.0007). Ambos parámetros mejoraron significativamente con el tiempo (pendiente de LS por mes = +0.011 [0.005, 0.017], *P*= 0.0021 (pendiente +0.011 unidades de puntuación Z /mes corresponde a +0.132/año), pendiente de FN por mes = +0.007 [0.004, 0.009], *P*= 0.0005 (pendiente +0.007 unidades de puntuación Z/mes corresponde a +0.084/año)).

Entre los pacientes que sólo recibieron alfa velaglucerasa (n = 6, IC 95%), puntuación Z, intercepto-Y de LS fue -1.29 [-1.97, -0.62] (*P* = 0,0045), intercepto -Y de FN fue de -1.24 [- 2.21, -0.27] (*P* = 0.0216) y se observó mejoría significativa en el tiempo [pendiente LS por mes = +0.013 [0.002, 0.024] (*P*=0.028) (corresponde a +0.158 por año), pendiente FN por mes = +0.009 [0.004, 0.013] (*P*=0.0055) (corresponde a +0.103 por año).

Entre los pacientes que recibieron bifosfonatos de forma concomitante (n = 4, IC 95%), puntuación Z, intercepto Y- de LS fue -1.97 [-3.06, -0.88] (*P* = 0.0104), intercepto -Y de FN fue -1.71 [-3.02, -0.40] (*P*=0.0252) y se observó mejoría en el tiempo [pendiente LS por mes = +0.009

[0.001, 0.017] (*P*=0.0351) (corresponde a +0.111 por año), la pendiente FN por mes = +0.004 [-0.001, 0.010] (*P*=0.0867) (corresponde a +0.048 por año).

En un modelo lineal mixto basado en un análisis de una base de datos de observación (Grupo de Colaboración Internacional de Gaucher del Gaucher Registry), los pacientes GD1 tratados con la ERT imiglucerasa tuvieron puntuaciones Z significativamente más bajas que la población de referencia al inicio del seguimiento (n = 340, intercepto -Y -1.17, P <0.001) (Wenstrup *y otros*, *J Bone Min Res.* 2007; 22: 119-26). Sin embargo, una mejoría de respuesta a la dosis se observó en las pendientes por año de la puntuación Z (15 U/kg [n = 113]: +0.064; 30 U/kg [n=116]: +0.086; 60 U/kg [n=111]: +0.132, todas p <0.001) (Wenstrup *y otros J Bone Min Res.* 2007; 22: 119-26).

Estado de la DMO en la línea de base y 69 meses: El estado clínico óseo en la línea de base y 69 meses se caracterizó mediante el uso de criterios de la OMS (normal = puntuación T: ≥ -1, osteopenia = puntuación T > -2.5 y < -1; osteoporosis = puntuación T ≤ -2.5). Se observó cambio de estado en los pacientes que recibieron alfa velaglucerasa sin bifosfonatos concomitantes (n = 6). A los 69 meses, dos pacientes LS y uno con osteopenia FN s se normalizaron y un paciente con osteoporótico FN se convirtió en osteopénico. Los cuatro pacientes tratados con bifosfonatos no tuvieron ningún cambio en la categoría de la OMS.

Estimaciones de la pendiente por análisis de medidas repetidas (longitudinal): En el análisis de medidas repetidas, las estimaciones de la puntuación Z [IC 95%] para la población ITT (n = 10) fueron las siguientes: intercepción LS = –1.56 [-2.09, -1.03], *P*<0.0001; pendiente LS (por mes) = 0.011 [0.005, 0.017], *P*=0.0021; intercepto FN = –1.42 [-2.06, -0.79], *P*=0.0007; pendiente LS (por mes) = 0.007 [0.004, 0.009], *P*=0.0005. Un aumento de la pendiente de la columna lumbar de 0.011 por mes corresponde a un aumento de 0.132 por año, y un aumento de la pendiente del cuello del fémur de 0.007 por mes corresponde a un aumento de 0.084 por año.

Estimaciones de la puntuación Z [IC 95%] para los pacientes que no recibieron bifosfonatos (n = 6) fueron los siguientes: intercepto LS = –1.29 [-1.97, -0.62], *P*=0.0045; pendiente LS (por mes) = 0.013 [0.002, 0.024], *P*=0.0280; intercepto FN = –1.24 [-2.21, -0.27], *P*=0.0216; pendiente LS (por mes) = 0.009 [0.004, 0.013], *P*=0.0055. Un aumento de la pendiente de la columna lumbar de 0.013 por mes corresponde a un aumento de 0.158 por año, y un aumento de la pendiente del cuello del fémur de 0.009 por mes corresponde a un aumento de 0.103 por año.

Estimaciones de la puntuación Z [IC 95%] para los pacientes que recibieron bifosfonatos (N = 4) fueron los siguientes: intercepto LS = –1.97 [-3.06, -0.88], *P*=0.0104; pendiente LS (por mes) = 0.009 [0.001, 0.017], *P*=0.0351; intercepto FN = –1.71 [-3.02, -0.40], *P*=0.0252; pendiente LS (por mes) = 0.004 [-0.001, 0.010], *P*=0.0867. Un aumento de la pendiente de la columna lumbar de 0.009 por mes corresponde a un aumento de 0.111 por año, y un aumento de la pendiente del cuello del fémur de 0.004 por mes corresponde a un aumento de 0.048 por año.

El modelo estadístico usó todos los datos disponibles y no se usó imputación de datos.

Conclusiones: En pacientes con enfermedad de Gaucher con osteopenia/osteoporosis en la línea de base que se trataron con alfa velaglucerasa, la DMO mejoró tanto en columna lumbar (mes 24) como en cuello femoral (mes 36). Dado que la dosis de alfa velaglucerasa se redujo de 60 a 30 U/kg/infusión durante el año 2, la mejoría de la patología ósea no fue dependiente de la terapia continua de alta dosis.

Logro de objetivos terapéuticos a largo plazo

Los objetivos terapéuticos se describieron para supervisar el logro, el mantenimiento y la continuidad de la respuesta terapéutica en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I que recibieron la ERT (Pastores G. *y otros*, (2004) *Seminars in Hematology*, 41 (suppl 5): 4–14)

Para comparar el impacto del tratamiento de la alfa velaglucerasa respecto a los objetivos terapéuticos para 5 parámetros clínicos principales de la enfermedad de Gaucher tipo I (anemia, trombocitopenia, hepatomegalia, esplenomegalia y patología ósea), la proporción de pacientes en el objetivo para la anemia, trombocitopenia, hepatomegalia y esplenomegalia en la línea de base se comparó con la proporción que logró cada uno de estos objetivos a los 4 años. Los datos completos para la anemia, trombocitopenia, hepatomegalia, esplenomegalia y patología ósea en la línea de base y 4 años están disponibles para 8 pacientes (3 hombres, 5 mujeres). La proporción que logró el objetivo de la patología esquelética a los 4 años se determinó sobre la base de la mejora de la puntuación Z desde el inicio hasta 4 años. Además, la proporción de pacientes que alcanzaron los 5 objetivos en 4 años se comparó con la proporción en el objetivo para los 5 parámetros en la línea de base.

En la línea de base, ningún paciente se encontraba en el objetivo para todos los parámetros clínicos (**Tabla 9**). Después de 1 año de tratamiento, todos los pacientes mantuvieron los objetivos presentes en la línea de base, y todos alcanzaron objetivos ≥ 2. Los 8 pacientes comenzaron

reducción gradual de la dosis de alfa velaglucerasa 30 U/kg EOW entre 15 y 18 meses. Para 4 años de tratamiento, todos los pacientes cumplieron el objetivo para los 5 parámetros clínicos, por lo tanto, se observó un logro de 100% por cada uno de los 5 objetivos terapéuticos a largo plazo (**Tabla 9**).

Tabla 9

	Línea de base	Año 4
Anemia	4/8 (50%)	8/8 (100%)
Trombocitopenia	0/8 (0%)	8/8 (100%)
Hepatomegalia	4/8 (50%)	8/8 (100%)
Esplenomegalia	0/8 (0%)	8/8 (100%)
Patología esquelética	----------	8/8 (100%)
Los 5 objetivos	**0/8 (0%)**	**8/8 (100%)**

La patología esquelética se midió como la mejoría de la densidad mineral ósea (DMO) en el año 4 respecto a la línea de base.

En este estudio Fase I/II y de extensión de alfa velaglucerasa, el logro del objetivo terapéutico clínicamente significativo de cada uno a largo plazo, se observó para cada paciente, a pesar de la reducción de la dosis después de 1 año. Este es el primer informe de una cohorte en la que todos los pacientes que recibieron la ERT para la enfermedad de Gaucher tipo I consiguieron los 5 objetivos terapéuticos a largo plazo, dentro de los 4 años del inicio del tratamiento.

Resumen de los resultados de TKT025 y TKT025EXT

Los hallazgos presentados en este documento demuestran que los eventos adversos asociados con la alfa velaglucerasa fueron generalmente de severidad leve y en su mayoría no estaban relacionados con la terapia. Los efectos adversos derivados del tratamiento fueron leves a moderados y en su mayoría no estaban relacionados con el fármaco. Ninguno de los pacientes reclutados en estos estudios desarrollaron anticuerpos, no se observaron eventos adversos graves relacionados con el fármaco independientemente de la configuración de la infusión o la duración de la exposición, y ningún paciente abandonó el estudio debido a eventos adversos. Tras un periodo inicial de observación en el sitio de estudio, los pacientes elegibles hicieron la transición al domicilio exitosamente, una enfermera administró la alfa velaglucerasa.

La alfa velaglucerasa demostró eficacia en los cuatro parámetros de la enfermedad estudiados con mejorías estadísticamente significativas y clínicamente válidas desde la línea de base, observadas en los primeros seis meses de tratamiento y durante todo el curso del ensayo y del estudio de extensión. Dentro de 24 meses del inicio del tratamiento, todos los pacientes alcanzaron una normalización del nivel de hemoglobina, todos menos un paciente logró conteo de plaquetas de más de 100,000/mm^3, todos los pacientes casi obtuvieron la normalización de los volúmenes del hígado, y todos los pacientes excepto uno mostraron una reducción de más de 50% del volumen del bazo. Además, estas mejorías se observaron a lo largo de la duración de los estudios, que incluyó la fase de reducción de dosis. El único paciente que retornó a la dosis original de 60U/kg/cada dos semanas lo hizo a los 39 meses debido al dolor en los huesos después de una reducción de la dosis inicial a los 15 meses. Este paciente tenía lesiones óseas destructivas en ambos tobillos al momento de la inclusión (las imágenes de patología no pudieron descartar AVN) y tenía una historia previa de osteomielitis. El investigador principal (AZ) atribuyó el empeoramiento del dolor a la lesión destructiva preexistente y la patología previa, y probablemente no relacionado con la reducción de la dosis o el fracaso del tratamiento.

El perfil de seguridad observado, que incluyó la transición al tratamiento a domicilio y los cambios significativos que se observaron en los parámetros clínicos a pesar de la reducción de dosis, llevaron a otros tres ensayos Fase III posteriores para la alfa velaglucerasa (que permitió niños), así como un programa global de acceso temprano, y un protocolo de tratamiento aceptado por la FDA.

Ejemplo 2: Estudio TKT032 (12M, 45 ó 60 U/kg de alfa velaglucerasa)

Ejemplo 2.1: Sumario

En este ejemplo se describe un ensayo global, multicéntrico para evaluar la eficacia y seguridad de la alfa velaglucerasa en GD de tipo I. Veinticinco pacientes con GD de tipo I (edad 4-62 años) anémicos, que no recibieron tratamiento previo, se aleatorizaron a la alfa velaglucerasa por vía intravenosa 60 U/kg (n = 12) o 45 U/kg (n = 13) cada dos semanas durante 12 meses.

Los pacientes se aleatorizaron en una proporción de 1:1 para recibir 45 U/kg (n = 13) o 60 U/kg (n = 12) de alfa velaglucerasa. Los factores de estratificación incluyeron: edad (2-17, ≥ 18) y género (masculino, femenino). Las características de la línea de base de los pacientes se muestran en la **Tabla 10**. Se observaron mejorías clínicas y estadísticamente significativas en los parámetros hematológicos y el volumen del bazo a los 12 meses (**Tabla 11**). **Las Figuras 7** y **8** muestran el

aumento del promedio de la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas, respectivamente, a partir de los valores de la línea de base en los pacientes tratados con 45 U/kg o 60 U/kg de alfa velaglucerasa durante 12 meses. **Las Figuras 9** y **10** muestran la disminución del promedio normalizado del volumen del bazo y del volumen del hígado, respectivamente, a partir de los valores de la línea de base en pacientes tratados con 45 U/kg o 60 U/kg de alfa velaglucerasa durante 12 meses.

Tabla 10 Características de la línea de base de TKT032

Factor de la línea de base	alfa velaglucerasa 45 U/kg N = 13	alfa velaglucerasa 60 U/kg N = 12	Total N = 25
2 a 17 años n (%)	3 (23.1)	4 (33.3)	7 (28.0)
2 a 4 años n (%)	0	1 (8.3)	1 (4.0)
5 a 17 años n (%)	3 (23.1)	3 (25.0)	6 (24.0)
≥ 18 años n (%)	10 (76.9)	8 (66.7)	18 (72.0)
Masculino n (%)	8 (61.5)	7 (58.3)	15 (60.0)
Femenino n (%)	5 (38.5)	5 (41.7)	10 (40.0)
Concentración de hemoglobina (g/dl) Promedio [Min, Máx]	10.90 [8.45, 12.85]	10.83 [7.05, 12.25]	10.85 [7.05, 12.85]
Conteo de plaquetas (x 109/l) Promedio [Min, Máx]	58.00 [13.0, 264.0]	66.75 [47.0, 438.0]	65.50 [13.0, 438.0]

Tabla 11 Resultados clínicos para TKT032 (N=25)

	n	Valores de la línea de base promedio	Cambio promedio desde la línea de base al mes 12	95% CI	valor-p
Punto final primario					

Hemoglobina 60 U/kg	12	10.83	2.43	[1.72, 3.14]	< 0.0001
Punto final secundario					
Hemoglobina 45 U/kg	13	10.90	2.44	[1.49, 3.39]	0.0001
Plaquetas 60 U/kg	12	66.75	50.88	[23.97, 77.78]	0.0016
Plaquetas 45 U/kg	13	58.00	40.92	[11.20, 70.64]	0.0111
Bazo 60 U/kg	12	2.80	-1.92	[-3.04, -0.79]	0.0032
Bazo 45 U/kg	13	2.90	-1.87	[-3.17, -0.57]	0.0085
Hígado 60 U/kg	12	3.65	-0.84	[-1.58, -0.11]	0.0282a
Hígado 45 U/kg	13	3.50	-0.30	[-0.92, 0.32]	0.3149

a - No estadísticamente significativo después del ajuste para múltiples pruebas.

La alfa velaglucerasa fue bien tolerada. Un paciente desarrolló anticuerpos al final del estudio (12 meses). **La Tabla 12** resume los resultados de la prueba de seguridad TKT032.

Tabla 12 Seguridad TKT032

	Pacientes n(%)		
DESCRIPCIÓN	**alfa velaglucerasa 45 U/kg N = 13**	**alfa velaglucerasa 60 U/kg N = 12**	**Total N = 25**
Eventos adversos no experimentados	2 (15.4)	0	2 (8.0)
Al menos 1 evento adverso experimentado	11 (84.6)	12 (100.0)	23 (92.0)
Al menos 1 evento adverso relacionado con el fármaco experimentado	9 (69.2)	6 (50.0)	15 (60.0)
Al menos 1 evento adverso relacionado con la infusión experimentado	8 (61.5)	6 (50.0)	14 (56.0)
Al menos 1 evento adverso severo o de peligro para la vida experimentado	2 (15.4)	0	2 (8.0)
Al menos 1 evento adverso grave experimentado	0	1 (8.3)	1 (4.0)

Descontinuado debido a un evento adverso	0	0	0
Muertes	0	0	0
Anticuerpos anti-alfa velaglucerasa desarrollados	1 (7.7)	0	1 (4.0)

A los 12 meses, el promedio de la concentración de hemoglobina aumentó (60 U/kg: +23%; +2.4 g/dl [95% intervalo de confianza (IC): 1.5, 3.4; P<0. 001]; 45 U/kg: +24%; +2.4g/dl [95% IC: 1.5, 3.4; P<0.001]), como lo hizo el conteo de plaquetas promedio (60 U/kg: +65.9%; $+51\times10^9$/l [95% IC: 24, 78; P=0.002]; 45 U/kg: +66%; $+41\times10^9$/l [95% IC: 11, 71; P=0.01]). El promedio del volumen del bazo disminuyó (60 U/kg: -50% [95% IC: -62, -39%] de 14.0 a 5.8 múltiplos de lo normal [MN] [P = 0.003], 45 U/kg: -40% [95% IC: -52, -28%], de 14.5 a 9.5 MN [P = 0.009]), como lo hizo el volumen promedio del hígado 60 U/kg: -17% [95% IC: -27, -7%], de 1.5 a 1.2 MN [P = 0.03], 45 U/kg: -6% [95% IC: -18, 6%], de 1.4 a 1.2 MN [P = 0.32]. No se observaron eventos adversos graves relacionados con el fármaco o abandonos. Un paciente desarrolló anticuerpos.

Objetivos del estudio

El objetivo principal de este estudio fue determinar la eficacia de la dosificación de la alfa velaglucerasa cada dos semanas a una dosis de 60 U/kg en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I, según se midió por el aumento de la concentración de hemoglobina.

Los objetivos secundarios de este estudio fueron evaluar la seguridad de la dosificación de la alfa velaglucerasa cada dos semanas en dosis de 60 y 45 U/kg, evaluar la eficacia de la dosificación de la alfa velaglucerasa cada dos semanas a una dosis de 45 U/kg medido por el aumento en la concentración de hemoglobina; evaluar la eficacia de la dosificación de la alfa velaglucerasa cada dos semana a dosis de 60 y 45 U/kg mediante la evaluación de los aumentos en el conteo de plaquetas, disminución de los volúmenes del bazo y del hígado, y disminución de los niveles de quitotriosidasa y quimioquinas (motivo C-C) ligando 18 (CCL18) plasmáticas; para evaluar el efecto de la dosificación de la alfa velaglucerasa en semanas alternas a dosis de 60 y 45 U/kg en la calidad general de vida (QoL), y evaluar la farmacocinética de la dosis única y repetida para la dosificación de la alfa velaglucerasa en semanas alternas cuando se administró a dosis de 60 y 45 U/kg.

Los objetivos terciarios de este estudio fueron determinar el tiempo a partir dee la línea de base para lograr una respuesta de la hemoglobina, que se definió como un aumento en la

concentración de hemoglobina de ≥1g/dl, después de la dosificación de la alfa velaglucerasa en semanas alternas a dosis de 60 o 45 U/kg; evaluar el efecto de la dosificación de la alfa velaglucerasa en semanas alternas a dosis de 60 o 45 U/kg en las pruebas de función pulmonar (PFT) en los pacientes ≥ 18 años de edad, evaluar la velocidad de crecimiento y la clasificación Tanner en pacientes entre 2 y 17 años de edad, evaluar los cambios en la edad esquelética en pacientes entre 2 y 17 años de edad por radiografía de la muñeca y mano izquierda, establecer una línea de base desde la cual evaluar la enfermedad ósea en pacientes entre 2 y 17 años de edad, mediante imágenes de resonancia magnética (MRI) de la columna lumbar y cuello femoral, y establecer una línea de base desde la cual evaluar el efecto a largo plazo de la terapia de alfa velaglucerasa en pacientes con enfermedad ósea local y sistémica relacionada con Gaucher en pacientes ≥ 18 años de edad por: DXA de la columna lumbar y cuello femoral (que incluye imágenes de la corona), y fosfatasa alcalina sérica, reticulaciones de N-telopéptidos (NTx), y reticulaciones de C-telopéptidos (CTX).

Diseño general del estudio

Este fue un estudio multicéntrico, Fase III, aleatorizado, a doble ciegas, de grupos paralelos, de 2 dosis que se diseñó para evaluar la eficacia y seguridad de la terapia de alfa velaglucerasa en pacientes con enfermedad de Gaucher de tipo I.

Este estudio comprendió 5 fases de la siguiente manera: (1) selección: día -21 hasta el día 4; línea de base: día -3 hasta el día 0 (antes de la primera dosis); fase de tratamiento: semana 1 (día 1, primera dosis) hasta la semana 51 (un total de 26 infusiones se administraron por paciente); final de la visita de estudio: semana 53; seguimiento: 30 días después de la infusión final (para los pacientes que interrumpen/abandonan antes de la semana 53 de evaluación, o para los pacientes que completan este estudio, pero no eligen inscribirse en el siguiente estudio clínica a largo plazo).

En la selección, los pacientes que dieron su consentimiento informado por escrito para participar en este estudio se analizaron en base a los criterios de ingreso del estudio para determinar la elegibilidad del estudio y se sometieron a evaluaciones de selección. En particular, los pacientes proporcionaron una muestra de sangre para medir la concentración de hemoglobina. Sólo aquellos pacientes que tenían una concentración de hemoglobina que era al menos 1 g/dl por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género, eran elegibles para continuar en la fase de línea de base. Para fines de análisis estadísticos, una muestra de sangre adicional se recogió en la selección para la evaluación de la concentración de hemoglobina.

Los pacientes que eran elegibles para participar en el estudio después de completar las evaluaciones de detección se sometieron a procedimientos de referencia y evaluaciones (es decir, los días 3 a 0) antes de la primera dosis. Para confirmar que la concentración de hemoglobina fue de al menos 1 g/dl por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género, los pacientes proporcionaron una muestra de sangre en la línea de base. La concentración de hemoglobina se analizó e informó. Sólo aquellos pacientes que tenían una concentración de hemoglobina que era al menos 1 g/dl por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género, tanto en la selección como en la línea de base fueron elegibles para la aleatorización. Para fines de análisis estadísticos, se tomó una muestra adicional de sangre en la línea de base para la evaluación de las concentraciones de hemoglobina. Se llevaron a cabo procedimientos adicionales de línea de base y de evaluaciones antes de la administración de la primera dosis.

Tras la finalización de las evaluaciones de la línea de base y la confirmación de la elegibilidad, los pacientes se aleatorizaron en una relación 1:1 para recibir ya sea alfa velaglucerasa 60 U/kg o alfa velaglucerasa 45 U/kg a través de un programa de aleatorización generado por computadora.

Los pacientes recibieron un total de 26 infusiones IV de medicamentos del estudio a doble ciegas en el centro clínico una vez en semanas alternas durante un total de 51 semanas. Las evaluaciones de seguridad y eficacia se hicieron a intervalos regulares durante el período de tratamiento. Las evaluaciones finales de seguridad y eficacia se hicieron en las visitas en la semana 51 y la semana 53.

La seguridad se evaluó durante todo el estudio por el ensayo de eventos adversos (se incluyeron los eventos adversos relacionados con la infusión), medicación concomitante, y signos vitales. Las evaluaciones de seguridad adicionales, entre ellas, electrocardiograma de 12 derivaciones, exámenes físicos, pruebas de laboratorio clínico (hematología, bioquímica sanguínea y análisis de orina), se realizaron en las semanas 13, 25, 37 y 53. La determinación de la presencia de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa y de anticuerpos neutralizantes de la enzima se llevó a cabo aproximadamente cada 6 semanas hasta la semana 53.

La eficacia se evaluó a través de la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas, el volumen del hígado y el bazo, y niveles de quitotriosidasa y CCL18 de plasma. Las evaluaciones adicionales de eficacia incluyeron la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner, los indicadores de QoL, el crecimiento esquelético y las pruebas de función pulmonar.

Los perfiles farmacocinéticos de dosis única y dosis repetidas de la alfa velaglucerasa también se evaluaron durante el estudio. Las muestras de sangre para estos análisis, se tomaron la semana 1 (día 1) y en la semana 37, respectivamente.

A los pacientes que completaron este estudio se les dio la oportunidad de inscribirse en un posterior estudio clínico a largo plazo. Para los pacientes que eligieron inscribirse en este estudio a largo plazo, ciertas evaluaciones a partir de las visitas de la semana 51 y la semana 53 en TKT032 se usaron como evaluaciones de línea de base, los pacientes recibieron su primera infusión de alfa velaglucerasa para el estudio clínico a largo plazo en la visita de la semana 53, después que se completó el programa de procedimientos de la semana 53 para TKT032. Por lo tanto, la intención era que los pacientes recibieran tratamiento continuo de alfa velaglucerasa a través de los 2 estudios. Los pacientes que completaron el estudio y no optaron por inscribirse en el siguiente estudio clínico a largo plazo tuvieron una evaluación de seguridad por visita al sitio o por teléfono 30 días después de su última infusión de alfa velaglucerasa.

Selección de la población del estudio

De los 39 pacientes que se evaluaron, 14 no fueron elegibles para la aleatorización (12 no cumplían los criterios de inclusión; 2 no cumplieron con los criterios de exclusión). Veinticinco participantes se asignaron al azar a una dosis alfa velaglucerasa de 45 U/kg (n = 13) o 60 U/kg (n = 12). Todos los pacientes aleatorizados que recibieron al menos una infusión (o infusión parcial) se incluyeron en población de pacientes con intención de tratar (ITT).

Los participantes elegibles eran hombres o mujeres de edad ≥ 2 años con enfermedad de Gaucher tipo I diagnosticada (actividad de glucocerebrosidasa deficiente en leucocitos, o por el análisis del genotipo), y anemia relacionada con la enfermedad (niveles de hemoglobina ≥ 1 g/dl por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el sexo del laboratorio local). Los participantes también tuvieron 1 o más de los siguientes: al menos una esplenomegalia moderada (de 2 a 3 cm por debajo del reborde del costal izquierdo) mediante la palpación, trombocitopenia relacionadas con la enfermedad (recuento de plaquetas $<90x10^3$ plaquetas/mm^3) o agrandamiento del hígado palpable con facilidad. Los participantes no podían recibir tratamiento para la enfermedad de Gaucher en los 30 meses anteriores al ingreso al estudio.

Los participantes se excluyeron si tenían una esplenectomía; tenían (o se sospechaba que tenían) enfermedad de Gaucher tipo II o III; eran anticuerpo-positivo o experimentaron un choque

anafiláctico a la imiglucerasa. Otros criterios de exclusión incluyeron tratamiento con cualquier fármaco o dispositivo en investigación relacionado con una enfermedad no-Gaucher dentro de los 30 días previos al ingreso al estudio; prueba positiva de VIH, o hepatitis B o C; anemia exacerbada (relacionada con vitamina B12, ácido fólico, o deficiencia de hierro), o cualquier comorbilidad significativa que pudiera afectar los datos del estudio. Las mujeres embarazadas o lactantes se excluyeron y las mujeres en edad fértil estaban obligadas a usar un método anticonceptivo médicamente aceptable en todo momento.

Tratamientos del estudio

Asignación del tratamiento: Los pacientes se aleatorizaron en una relación 1:1 para recibir: alfa velaglucerasa 60 U/kg cada dos semanas durante 51 semanas (12 pacientes, 26 infusiones), o alfa velaglucerasa 45 U/kg cada dos semanas durante 51 semanas (12 pacientes, 26 infusiones).

Asignación aleatoria: Después de completar las evaluaciones de la línea de base y la confirmación de la elegibilidad, los pacientes se aleatorizaron en una proporción de 1:1 a través de un programa de aleatorización generado por computadora para recibir las infusiones ya sea de alfa velaglucerasa 45 U/kg o 60 U/kg cada dos semanas durante 51 semanas.

La búsqueda de equilibrio en los factores pronósticos fue importante en los ensayos pequeños sobre la base de la eficiencia estadística para los análisis primarios. Para lograr este equilibrio a través de una serie de factores pronósticos (por ejemplo, edad y género) se usaron técnicas de asignación dinámica. Para el procedimiento de aleatorización dinámica, el equilibrio en curso, de los factores de estratificación para el paciente en cuestión influyó en la asignación de los pacientes. Esta técnica usó el enfoque que sugirió Pocock y Simón, y fue muy coherente con la orientación proporcionada en la ICH-9 (Pocock *y otros, Biometrics.* 1975; 31:105-115).

Esquema de tratamiento: Los pacientes recibieron su primera infusión la semana 1. Todos los pacientes se trataron cada dos semanas durante 12 meses (51 semanas), por lo tanto, se administró un total de 26 infusiones de alfa velaglucerasa.

Cálculo de Dosis: La dosis en curso del fármaco en estudio se calculó en base al peso del paciente en la línea de base. Un cambio en el peso de ≥ 5% observado en las semanas 13, 25 ó 37 de la evaluación previa requerirían de un nuevo cálculo de dosis de la medicación del estudio.

Administración de alfa velaglucerasa: La alfa velaglucerasa se administró como una infusión IV continua, tanto para los niveles de dosis de 60 y 45 U/kg. Todas las infusiones se administraron durante un período de 1 hora de duración. Todas las infusiones se reconstituyeron en 4.3 ml de agua estéril para inyección, libre de conservantes, y después se diluyó en solución salina normal (0.9% de cloruro de sodio) para dar un volumen total de 100 ml. Las infusiones del fármaco del estudio se produjeron aproximadamente el mismo día de la semana, pero podían ocurrir cada 14 días (± 3 días) del día del programa con el fin de facilitar la programación de paciente.

Procedimientos de estudio y métodos de recopilación de datos

Genotipado: Todos los pacientes proporcionaron una muestra de sangre en la selección para la genotipificación de la enfermedad de Gaucher y la genotipificación de la quitotriosidasa plasmática.

Historial médico: En la selección, se registró el historial médico completo del paciente. Esto incluyó una revisión de los sistemas del cuerpo, la documentación de los procedimientos médicos en curso y anteriores, y la documentación del uso de la medicación concomitante en curso y previa, y documentación de que el paciente no se había tratado para la enfermedad de Gaucher en los 30 meses anteriores al ingreso al estudio.

Signos vitales: Los parámetros de signos vitales que se recogieron incluyeron pulso, presión sanguínea, frecuencia respiratoria y temperatura. Se siguió el siguiente programa para registrar los signos vitales en las visitas de infusión: inicio de la infusión (dentro de 10 minutos antes de comenzar la infusión), durante la infusión (30 minutos (± 5 minutos)), después de la infusión (dentro de 5 minutos, 30 minutos (± 5 minutos), y 60 minutos (± 5 minutos) después de completar la infusión). En la selección, en la línea de base, y a la semana 53, se recogieron los signos vitales sólo en un momento determinado.

Exámenes Físicos: Los exámenes físicos se realizaron en la selección, línea de base y en las semanas de estudio 13, 25, 37 y 53. Los exámenes físicos incluyeron los siguientes: aspecto general, endocrino, cabeza y cuello, enfermedades cardiovasculares, ojos, abdomen, oídos, genitourinario, nariz, piel, garganta, pecho músculo-esquelético, tórax y pulmones, y neurológico. Además, se realizaron palpaciones del hígado y el bazo durante la investigación para confirmar que el paciente tenía esplenomegalia moderada (de 2 a 3 cm por debajo del reborde costal izquierdo) y un agrandamiento del hígado relacionados con la enfermedad de Gaucher.

Altura y peso: La altura y peso se registró en la línea de base y en las semanas de estudio 13, 25, 37 y 53.

Electrocardiograma de 12 derivaciones: Un ECG de 12 derivaciones se realizó en la línea de base y en las semanas del estudio 13, 25, 37 y 53. Cada ECG de 12 derivaciones incluyó la evaluación de PR, QRS, QT, e intervalos QTc, y la frecuencia cardíaca.

Pruebas de laboratorio clínico: Las muestras de sangre y orina se recogieron como se describe a continuación para las pruebas de laboratorio clínico. Todas las muestras de sangre se tomaron a través de punción venosa.

Hematología: Las muestras de sangre se tomaron en la selección, línea de base, y semanas 13, 25, 37, y 53 para pruebas de hematología completa. Los parámetros hematológicos estudiados fueron los siguientes: conteo sanguíneo completo (CBC) con diferencial, tiempo de tromboplastina parcial activada (aPPT), conteo de reticulocitos (analizados e informados por el laboratorio local del centro clínico), conteo de plaquetas, y tiempo de protrombina (PT). En la selección, línea de base, y en todas las visitas de estudio (excepto en la visita de la semana 1), se tomaron muestras de sangre para medir la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas.

Química del suero: se tomaron muestras de sangre para las pruebas de bioquímica sérica en la selección, la línea de base, y en las semanas de estudio 13, 25, 37 y 53. Los siguientes parámetros químicos séricos se evaluaron: sodio, alanina aminotransferasa, potasio, aspartato aminotransferasa, glucosa, lactato deshidrogenasa, calcio total, gamma glutamil transferasa, proteína total, creatinina fosfocinasa, albúmina, NTx*, creatinina, CTx*, nitrógeno de urea, ácido

fólico (solamente en la selección), bilirrubina total, vitamina B_{12} (solamente en la selección), fosfatasa alcalina* (* los resultados se usaron para la evaluación de biomarcadores óseos).

Análisis de orina: Las muestras de orina se recogieron para análisis de orina en la selección, en la línea de base, y en las semanas de estudio 13, 25, 37 y 53. Los parámetros de análisis de orina que se evaluaron fueron: pH, evaluación macroscópica evaluación microscópica.

Determinación de anticuerpos anti-imiglucerasa en suero: Todos los pacientes tenían una muestra de sangre que se recogió durante la selección sólo para la determinación de anticuerpos anti-imiglucerasa en suero. Los pacientes con un resultado positivo se excluyeron del estudio.

Determinación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa en suero: los pacientes proporcionaron muestras de sangre para medir los anticuerpos anti-alfa velaglucerasa en suero en la línea de base y aproximadamente cada 6 semanas durante la fase de tratamiento (semanas 7, 13, 19, 25, 31, 37, 43 y 49), y en la semana 53. Durante la fase de tratamiento, las muestras de sangre se tomaron antes de la infusión.

Eventos adversos: Los eventos adversos se supervisaron durante todo el estudio desde el consentimiento /asentimiento informado a través de 30 días después de la última infusión para los pacientes que completaron el estudio y no optaron por inscribirse en el estudio clínico a largo plazo desde el estudio previo en la visita de la semana 53. Para los pacientes que completaron este estudio y eligieron inscribirse en el estudio clínico a largo plazo, los eventos adversos se supervisaron desde el consentimiento/asentimiento informado a través de la visita de la semana 53.

Enfermedades previas y concomitantes: enfermedades adicionales presentes en la línea de base se consideraron como enfermedades concomitantes y se documentaron en las páginas correspondientes del CRF del historial médico. Las enfermedades que ocurrieron primero o se detectaron durante el estudio, o el empeoramiento de una enfermedad concomitante durante el estudio, se consideraron como eventos adversos y se documentaron como tal en el CRF.

MRI de hígado y bazo: Los pacientes tenían resonancia magnética del hígado y del bazo al inicio del estudio, la semana 25 y la semana 51. El tamaño del hígado y del bazo se midió mediante el uso de MRI cuantitativa del abdomen.

Niveles plasmáticos de quitotriosidasa: Se tomaron muestras de sangre (aproximadamente 2.5 ml) para la evaluación de los niveles plasmáticos de quitotriosidasa al inicio del estudio, en las semanas 13, 25, 37, y en la semana 53.

Niveles plasmáticos de CCL18: Se tomaron muestras de sangre (aproximadamente 2.5 ml) para la evaluación de los niveles plasmáticos de CCL18 al inicio del estudio, en las semanas 13, 25, 37 y en la semana 53.

Pruebas de calidad de vida: Al inicio del estudio y en la semana 53, la calidad de vida del paciente se evaluó mediante el uso de cuestionarios validados, que incluyeron el Formulario Abreviado 36 (SF-36), versión 2 (para pacientes ≥ 18 años de edad) y el Cuestionario de Salud Infantil (CHQ), PF50 (para pacientes de 5 a 17 años de edad).

Velocidad de crecimiento y clasificación de Tanner: en pacientes de 2 a 17 años de edad, el crecimiento se evaluó al inicio del estudio y en las semanas 13, 25, 37 y 53. La velocidad de crecimiento se calculó mediante el uso de la altura y las medidas de peso, que se registraron en los puntos regulares de tiempo durante este estudio. Las tasas de crecimiento de los pacientes en este estudio se midieron contra tasas de crecimiento de individuos normales de edades similares obtenidas a partir de los datos de altura y peso de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. La clasificación de Tanner se registró al inicio del estudio y en las semanas 13, 25, 37 y 53.

Crecimiento del esqueleto: Los pacientes entre 2 y 17 años de edad se sometieron a radiografía de la mano izquierda y la muñeca al inicio del estudio y en la semana 51 para la evaluación de la edad ósea.

Pruebas de función pulmonar: Al inicio del estudio y en la semana 53, los pacientes ≥ 18 años de edad que se inscribieron en los sitios de estudio con capacidad para realizar la espirometría tuvieron PFT.

La espirometría se realizó de acuerdo a las directrices publicadas por la American Thoracic Society y la European Respiratory Society para la estandarización de la espirometría (American Thoracic Society. Standardization of Spirometry. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152:1107-1136; Quanjer *y otros, Eur Respir J.* 1993; 16(Suppl):5-40)) Tanto la capacidad vital forzada (FVC) y el volumen espiratorio forzado/segundo (FEV_1) se expresaron como valores absolutos y % del valor normal, los cuales se calcularon en base a los valores de referencia publicados para adultos (Hankinson *y otros Am J Respir. Crit Care Med.* 1999; 159:179-187). La altura de pie actual se usó para los cálculos.

Las determinaciones del volumen pulmonar y de la capacidad de difusión (DL_{CO}) se realizaron en el mismo tiempo que la espirometría. Las mediciones de los volúmenes pulmonares incluyeron la capacidad pulmonar total (CPT), y el volumen residual (VR), que se registraron como valores absolutos y % del valor normal en base a los valores de referencia publicados. DL_{CO} también se expresó como valores absolutos y % del valor normal en base a los valores de referencia publicados.

Evaluaciones farmacocinéticas: Para los pacientes ≥ 18 años de edad, las muestras de sangre se tomaron en los siguientes horarios en la semana 1 (día 1) y la semana 37: inmediatamente antes de la primera dosis, durante la infusión (muestra recogida a los 5, 10, 15, 20, 40 y 60 (final de la infusión) minutos), y después de la infusión (muestra recogida a 65, 70, 80, 90, 105 y 120 minutos).

Para los pacientes de 2 a 17 años de edad, las muestras de sangre se tomaron en los siguientes tiempos, semana 1 (día 1) y semana 37: inmediatamente antes de la primera dosis, durante la infusión (la muestra se tomó a 10, 20, 40 y 60 (final de la infusión) minutos), y después de la infusión (la muestra se tomó a 70, 80 y 90 minutos).

Las muestras de suero se evaluaron para determinar la presencia de la alfa velaglucerasa administrada mediante el uso de un inmunoensayo del antígeno glucocerebrosidasa. Los parámetros PK estudiados fueron los siguientes: AUC (área bajo la curva), $C_{máx}$ (concentración máxima en suero), $T_{máx}$ (tiempo hasta la concentración máxima en suero), CL (ml/min/kg) (aclaramiento sérico, normalizado por el peso corporal), V_{ss} (ml) (volumen aparente de distribución

en estado estacionario), V_{ss} (% PC) (V_{ss} normalizado para el peso corporal), MRT (tiempo medio de residencia), y $T_{1/2}$ (vida media de eliminación (analizados con modelos PK apropiados)

Biomarcadores óseos: Al inicio del estudio, sólo los pacientes ≥ 18 años de edad se sometieron a DXA de columna lumbar y cuello femoral, se incluyeron imágenes de la corona, para determinar enfermedad ósea local y sistémica relacionada con Gaucher. La pérdida de hueso y la desmineralización también se evaluaron mediante la medición de la fosfatasa alcalina del suero, NTx, y CTx. Los resultados de estos parámetros se obtuvieron a partir de muestras de sangre que se tomaron para pruebas de laboratorio clínico al inicio del estudio solamente.

En pacientes de 2 a 17 años de edad, se obtuvo MRI del cuello femoral y la columna lumbar en la línea de base (es decir, al mismo tiempo, los pacientes se sometieron a MRI de hígado y bazo). No se esperaba que cualquier efecto del tratamiento fuera evidente para estos parámetros en este estudio, por lo tanto, las mediciones se obtuvieron al inicio del estudio sólo para establecer un punto de referencia desde el cual supervisar estos biomarcadores en el estudio clínico a largo plazo.

Eventos Adversos

Definición de evento adverso: evento adverso (EA) es cualquier cambio nocivo, patológico o no deseado en la función anatómica, fisiológica o metabólica según lo que indican los signos físicos, síntomas y/o cambios de laboratorio que se producen en cualquier fase de un ensayo clínico, y si se consideran o no relacionados con el fármaco de estudio. Esto incluye una exacerbación de una condición pre-existente. Los eventos adversos se recogieron desde el consentimiento/asentimiento informado hasta 30 días después de la última dosis de la medicación del estudio y/o hasta que el caso se resolvió/estabilizó o se alcanzó un resultado, lo que ocurriera primero. Para los pacientes que completaron el estudio y optaron por inscribirse en el siguiente estudio clínico a largo plazo, los eventos adversos se supervisaron desde el momento en que el paciente proporcionó el consentimiento informado a través de la visita de la semana 53 de TKT032.

EA incluyen: empeoramiento (cambio en la naturaleza, severidad o frecuencia) de las condiciones presentes al inicio del estudio; enfermedades intercurrentes, interacciones medicamentosas, eventos relacionados o posiblemente relacionados con medicamentos

concomitantes, valores de laboratorio anormales (esto incluye cambios significativos desde el inicio del estudio dentro del intervalo de lo normal que el investigador considere que es clínicamente importante); alteraciones clínicamente significativas en el examen físico, signos vitales, peso, y ECG.

Además, EA también podría incluir valores de laboratorio inesperados que se pusieron significativamente fuera del intervalo y que el investigador determinó que eran clínicamente significativos.

Definición de evento adverso relacionado con la infusión: Un evento adverso relacionado con la infusión se define como un evento adverso que 1) se inicia durante o dentro de 12 horas después del inicio de la infusión, y 2) se considera como posible o probablemente relacionado con la medicación del estudio. Otros EA que ocurrieron antes de la infusión, junto con los EA asociados con las pruebas y las evaluaciones definidas por el protocolo (por ejemplo, pruebas de laboratorio, ECG y exámenes físicos) los cuales se realizaron antes de la infusión, no se definen como eventos adversos relacionados con la infusión.

Definición de evento adverso grave: Un EA grave (EAG) es cualquier EA que ocurre a cualquier dosis que resulta en cualquiera de los siguientes resultados: muerte, peligro para la vida, requiere la hospitalización del paciente, requiere la prolongación de la hospitalización ya existente, una discapacidad/incapacidad persistente o significativa, y una anomalía congénita/defecto de nacimiento.

Los eventos médicos importantes que no den lugar a la muerte, peligro para la vida, o que requieran hospitalización se pueden considerar como eventos adversos graves cuando, en base a criterios médicos adecuados, se puede poner en peligro al paciente y pueden requerir intervención médica o quirúrgica para prevenir uno de los resultados que se enumeraron anteriormente.

Un EA que pone en peligro la vida se definió como un EA que colocó al paciente, desde el punto de vista del reportero inicial, en situación de riesgo de muerte inmediata a partir de que ocurrió el EA (es decir, que no incluye un EA que, de haber ocurrido en un una forma más severa, podría haber causado la muerte).

Clasificación de eventos adversos y eventos adversos graves: A la hora de evaluar la severidad de los AE se hizo referencia a la escala de calificación de Criterios Comunes de

Toxicidad, versión 3.0, del National Cancer Institute (CTC NCI). Si un EA no se describió en el CTC del NCI, la severidad se registró en base a la siguiente escala. La severidad de todos los EA/EAG se registraron en la página apropiada del CRF como Grado 1, 2, 3 ó 4, correspondientes respectivamente, a una severidad leve, moderada, severa o con peligro para la vida. Grado 1 (leve) se define como no limitación de las actividades habituales. Grado 2 (moderada) se define como una cierta limitación de las actividades habituales, Grado 3 (severa) se define como la incapacidad para llevar a cabo las actividades habituales, y Grado 4 (con peligro para la vida) se define como riesgo inmediato de muerte.

La relación de un evento adverso o un efecto adverso grave con la medicación del estudio a ciegas se determinó por el investigador en base en las siguientes definiciones. "No relacionados" se define como no relacionados con el fármaco del estudio. "Posiblemente relacionado" se define como un evento clínico/anomalía de laboratorio con una secuencia de tiempo razonable a la administración del fármaco en estudio, pero el cual también podría explicarse por una enfermedad concurrente u otros fármacos/químicos. "Probablemente relacionados" se define como un evento clínico/anomalía de laboratorio con una secuencia de tiempo razonable a la administración del fármaco del estudio, poco probable que sea atribuible a enfermedad concurrente u otros fármacos y productos químicos y los cuales siguen una respuesta clínicamente razonable al retirar el fármaco. La asociación del evento clínico/anomalía de laboratorio también debe tener cierta plausibilidad biológica, por lo menos en el terreno teórico.

Aclaración entre grave y severo: El término "severo" se usa a menudo para describir la intensidad (severidad) de un evento específico (como el infarto de miocardio leve, moderado o severo), el evento en sí mismo, sin embargo, puede ser de importancia médica relativamente menor (tales como dolor de cabeza intenso). Esto no es lo mismo que "grave", el cual se basa en los criterios de resultados o de acción que por lo general se asocian con eventos que representan una amenaza para la vida o el funcionamiento. La gravedad (no severidad) y la causalidad sirven como una guía para definir las obligaciones de reportes regulatorios.

Supervisión de eventos adversos y período de observación: A los efectos de este estudio, el período de observación se extendió desde el consentimiento/asentimiento informado hasta la evaluación final del paciente del estudio. Por razones de seguridad, la evaluación final se definió

como la evaluación de la seguridad posterior al estudio, que se llevó a cabo aproximadamente 30 días después de la última infusión, para los pacientes que completaron el estudio y no optaron por inscribirse en el estudio clínico a largo plazo. Para los pacientes que completaron este estudio y eligieron inscribirse en el estudio clínico a largo plazo, los eventos adversos se supervisaron desde el momento en que el paciente dio su consentimiento informado hasta la visita de la semana 53 de TKT032.

Métodos Estadísticos

Metodología estadística general: El análisis estadístico se basó en el principio de ITT para todas las variables de eficacia. El análisis ITT se basó en todos los pacientes aleatorizados que recibieron al menos una infusión (infusión total o parcial). Las estadísticas resumen se proporcionaron para los cambios y los porcentajes de cambio desde la línea de base para cada parámetro por grupo de tratamiento. Se presentaron intervalos de confianza del 95% de dos lados en los cambios promedio y los porcentajes de cambios promedio a partir del valor de la línea de base por grupo de tratamiento para cada punto final.

Los datos continuos recogidos al inicio del estudio y las subsiguientes visitas de estudio se resumieron, y los valores promedio, desviación estándar, mínimo, máximo y mediana para cada variable se tabularon para facilitar la búsqueda de tendencias en el tiempo que podrían ser atribuibles al medicamento de estudio. Las variables categóricas se presentaron en términos de frecuencias y porcentajes. Dentro de los grupos los cambios se analizaron mediante pruebas t pareadas. La significación estadística se definió en el nivel 0.05.

Las características demográficas y de línea de base se resumieron como frecuencias y porcentajes, y los datos se presentaron por medio del uso de estadísticas descriptivas. Se realizaron análisis adicionales específicamente para los pacientes entre 2 y 17 años de edad.

En general, las estadísticas descriptivas y los gráficos se usaron para la presentación de los resultados del estudio, lo que incluyó, si era relevante, gráficos que mostraban el desarrollo en el tiempo para los pacientes de forma individual y para cada grupo de tratamiento.

La seguridad se evaluó sobre la base de los EA que se reportaron, los datos de laboratorio clínico, grabaciones ECG, historias médicas, signos vitales, y exámenes físicos. Además, se analizaron muestras de sangre para la determinación de la presencia de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa.

Prueba de hipótesis: Todas las pruebas de hipótesis fueron de 2 lados, y se realizaron en el nivel de significación de 0.05. Cada variable se cuantificó como un cambio promedio desde la línea de base o porcentaje de cambio promedio desde la línea de base. La hipótesis nula para cada variable que se prueba es que, en la semana 51 o semana 53, no hay ningún cambio desde la línea de base. La hipótesis alternativa es que hay un cambio en cualquier dirección a partir de los valores de la línea de base.

Fallos de la selección: La disposición de todos los pacientes seleccionados para entrar en el estudio se tabuló junto con las razones para el fracaso de la selección. La disposición de todos los pacientes aleatorizados se tabularon por tratamiento y visita, y las razones de la discontinuidad se tabularon por tratamiento.

Justificación del tamaño de la muestra: El tamaño de la muestra para este estudio se escogió para tener un alto poder para detectar una diferencia clínicamente significativa en las concentraciones promedio de hemoglobina desde el inicio del estudio hasta 12 meses. Se requirió un total de 12 pacientes por brazo de tratamiento para el análisis primario. Este número se basó en los resultados del estudio TKT025 Fase I/II, por medio del examen del cambio en el paciente a partir de los resultados al inicio del estudio. Se observó que en la semana 25, el promedio de aumento de la hemoglobina desde el inicio del estudio fue de 1.92 g/dl con una desviación estándar de 0.824. El supuesto fue que la desviación estándar del cambio promedio fue aproximadamente la misma. Por medio del uso de un nivel alfa de 0.05 de dos-lados y si se asume que un cambio de 1 unidad en la hemoglobina se considera clínicamente significativo, la desviación estándar del cambio desde el inicio del estudio es 0.824, entonces se necesitarán 10 pacientes para que el estudio tenga una potencia del 90%. Si se asume una tasa de abandono del 20%, entonces serán necesarios 12 pacientes por grupo de tratamiento. Para reunir datos adicionales de seguridad y para proteger contra el posible abandono de paciente(s), y para lograr la población de pacientes deseada, se pueden incluir hasta 30 pacientes en este estudio.

Poblaciones de análisis: La población principal para el análisis de los datos de eficacia fue la población de pacientes ITT, que se definió como todos los pacientes incluidos y tratados que recibieron al menos una infusión de alfa velaglucerasa (o infusión parcial). Se anticipó que el desgaste de la muestra aleatoria original debido a la falta de datos posteriores al inicio del estudio

sería lo suficientemente pequeño (5% o menos) a fin de minimizar las preocupaciones con respecto a la desviación debido a la exclusión de tales pacientes.

La población de seguridad consistió en todos los pacientes aleatorizados que recibieron al menos una infusión de estudio (o infusión parcial). Cualquier paciente en la población de seguridad que no recibió la infusión de estudio para la cual él o ella se aleatorizó se analizó de acuerdo a la infusión que recibió predominantemente en lugar de al tratamiento al azar. Tales pacientes se excluyeron de la población de pacientes por protocolo (PP). La población de pacientes PP se definió como todos los pacientes aleatorizados que reciben ≥ 80% de las infusiones planificadas, y que tienen evaluaciones al inicio del estudio y a la semana 51 y/o semana 53 válidas.

Análisis de eficacia: La disposición de todos los pacientes seleccionados para entrar en el estudio se tabuló, junto con la(s) razón(es) para el fallo de selección. La disposición de todos los pacientes aleatorizados se tabuló por grupo de tratamiento y visita, y la razón(s) para la discontinuidad(s) se tabuló.

La variable principal de actividad clínica es la concentración de hemoglobina en los pacientes aleatorizados a 60 U/kg de alfa velaglucerasa. El objetivo principal es demostrar la eficacia al mostrar una variación de promedio de la hemoglobina desde el inicio del estudio hasta los 12 meses en los pacientes aleatorizados a 60 U/kg de alfa velaglucerasa. Para fines de análisis, los valores de hemoglobina recogidos en la selección y en la línea de base se promediaron para establecer la línea de base que se usó para calcular el cambio. La hipótesis nula es que no habrá ningún cambio desde el inicio del estudio en las concentraciones de hemoglobina hasta los 12 meses. La diferencia promedio al inicio del estudio hasta los 12 meses se evaluó por medio del uso de una prueba t pareada o la prueba rangos de Wilcoxon. También se presentó un intervalo de confianza del 95% para la diferencia promedio.

Las variables de actividad clínica secundaria y terciaria son: concentraciones de hemoglobina (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) se evaluó para el grupo de 45 U/kg); el conteo de plaquetas (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) se evaluó para ambos grupos de tratamiento), el volumen del bazo (porcentaje de cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 51) se evaluó para ambos grupos de tratamiento; en adición a los valores que se observaron, los volúmenes de los bazos se normalizaron por el peso corporal y también se presentaron por múltiplos de lo normal), el volumen del hígado (porcentaje de cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana

51) se evaluó para ambos grupos de tratamiento; en adición a los valores que se observaron, los volúmenes de hígado se normalizaron por el peso corporal y también se presentaron en múltiplos de lo normal); la quitotriosidasa plasmática (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) se evaluó en ambos grupos de tratamiento, se espera una disminución estadísticamente significativa después de 12 meses de tratamiento); la CCL18 de plasma (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) se evaluó en ambos grupos de tratamiento, se espera una disminución estadísticamente significativa después de 12 meses de tratamiento), la calidad de vida (SF-36 y CHQ) (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) se evaluó en ambos grupos de tratamiento), la respuesta de hemoglobina (el tiempo para lograr una respuesta de hemoglobina, que se define como un aumento de la concentración de hemoglobina ≥ 1g/dl se evaluó en ambos grupos de tratamiento); la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) se evaluó para ambos grupos de tratamiento en los pacientes entre 2 y 17 años de edad), la edad ósea (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 51) se evaluó para ambos grupos de tratamiento, por la medición por radiografía de la mano y muñeca izquierdas, en pacientes de 2 a 17 años de edad); y PFTs (cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) se evaluaron para ambos grupos de tratamiento en pacientes ≥ 18 años de edad).

Para el objetivo secundario que se usó para demostrar un cambio en la media de la hemoglobina desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 53) en los pacientes aleatorizados a 45 U/kg de alfa velaglucerasa, la hipótesis nula es que no habrá ningún cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 51 o semana 53). Para fines de análisis, los valores de hemoglobina recogidos en la selección y en la línea de base se promediaron para establecer la línea de base que se usó para calcular el cambio. La diferencia promedio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 51 o semana 53) se evaluó por medio del uso de una prueba t pareada o la prueba de rangos de Wilcoxon. También se presentó un intervalo de confianza del 95% para la diferencia promedio.

Para los parámetros secundarios restantes, la hipótesis nula es que no habrá ningún cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 51 o semana 53) para cada grupo de tratamiento. Para fines de análisis, los valores de plaquetas obtenidos en la selección y en la línea de base se promediaron para establecer la línea de base que se usó para calcular el cambio para ambos grupos de tratamiento. La diferencia promedio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 51 o semana 53) se evaluó por medio del uso de una prueba t pareada o la prueba

de rangos de Wilcoxon. También se presentó un intervalo de confianza del 95% para la diferencia promedio.

Para el tiempo de respuesta de la hemoglobina, se presentaron las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (límite de producto) para cada grupo de tratamiento. Se obtuvieron la mediana del tiempo y el 95% intervalo de confianza. Los pacientes que no experimentaron el evento al final del estudio (es decir, en la semana 53) se censuraron en la semana 53. Además, se presentó la proporción de pacientes que alcanzaron un nivel de hemoglobina dentro del intervalo normal durante este estudio.

Para los demás parámetros terciarios que examinan el cambio desde la línea de base, la hipótesis nula es que no habrá ningún cambio desde el inicio del estudio hasta los 12 meses (semana 51 o semana 53) para cada grupo de tratamiento. La diferencia media entre el inicio hasta 12 meses (semana 51 o semana 53) se evaluó por medio del uso de una prueba t pareada o la prueba de rangos de Wilcoxon. También se presentó un intervalo de confianza del 95% para la diferencia promedio.

Análisis de seguridad: Todos los pacientes que recibieron al menos una dosis del fármaco del estudio (o una dosis parcial) se evaluaron para seguridad clínica y tolerabilidad. No se realizaron pruebas estadísticas formales en los parámetros de seguridad. La supervisión de la seguridad de los signos vitales, ECG de 12 derivaciones, química clínica, hematología, y análisis de orina se enumeran para cada paciente y los valores anormales se marcaron. Para las variables categóricas, como EA, se tabuló el número y el porcentaje de pacientes que experimentan cada EA. Los EA se resumieron por la severidad del evento. También se expusieron el número y el porcentaje de pacientes que experimentaron EA relacionados con el fármaco, así como EA que no se consideraron relacionados con el fármaco del estudio.

Las evaluaciones de laboratorio clínico (hematología, química del suero, análisis de orina, y la determinación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa) se usaron para evaluar la seguridad de la alfa velaglucerasa.

Análisis de subgrupos: Se realizaron análisis adicionales específicamente para pacientes entre 2 a 17 años de edad. Además, se tuvo en cuenta en el análisis de la severidad de la enfermedad a los valores de línea de base de hemoglobina.

Análisis farmacocinéticos: Los perfiles farmacocinéticos de dosis únicas y repetidas de alfa velaglucerasa se establecieron mediante el análisis de los parámetros estándar PK en la semana 1 y la semana 37, respectivamente.

Resultados

A los 12 meses, el promedio de la concentración de hemoglobina aumentó en ambos grupos (60 U/kg: aumento de 23.3%, +2.4 ± 0.3 g/dl , *P*=0.0001; 45 U/kg: aumento de 23.8%, +2.4 ± 0.5 g/dl, *P* = 0.0001), como lo hizo también el conteo de plaquetas (60 U/kg: aumento del 66%, +51 ± 12 × 10^9/l, *P*=0.0016; 45 U/kg: aumento del 66%, +41 ± 12×10^9/l, *P*=0.0111). El promedio del volumen del bazo disminuyó en ambos grupos (60 U/kg: 50% de disminución, -1.9 ± 0.5% del peso corporal, *P*=0.0032, de 14.0 múltiplos de lo normal [MN] en la línea de base a 5.6 MN, 45 U/kg: 40% disminución, -1.9 ± 0.6% del peso corporal, *P*=0.0085; de 14.5 a 9.5 MN) como hizo el volumen del hígado (60 U/kg: 17% de disminución, 0.8 ± 3% peso corporal, *P*=0.0282, de 1.5 a 1.2. MN; 45 U/kg de peso: 6% de disminución, -0.3 ± 0.3% del peso corporal, *P*=0.3149, de 1.4 a 1.2 MN).

En ambos grupos, las tres cuartas partes de los pacientes alcanzaron un aumento ≥ 1g/dl en la concentración de hemoglobina en la semana 15; en el grupo de 60U/kg, todos los pacientes alcanzaron un crecimiento promedio ≥ 1g/dl en la semana 27 vs la semana 37 para el grupo 45U/kg.

Los pacientes se excluyeron del análisis de quitotriosidasa si tenían 2 copias de la mutación de quitotriosidasa (paciente 6, 45 U/kg) o si tenían una actividad de quitotriosidasa al inicio del estudio menor de 5700 (4 pacientes, 60 U/kg; paciente 15, 45 U/kg). Tras 12 meses de tratamiento, la actividad quitotriosidasa plasmática promedio disminuyó desde el inicio del estudio para ambos grupos de tratamiento: en 83% (IC 95%: -91.15, -74.08%; N=11; p<0,001) en el grupo de 60 U/kg y en 60% (IC 95%: -73.26, -46.63%; N=11, p<0,001) en el grupo de 45 U/kg. La niveles medios de CCL18 también disminuyeron durante 1 año de tratamiento con alfa velaglucerasa 60 U/kg y 45 U/kg en 66% (IC 95%: -77.81, -54.22; p<0,001) y en 47% (IC 95%: -63.37, -30.15%; p<0,001), respectivamente.

La alfa velaglucerasa generalmente se toleró bien sin EA graves relacionados con los fármacos, y ningún paciente abandonó debido a un EA. Los EA más frecuentes fueron dolor de cabeza, nasofaringitis, lesión, artralgia, tos y fiebre. Un solo paciente desarrolló anticuerpos.

En conclusión, en este estudio global, multicéntrico, la alfa velaglucerasa 60 U/kg y 45 U/kg generalmente se toleró bien y fue eficaz como tratamiento de primera línea para adultos y niños con enfermedad de Gaucher tipo I. Ambas dosis se asociaron con una rápida mejoría en los valores de hemoglobina, con la mayoría de los pacientes que responden tan pronto como a las 15 semanas. Todos los parámetros clínicos que se midieron presentaron mejorías clínicamente significativas después de 12 meses, y se observó una mayor respuesta con la alfa velaglucerasa 60 U/kg.

Ejemplo 3: HGT-GCB-039 (9M, 60 U/kg alfa velaglucerasa o imiglucerasa)

Sumario

Este ejemplo describe un estudio multicéntrico, Fase III, aleatorizado, a doble ciegas, de grupos paralelos que se diseñó para comparar la seguridad y eficacia de la terapia de reemplazo de la enzima alfa velaglucerasa con imiglucerasa en el tratamiento de pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I.

El principal objetivo de este ejemplo es demostrar que alfa velaglucerasa no es inferior a la imiglucerasa medida por un cambio en la concentración de hemoglobina desde el inicio del estudio hasta la semana 41 (9M). El objetivo secundario principal es demostrar que no hay diferencias en los aumentos en el conteo de plaquetas o reducciones en los volúmenes de hígado/bazo hasta la semana 41 entre los dos grupos.

Los pacientes se aleatorizaron en relación 1:1 para recibir 60 U/kg de alfa velaglucerasa (N=17) o imiglucerasa (N=17). Las características de los pacientes al inicio del estudio se enumeran en las **Tablas 13** y **14**. Los factores de estratificación incluyeron: edad (2-17, ≥ 18) y el estado de esplenectomía (S; N). Ambos objetivos primarios y secundarios se alcanzaron. Los resultados para las evaluaciones de eficiencia primaria y secundaria se muestran en las **Tablas 15** y **16**, respectivamente. **Las Figuras 11** y **12** muestran el incremento comparable de la concentración promedio de hemoglobina y el conteo de plaquetas, respectivamente, desde el inicio del estudio en los pacientes que se trataron con 60 U/kg de alfa velaglucerasa o imiglucerasa durante 41 semanas. **La Figura 13** muestra el aumento comparable del conteo de plaquetas promedio desde el inicio del estudio en los pacientes sin bazo que se trataron con 60 U/kg de alfa velaglucerasa o imiglucerasa durante 41 semanas. **La Figura 14** muestra la disminución comparable del volumen del hígado normalizado promedio desde el inicio del estudio en los pacientes que se trataron con 60 U/kg de alfa velaglucerasa o imiglucerasa durante 41 semanas. No hubo diferencias significativas en la

seguridad entre la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa. Los eventos adversos derivados de tratamiento se resumen en la **Tabla 17**. Ningún paciente que recibió la alfa velaglucerasa desarrolló anticuerpos (**Tabla 18**). Cuatro pacientes que recibieron imiglucerasa desarrollaron anticuerpos anti- imiglucerasa (**Tabla 18**).

5

Tabla 13 Características de línea de base de ITT HGT-GCB-039

Factor de la línea de base	**alfa velaglucerasa 60 U/kg N = 17**	**imiglucerasa 60 U/kg N = 17**
2 a 17 años n (%)	4 (23.5)	5 (29.4)
2 a 4 años n (%)	0	4 (23.5)
5 a 17 años n (%)	4 (23.5)	1 (5.9)
≥ 18 años n (%)	13 (76.5)	12 (70.6)
Masculino n (%)	8 (47.1)	8 (47.1)
Femenino n (%)	9 (52.9)	9 (52.9)
Esplenectomizado	10(58.8)	10(58.8)
Con el bazo intacto	7(41.2)	7(41.2)
Concentración de hemoglobina BL (g/dl) promedio [Min, Máx]	11.40 [9.65, 14.35]	10.60 [8.10, 13.05]
Conteo de plaquetas BL (x 10^9/l) promedio [Min, Máx]	172.00 [44.0, 310.5]	188.00 [63.0, 430.5]

Tabla 14 Características de HGT-GCB-039 en la línea de base por grupos de edad

Factor de la línea de base	**2-4 Años N = 4**	**>5 Años N = 30**
Masculino n (%)	4(100.0)	12(40.0)
Femenino n (%)	0	18(60.0)
Esplenectomizado	1(25.0)	19(63.3)
Con el bazo intacto	3 (75.0)	11 (36.7)
Concentración de hemoglobina BL (g/dl) promedio [Min, Máx]	9.275 [8.10, 9.70]	11.300 [8.95, 14.35]
Conteo de plaquetas BL (x 10^9/l) promedio [Min, Máx]	70.75 [63.0, 188.0]	176.25 [44.0, 430.5]

Volumen del bazo BL (% peso corporal) promedio [Min, Máx]	8.90 [7.3, 8.9]	1.70 [0.6, 6.3]
Volumen del hígado BL (% peso corporal) promedio [Min, Máx]	5.8 [5.4, 7.0]	3.85 [1.7, 12.2]

Tabla 15 Evaluaciones de eficacia primaria HGT-GCB-039 – Cambio promedio la semana 41 desde la línea de base en CI de un-lado de Hgb para no-inferioridad (alfa velaglucerasa - imiglucerasa)

	Diferencia en el tratamiento desde la línea de base hasta la semana 41					
	Población ITT			**Población por protocolo**		
Parámetro/ Punto final	**N**	**Promedio Tratamiento Diferencia**	**Límite inferior de un 97.5% CI de un-lado**	**N**	**Promedio Tratamiento Diferencia**	**Límite inferior de un 97.5% CI de un-lado**
Concentración de hemoglobina (g/dl)						
	34	0.135	-0.596	30	0.157	-0.599

Tabla 16 Evaluaciones de la eficacia secundaria HGT-GCB-039 – Diferencia en el cambio promedio la semana 41 desde la línea de base (alfa velaglucerasa - imiglucerasa)

	Cambio desde la línea de base hasta la semana 41		
Parámetro	**N**	**Promedio Tratamiento Diferencia**	**95% CI**
Plaquetas[a] (x10^9/l)	34	-38.71	(-88.42, 10.99)
Volumen del hígado normalizado[a] (% de peso corporal)	34	-0.07	(-0.43, 0.29)
Volumen del bazo normalizado[b] [c] (% de peso	14	0.08	(-0.52, 0.68)

corporal)			
Quitotriosidasa [d] (nmol/ml/h)	21	-703.6	(-11762.3, 10355.1)
Ligando de quimocina (motivo C-C) 18 (ng/ml)	34	145.7	(-188.6, 480.0)

a - Basado en un modelo mixto adjustado para la edad con consentimiento informado, valores al inicio del estudio y estado de esplenectomía.

b - Hay 20 pacientes esplenectomizados excluidos (10 alfa velaglucerasa 60 U/kg; 10 imiglucerasa 60 U/kg).

c - Basado en un modelo mixto adjustado para la edad con consentimiento informado y valores al inicio del estudio.

d - Hay 13 pacientes deficientes en actividad quitotriosidasa excluidos (7 alfa velaglucerasa 60 U/kg; 6 imiglucerasa 60 U/kg).

Tabla 17 Sumario general para HGT-GCB-039 de los eventos adversos derivados del tratamiento

	Pacientes n(%)	
DESCRIPCIÓN	**alfa velaglucerasa 60 U/kg N = 17**	**imiglucerasa 60 U/kg N = 17**
Eventos adversos no experimentados	1 (5.9)	1 (5.9)
Al menos 1 evento adverso experimentado	16 (94.1)	16 (94.1)
Al menos 1 evento adverso relacionado con el fármaco experimentado	8 (47.1)	6 (35.3)
Al menos 1 evento adverso relacionado con la infusión experimentado	5 (29.4)	4 (23.5)
Al menos 1 evento adverso severo o de peligro para la vida experimentado	3 (17.6)	2 (11.8)
Al menos 1 evento adverso grave experimentado	3 (17.6)	0
Al menos 1 SAE relacionado con fármacos experimentado	1 (5.9)	0

Tabla 18 Anticuerpos HGT-GCB-039

Resultado anticuerpo anti-imiglucerasa	alfa velaglucerasa 60 U/kg N = 17 n (%)	imiglucerasa 60 U/kg N = 17 n (%)
Negativo	17(100.0)	13 (76.5)
Positivo[a]	0	4 (23.5)
IgG	0	4 (23.5)
IgA	0	0
IgM	0	0
IgE	0	0
Anticuerpos neutralizantes	0	1 (5.9)
Resultados anticuerpo anti-alfa velaglucerasa		
Negativo	17(100.0)	16 (94.1)
Positivo	0	1 (5.9)
IgG	0	1 (5.9)
IgA	0	0
IgM	0	0
IgE	0	0
Anticuerpos neutralizantes	0	1 (5.9)

Objetivos del estudio

El objetivo primario de este estudio fue comparar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa sobre la concentración de hemoglobina en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I.

Los objetivos secundarios de este estudio fueron: comparar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en el conteo de plaquetas, comparar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en los volúmenes de hígado y bazo (por MRI), comparar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa sobre biomarcadores específicos de la enfermedad de Gaucher (quitotriosidasa de plasma y niveles de CCL18); evaluar la seguridad de la

alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I, según se mide por los ensayos estándar de laboratorio clínico (lo que incluye las tasas de formación de anticuerpos y la actividad de anticuerpos que neutralizan la enzima) y evaluaciones de seguridad (lo que incluye las tasas de eventos adversos relacionados con la infusión y la proporción de pacientes que requieren el uso de premedicación para supervisar los eventos adversos relacionados con la infusión) para cada grupo de tratamiento; y comparar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en los tiempos más tempranos de respuesta para la hemoglobina (definido como una mejora ≥1 g/dl en los niveles de hemoglobina con respecto a la línea de base).

Los objetivos terciarios de este estudio son: evaluar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner en pacientes entre 2 y 17 años de edad, evaluar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en cambios en la edad ósea en pacientes entre 2 y 17 años de edad por radiografía de la mano y la muñeca izquierda, evaluar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en los cambios en QoL generales, que se miden por el SF-36 para los pacientes ≥ 18 años de edad y la CHQ PF-50 para los pacientes de 5 a 17 años de edad, evaluar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en las respuestas inmunes e inflamatorias en pacientes ≥ 18 años de edad que se miden por las evaluaciones de citoquinas seleccionadas (TNF-α, IL-6, IL1b, IL8, IL13, CD14, y GM-CSF), establecer una línea de base desde la cual evaluar la enfermedad ósea en pacientes entre 2 y 17 años de edad, por MRI de columna lumbar y cuello femoral; y establecer una línea de base desde la cual evaluar el efecto a largo plazo de la terapia de alfa velaglucerasa sobre la enfermedad ósea local y sistémica relacionada con Gaucher, en pacientes ≥ 18 años de edad por: absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) de la columna lumbar y el cuello femoral, lo que incluye imágenes de la corona; y la fosfatasa alcalina sérica, reticulaciones de N-telopéptidos (NTx), y reticulaciones de C-telopéptidos (CTX).

Puntos finales del estudio

El punto final primario de este estudio es medir el cambio promedio desde el inicio del estudio hasta la semana 41/Fin del estudio (EOS) en la concentración de hemoglobina entre los dos grupos de tratamiento.

Los puntos finales secundarios de este estudio son: evaluar la seguridad de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa, según la evaluación por eventos adversos y eventos adversos

relacionados con la infusión (y la proporción de pacientes que requieren el uso de premedicación para supervisar eventos adversos relacionados con la infusión), valores de laboratorio clínico, signos vitales, electrocardiograma de 12 derivaciones (ECG), la formación de anticuerpos y la actividad de anticuerpos que neutralizan enzimas; comparar el promedio y el porcentaje de cambios desde la línea de base en el conteo de plaquetas entre los grupos de tratamiento; comparar el promedio y el porcentaje de cambio desde la línea de base de los volúmenes del hígado y el bazo por MRI entre los grupos de tratamiento; comparar el promedio y el porcentaje de cambio desde la línea de base de los niveles de quitotriosidasa en el plasma y CCL18 en el plasma entre los grupos de tratamiento; y comparar el tiempo de respuesta para la concentración de hemoglobina (definida como una mejora ≥1 g/dl en los niveles de hemoglobina en relación con los de la línea de base) entre los grupos de tratamiento.

Los puntos finales terciarios de este estudio son: evaluar el cambio desde el inicio del estudio en la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner para pacientes entre 2 y 17 años de edad dentro de cada grupo de tratamiento; evaluar el cambio desde la línea de base en los parámetros SF-36 para pacientes ≥18 años de edad dentro de cada grupo de tratamiento; evaluar los efectos de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en respuestas inmunes e inflamatorias en pacientes ≥18 años de edad, según lo medido por las evaluaciones de citoquinas seleccionadas (TNF-α, IL-6, IL1b, IL8, IL13, CD14, y GM-CSF); evaluar el cambio desde la línea de base en los parámetros CHQ (PF-50) para los pacientes de 5 a 17 años de edad dentro de cada grupo de tratamiento; y evaluar el cambio desde la línea de base en la edad ósea, según la medición por radiografía de la mano y la muñeca izquierda para los pacientes entre 2 y 17 años de edad dentro de cada grupo de tratamiento.

Diseño general del estudio

Este estudio se compuso de 5 fases como sigue: Selección: día -21 hasta día -4; línea de base: día -3 hasta día 0 (aleatorización de los pacientes); tratamiento: semana 1 (día 1, es decir, día de la primera dosis) hasta la semana 39; visita de fin del estudio: semana 41;
Contacto de seguimiento: 30 días después de la infusión final (para los pacientes que interrumpen/abandonan antes de la evaluación de la semana 41, o para pacientes que no eligen inscribirse en el estudio clínico a largo plazo).

En la selección, los pacientes que dieron su consentimiento informado por escrito para participar en este estudio se analizaron contra los criterios de entrada al estudio para determinar la

elegibilidad. Los pacientes proporcionaron muestras de sangre para medir la concentración de hemoglobina. Sólo aquellos pacientes que tenían una concentración de hemoglobina que estaba por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género se eligieron para la inscripción. Para fines de análisis estadísticos, una muestra de sangre adicional se recogió en la selección para la evaluación de la concentración de hemoglobina.

Los pacientes que se eligieron para participar en el estudio después de completar las evaluaciones de selección se sometieron a procedimientos y evaluaciones de la línea de base (es decir, días -3 a 0). Para confirmar que su concentración de hemoglobina estaba por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género, los pacientes proporcionaron una muestra de sangre en la línea de base. La concentración de hemoglobina se analizó e informó. Sólo aquellos pacientes que tenían una concentración de hemoglobina por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género, en selección y en línea de base se eligieron para la inscripción. Para fines de análisis estadísticos, se tomó una muestra adicional de sangre en la línea de base para la evaluación de las concentraciones de hemoglobina. Los procedimientos y evaluaciones adicionales de línea de base se llevaron a cabo antes de la administración de la primera dosis de la medicación del estudio a ciegas.

Al completarse los procedimientos de detección y de línea de base y la confirmación de la elegibilidad del paciente, los pacientes se aleatorizaron en una relación 1:1 para recibir la medicación del estudio a doble ciegas (ya sea alfa velaglucerasa 60 U/kg o imiglucerasa 60 U/kg). La aleatorización se llevó a cabo a través de un procedimiento centralizado. Se usó un programa de aleatorización generado en ordenador para asignar a los pacientes a los grupos de tratamiento. Se intentó obtener grupos de tratamiento que fueran comparables en ciertas variables de pronóstico, tales como la edad, la concentración de hemoglobina, y si el paciente había sido sometido a esplenectomía. El programa de aleatorización se preparó antes del estudio.

Los pacientes recibieron un total de 20 infusiones IV de medicamentos del estudio a doble ciegas en el centro clínico una vez en semanas alternas durante un total de 39 semanas. Las evaluaciones de seguridad y eficacia se hicieron a intervalos regulares durante la fase de tratamiento. Las evaluaciones finales de seguridad y eficacia se hicieron en la visita de la semana 41 (2 semanas después de la última infusión).

La seguridad se evaluó durante todo el estudio por el ensayo de eventos adversos (se incluyeron los eventos adversos relacionados con la infusión), medicación concomitante, y signos vitales. Se realizaron evaluaciones de seguridad adicionales, que incluyeron, electrocardiograma de

12 derivaciones, exámenes físicos, pruebas de laboratorio clínico (hematología, química del suero y análisis de orina), en las semanas 13, 25 y 41. La determinación de la presencia de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa o anti-imiglucerasa y anticuerpos neutralizantes de enzima se llevó a cabo aproximadamente cada 6 semanas hasta la semana 41.

La eficacia se evaluó a través de la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas, el volumen del hígado y el bazo, y niveles de quitotriosidasa y CCL18 de plasma. Las evaluaciones adicionales de eficacia incluyeron la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner, los indicadores de QoL, el crecimiento del esqueleto. La respuesta inmune e inflamatoria (que se midió por los parámetros de citoquinas seleccionadas) se midió en los pacientes que son ≥ 18 años de edad al entrar al estudio.

La duración del tratamiento en este estudio fue de 39 semanas y la duración de la participación del paciente en este estudio fue de hasta 11 meses (desde la selección hasta el seguimiento).

A los pacientes que completaron este estudio se les dio la oportunidad de inscribirse en un estudio clínico abierto a largo plazo posterior, en el que todos los pacientes recibirían la alfa velaglucerasa. Para los pacientes que optaron por inscribirse en estudio clínico abierto a largo plazo posterior, determinadas evaluaciones de la visita de la semana 41 se usaron como evaluaciones de línea de base para este estudio clínico, los pacientes recibirían su primera infusión de alfa velaglucerasa para el estudio clínico a largo plazo tras completar los procedimientos y las evaluaciones de la semana 41 programadas para este estudio. Por lo tanto, se pretendió que los pacientes recibieran un tratamiento continuo a través de los 2 estudios. Los pacientes que completaron el estudio y no eligieron inscribirse en el estudio clínico a largo plazo tendrían una evaluación de seguridad por la visita al sitio o por teléfono 30 días después de su última infusión en este estudio.

Selección de la población del estudio

Se inscribieron 34 pacientes (17 pacientes se asignaron a cada grupo de tratamiento).

Los participantes elegibles eran hombres o mujeres ≥ 2 años con diagnóstico de enfermedad de Gaucher tipo I (actividad de la glucocerebrosidasa deficiente en leucocitos, o por análisis del genotipo) y anemia relacionada con la enfermedad (niveles de hemoglobina por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y sexo del laboratorio local). Los participantes también tenían 1 o más de los siguientes: al menos una esplenomegalia moderada (de 2 a 3 cm por debajo del reborde costal izquierdo) por palpación; trombocitopenia relacionada con la enfermedad (conteo de plaquetas $<120x10^3$ plaquetas/mm^3); o agrandamiento del hígado palpable con facilidad. Los

participantes no recibieron tratamiento para la enfermedad de Gaucher en los 12 meses anteriores al ingreso al estudio.

Los participantes se excluyeron si tenían una esplenectomía; tenían (o se sospechaba que tenían) enfermedad de Gaucher tipo II o III; eran anticuerpo-positivo o experimentaron un choque anafiláctico a la imiglucerasa. Otros criterios de exclusión incluyeron tratamiento con cualquier fármaco o dispositivo en investigación relacionado con una enfermedad no-Gaucher dentro de los 30 días previos al ingreso al estudio; prueba positiva de VIH, o hepatitis B o C; anemia exacerbada (relacionada con vitamina B12, ácido fólico, o deficiencia de hierro), o cualquier comorbilidad significativa que pudiera afectar los datos del estudio. Las mujeres embarazadas o lactantes se excluyeron y las mujeres en edad fértil estaban obligadas a usar un método anticonceptivo médicamente aceptable en todo momento.

Tratamientos del estudio

Asignación del tratamiento: Los pacientes se aleatorizaron en una relación 1:1 antes de la administración de la primera dosis de: alfa velaglucerasa 60 U/kg en semanas alternas durante 39 semanas (hasta 16 pacientes, 20 infusiones), o imiglucerasa 60 U/kg en semanas alternas durante 39 semanas (hasta 16 pacientes, 20 infusiones). Toda la medicación del estudio se administró por infusión IV durante 1 hora para mantener el tratamiento a ciegas.

Administración del tratamiento

Infusiones de las medicaciones del estudio: Las infusiones de las medicaciones del estudio a doble ciegas se administraron en el sitio clínico como una infusión IV continúa de 1 hora para mantener el tratamiento a ciegas. Las infusiones de la medicación del estudio tuvieron lugar aproximadamente el mismo día de la semana, pero ocurrieron cada 14 días ((± 3 días) con el fin de facilitar la programación de los pacientes.

Cálculo de la dosis: La primera dosis de la medicación del estudio a doble ciegas se basa en el peso del paciente al inicio del estudio. Un cambio en el peso de ≥ 5% desde el inicio del estudio o desde la medición registrada más reciente (semana 13 o semana 25) requiere un nuevo cálculo de la dosis de la medicación del estudio.

Descripción de los medicamentos del estudio

ALFA VELAGLUCERASA: La alfa velaglucerasa es un producto liofilizado que se suministra y se envía al sitio de estudio clínico para almacenarse entre 2 y 8°C.

Imiglucerasa (Cerezyme®): Imiglucerasa (Cerezyme) se suministra como un producto liofilizado blanco a casi blanco, estéril, libre de pirógeno.

Procedimientos de estudio y métodos de recopilación de datos

Criterios de entrada en el estudio: En la selección, los pacientes se revisaron para la elegibilidad contra los criterios de entrada en el estudio. Los pacientes que no cumplieron con los criterios de entrada del estudio se consideraron fracasos de la selección.

Confirmación de elegibilidad: En la selección, los pacientes proporcionaron muestras de sangre para medir la concentración de hemoglobina para determinar la elegibilidad para el estudio. Sólo aquellos pacientes que tenían una concentración de hemoglobina que estaba por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género del laboratorio local eran elegibles para la inscripción.

En la línea de base, los pacientes proporcionaron una muestra de sangre para confirmar que su concentración de hemoglobina estaba por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género del laboratorio local. Sólo aquellos pacientes que tenían una concentración de hemoglobina que estaba por debajo del límite inferior de lo normal para la edad y el género, tanto en la detección como en la línea de base se confirmaron elegibles para este estudio.

Genotipado: Todos los pacientes proporcionaron una muestra de sangre en la selección para el genotipado de la enfermedad de Gaucher y el genotipado de la quitotriosidasa plasmática.

Historial médico: En la selección, se registró el historial médico completo del paciente. Esto incluyó una revisión de los sistemas del cuerpo, la documentación de los procedimientos médicos en curso y anteriores, y la documentación del uso de la medicación concomitante en curso y previa, y la documentación de que el paciente no se trataba por la enfermedad de Gaucher en los 12 meses anteriores al ingreso al estudio.

Signos vitales: Los parámetros de signos vitales que se recogieron incluyeron pulso, presión sanguínea, frecuencia respiratoria y temperatura. Se siguió el siguiente programa para

registrar los signos vitales en las visitas de infusión: al inicio de la infusión (dentro de los 10 minutos previos a comenzar la infusión), durante la infusión (30 minutos (± 5 minutos)), después de la infusión (menos de 5 minutos, 30 minutos (± 5 minutos), y 60 minutos (± 5 minutos) después de completar la infusión). En la selección, línea de base, y semana 41, los signos vitales se recogieron solamente en un punto de tiempo.

Exámenes físicos: Los exámenes físicos se realizaron en la selección, línea de base y en las semanas de estudio 13, 25 y 41. Los exámenes físicos incluyeron los siguientes: aspecto general, endocrino, cabeza y cuello, cardiovasculares, ojos, abdomen, oídos, genitourinario, nariz, piel, garganta, músculo esquelético, pecho y pulmones, y neurológicos. Cualquier cambio anormal en la exploración física se registró como un evento adverso en la(s) página(s) adecuada(s) del CRF.

Altura y peso: La altura y el peso se registraron en la línea de base y en las semanas de estudio 13, 25, y la semana 41. Para los pacientes pediátricos (es decir, 2 a 17 años de edad), las evaluaciones de altura y de peso se usaron para determinar la velocidad de crecimiento.

Electrocardiograma de 12 derivaciones: Un ECG de 12 derivaciones se realizó en la línea de base del estudio y en las semanas 13, 25 y 41, e incluyó evaluaciones de PR, QRS, QT y QTc, y frecuencia cardíaca.

Pruebas de laboratorio clínico: Las muestras de sangre y orina se recogieron como se describe a continuación para las pruebas de laboratorio clínico.

Hematología: Las muestras de sangre se recogieron durante la selección y en la línea de base para medir los niveles de hemoglobina para el análisis estadístico. Las muestras de sangre también se recogieron en la selección, la línea de base, y en las semanas 13, 25, y 41 para pruebas de hematología completas. Se evaluaron los siguientes parámetros hematológicos: conteo sanguíneo completo (CBC) con diferencial, conteo de plaquetas, tiempo de tromboplastina parcial activada (APPT), conteo de reticulocitos (que se analizaron e informaron por el laboratorio local del sitio clínico), y el tiempo de protrombina (PT). Las muestras de sangre se recogieron en la selección, línea de base, y en cada visita del estudio (excepto en la visita de la semana 1) para medir la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas.

Química del suero: Se tomaron muestras de sangre para las pruebas de química del suero en la selección, línea de base, y en las semanas 13, 25 y 41 del estudio. Se evaluaron los siguientes parámetros químicos del suero: sodio, alanina aminotransferasa, potasio, aspartato aminotransferasa, glucosa, lactato deshidrogenasa, calcio total, gamma glutamil transferasa, proteína total, creatinina fosfocinasa, albúmina, NTx*, creatinina, CTx*, nitrógeno de urea, ácido fólico (para determinar la elegibilidad para el estudio), la bilirrubina total, vitamina B_{12} (sólo en la selección), fosfatasa alcalina* (*los resultados se usaron para la evaluación de biomarcadores óseos). Los pacientes que en la selección tenían anemia relacionada con deficiencia de ácido fólico y/o vitamina B_{12}, y por lo tanto no cumplían con los criterios de entrada del estudio se consideraron un fracaso de selección.

Análisis de orina: Las muestras de orina se recogieron para análisis de orina en la selección, línea de base, y en las semanas 13, 25 y 41 del estudio. Se evaluaron los siguientes parámetros de análisis de orina: pH, evaluación microscópica, y evaluación macroscópica..

Anticuerpos anti-alfa velaglucerasa del suero: Los pacientes proporcionaron muestras de sangre para medir los anticuerpos anti-alfa velaglucerasa en el suero en la selección y aproximadamente cada 6 semanas durante la fase de tratamiento (semanas 7, 13, 19, 25, 31 y 37), y en la Semana 41. Durante la fase de tratamiento, estas muestras de sangre se tomaron antes de la infusión de la medicación del estudio a doble ciegas.

Las muestras de sangre que se recogieron para la determinación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa se evaluaron. Estas muestras se seleccionaron por medio del uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA), y todas las muestras positivas se confirmaron positivas por medio del uso de un ensayo de radioinmunoprecipitación (PIR). Las muestras positivas se isotiparon (IgG, IgA, IgM, o IgE). Además, las muestras positivas se ensayaron para la actividad de neutralización de enzimas por medio del uso de un ensayo *in vitro*

Determinación de anticuerpos anti-imiglucerasa en el suero: Los pacientes proporcionaron muestras de sangre en la selección para medir los anticuerpos anti-imiglucerasa. Los análisis de anticuerpos anti-imiglucerasa se realizaron por medio del uso de las mismas muestras que se obtuvieron para el análisis de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa.

Estas muestras de sangre se evaluaron para determinar la presencia de anticuerpos anti-imiglucerasa. Estas muestras se seleccionaron por medio del uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA), y todas las muestras positivas se confirmaron positivas por medio del uso de un ensayo de radioinmunoprecipitación (PIR). Las muestras positivas se isotiparon (IgG, IgA, IgM, o IgE). Además, las muestras positivas se ensayaron para la actividad de neutralización de enzimas por medio del uso de un ensayo *in vitro*

Los pacientes que resultaron positivos para anticuerpos anti- imiglucerasa en la selección no se eligieron para este estudio.

Las pruebas de reactividad cruzada de los anticuerpos (a la alfa velaglucerasa) se llevaron a cabo para pacientes que desarrollan anticuerpos anti-imiglucerasa durante este estudio.

Prueba de respuesta inmune e inflamatoria: Los pacientes que eran ≥ 18 años de edad proporcionaron muestras de sangre para la prueba de respuesta inmune e inflamatoria en la línea de base y en las semanas 13, 25 y 41. Una muestra se obtuvo en la línea de base. En las semanas 13, 25 y 41, las muestras se obtuvieron antes, inmediatamente después, y 1 hora después de cada infusión con el fármaco de estudio.

Eventos adversos: Los eventos adversos se supervisaron durante todo el estudio desde el momento en que el paciente proporcionó el consentimiento informado hasta 30 días después de la última infusión para los pacientes que completaron el estudio y no eligieron inscribirse en el estudio clínico a largo plazo abierto posterior, o para los pacientes que interrumpen o abandonan el estudio antes de la visita de la Semana 41. Para los pacientes que completaron este estudio y eligieron inscribirse en el estudio clínico a largo plazo, abierto, posterior, los eventos adversos se supervisaron desde el consentimiento informado hasta la finalización de la visita de la Semana 41.

Manejo de los efectos adversos relacionados con la infusión: Las infusiones de las proteínas se pueden asociar con reacciones a la infusión. Un evento adverso relacionado con la infusión se define como un evento adverso que 1) se inicia durante o dentro de las 12 horas después del inicio de la infusión, y 2) se considera como posible o probablemente relacionado con las medicaciones del estudio a ciegas.

MRI de hígado y bazo: Los pacientes se sometieron a MRI del hígado y del bazo en la línea de base y en las semanas 25 y 41/EOS. El tamaño del hígado y el bazo se midieron por medio del uso de MRI cuantitativa abdominal.

Niveles plasmáticos de quitotriosidasa: Las muestras de sangre se tomaron para la evaluación de los niveles plasmáticos de quitotriosidasa en la línea de base y en las semanas 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, y la semana 41. La quitotriosidasa se analizó por medio del uso de un ensayo de actividad enzimática.

Niveles plasmáticos de CCL18: Se tomaron muestras de sangre para la evaluación de los niveles plasmáticos de CCL18 en la línea de base y en las semanas 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, y la semana 41. Los niveles de CCL18 se midieron mediante un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) en un kit disponible comercialmente.

Pruebas de calidad de vida: En la línea de base y la semana 41, se evaluó la calidad de vida del paciente por medio del uso de cuestionarios validados, lo que incluye la Forma Abreviada 36 (SF-36), versión 2, para los pacientes ≥ 18 años de edad, y el Cuestionario de Salud Infantil (CHQ), PF50 para los pacientes de 5 a 17 años (Ware *Arch Phys Med Rehabil* Vol 84, Suppl 2, abril de 2003:43-51; SF-36v2™ Health Survey© 1996, 2000 by QualityMetric Incorporated and Medical Outcomes Trust. All Rights Reserved; Landgraf *y otros*, Child Health Questionnaire: A User's Manual. 2da impresión, Health Act, Inc., Boston MA, 1999; Landgraf y otros, *Quality of Life Research*. 1998; 7(5):433-445).

Velocidad de crecimiento y clasificación de Tanner: Para pacientes de 2 a 17 años de edad, el crecimiento se evaluó en la línea de base y en las semanas 13, 25 y 41. La velocidad de crecimiento se calculó por medio del uso de las mediciones de altura y peso que se registraron en puntos de tiempo regulares durante este estudio, y se correlacionó con la clasificación de Tanner. La clasificación de Tanner se registró en la línea de base y en las semanas 13, 25 y 41. El cambio desde la línea de base para cada paciente entre 2 y 17 años de edad en cada grupo de tratamiento se evaluó como un parámetro de eficacia terciario.

Crecimiento esquelético: Los pacientes entre 2 y 17 años de edad se sometieron a una radiografía de la mano y muñeca izquierda en la línea de base y en la semana 41 para la evaluación de la edad ósea.

Biomarcadores óseos: En la línea de base y la semana 41, los pacientes que eran ≥ 18 años de edad se sometieron a una DXA de columna lumbar y cuello femoral, lo que incluyó imágenes de la corona, para determinar una enfermedad ósea local y sistémica relacionada con Gaucher. La pérdida de hueso y la desmineralización se evaluaron en estos pacientes por la medición de la fosfatasa alcalina del suero, NTx, y CTX en la línea de base y en la semana 41.

Para los pacientes de 2 a 17 años de edad, la MRI del cuello femoral y la columna lumbar se obtuvo en la línea de base y la semana 41, al mismo tiempo estos pacientes se sometieron a una MRI del hígado y el bazo.

No se esperaba que ningún efecto del tratamiento sería evidente para estos parámetros durante este estudio, sin embargo, las medidas recogidas en la línea de base y la semana 41 se usarán para establecer un punto de referencia desde la cual supervisar estos biomarcadores en estudio a largo plazo abierto posterior.

Enfermedades previas y concomitantes: Las enfermedades adicionales presentes en la línea de base se consideraron como enfermedades concomitantes y se documentaron en las páginas del CRF correspondientes al historial médico. Las enfermedades que se producen por primera vez o se detectan durante el estudio, o el empeoramiento de una enfermedad concomitante durante el estudio, se consideraron como EA y se documentaron como tal en el CRF.

Los pacientes no recibieron tratamiento con factor de crecimiento de glóbulos rojos o fármaco(s) o dispositivo(s) en investigación en ningún momento durante este estudio o dentro de los 30 días después de la última infusión.

Durante la fase de tratamiento de este estudio, los pacientes podrían recibir corticosteroides como premedicación para mitigar los potenciales eventos adversos relacionados con la infusión.

Eventos adversos

Definición de evento adverso: Un evento adverso (EA) es cualquier cambio nocivo, patológico o no deseado en la función anatómica, fisiológica o metabólica según lo que indican los signos físicos, síntomas y/o cambios de laboratorio que se producen en cualquier fase de un ensayo

clínico, y si se consideran o no relacionados con el fármaco de estudio. Esto incluye una exacerbación de una condición pre-existente. Los eventos adversos se recogieron desde el momento en que el paciente proporciona su consentimiento informado firmado hasta 30 días después de la última dosis de la medicación del estudio a ciegas y/o hasta que el evento se resolvió/estabilizó o se alcanzó un resultado, cualquiera ocurra primero. Para los pacientes que interrumpieron el tratamiento o abandonaron antes de la visita de la semana 41, los eventos adversos se siguieron hasta 30 días después de su última infusión. Para los pacientes que completaron el estudio y eligieron participar en el estudio clínico a largo plazo, los eventos adversos se supervisaron desde el momento en que el paciente da su consentimiento informado hasta la visita de la semana 41.

Los EA incluyen: empeoramiento (cambio en la naturaleza, severidad o frecuencia) de las condiciones presentes en el inicio del estudio; enfermedades intercurrentes, interacciones de fármacos, eventos relacionados o posiblemente relacionados con medicamentos concomitantes, valores de laboratorio anormales (esto incluye cambios significativos desde la línea de base dentro del intervalo de lo normal que el investigador considere que son clínicamente importantes); alteraciones clínicamente significativas en el examen físico, signos vitales, peso, y ECG.

Además, los EA también podrían incluir valores de laboratorio inesperados que se convirtieron en significativamente fuera de intervalo y el investigador determinó que son clínicamente significativos. En el caso de un valor inesperado fuera del intervalo, la prueba de laboratorio se repitió hasta que regresó a su estado normal o podía explicarse y la seguridad del paciente no estaba en riesgo.

Definición de evento adverso relacionado con la infusión: Un evento adverso relacionado con la infusión se define como un evento adverso que 1) se inicia durante o dentro de las 12 horas después del inicio de la infusión, y 2) se considera como posible o probablemente relacionados con la medicación del estudio a ciegas. Otros EA que ocurrieron antes de la infusión, junto con EA asociados con evaluaciones y pruebas definidas en el protocolo (por ejemplo, pruebas de laboratorio, ECG y exámenes físicos) los cuales se realizaron antes de la infusión, no se definieron como eventos adversos relacionados con la infusión.

Definición de evento adverso grave: Un EA grave (EAG) es cualquier EA que ocurre a cualquier dosis que resulta en cualquiera de los siguientes resultados: muerte, peligro para la vida,

requiere la hospitalización del paciente, requiere la prolongación de la hospitalización ya existente, una discapacidad/incapacidad persistente o significativa, y una anomalía congénita/defecto de nacimiento.

Eventos médicos importantes que pueden no dar lugar a la muerte, peligro para la vida, o que requieren hospitalización se pueden considerar como EAG, basado en criterios médicos adecuados, ellos pueden arriesgar al paciente y pueden requerir intervención médica o quirúrgica para prevenir uno de los resultados que se enumeran anteriormente.

Un EA que pone en peligro la vida se define como un EA que coloca al paciente, en el punto de vista del reportero inicial, en riesgo inmediato de muerte por el EA tal como ocurrió (es decir, no incluye un EA que, de ocurrir en un una forma más grave, podría haber causado la muerte).

Clasificación de eventos adversos y eventos adversos graves: Se consultó la calificación de criterios comunes de toxicidad versión 3.0 del National Cancer Institute (NCI CTC) cuando se evaluó la gravedad del EA. Si un EA no se describió en el NCI CTC, la gravedad se registró en base a la escala debajo. La gravedad de todos los EA/EAG se registraron en la página apropiada CRF como grado 1, 2, 3 ó 4 correspondiente, respectivamente, a una severidad leve, moderada, severa, o que pone en peligro la vida. Grado 1 (leve) se define como no limitación de las actividades habituales. Grado 2 (moderada) se define como una cierta limitación de las actividades habituales; Grado 3 (severa) se define como incapacidad para llevar a cabo las actividades habituales, y Grado 4 (con peligro para la vida) se define como riesgo inmediato de muerte.

La relación de un evento adverso o un efecto adverso grave con la medicación del estudio a ciegas se determinó por el investigador en base en las siguientes definiciones. "No relacionados" se define como no relacionados con el fármaco del estudio. "Posiblemente relacionado" se define como un evento clínico/anomalía de laboratorio con una secuencia de tiempo razonable a la administración del fármaco en estudio, pero el cual también podría explicarse por una enfermedad concurrente u otros fármacos/químicos. "Probablemente relacionados" se define como un evento clínico/anomalía de laboratorio con una secuencia de tiempo razonable a la administración del fármaco del estudio, con baja probabilidad de atribuirse a una enfermedad concurrente u otros fármacos y químicos y que sigue una respuesta clínicamente razonable al retirar el fármaco. La asociación de los eventos clínicos/anormalidad de laboratorio también debe tener cierta plausibilidad biológica, al menos en el terreno teórico.

Aclaración entre graves y severas: El término "severo" se usa a menudo para describir la intensidad (severidad) de un evento específico (como en el infarto de miocardio leve, moderado o severo); el evento en sí mismo, sin embargo, puede ser de importancia médica relativamente menor (tal como dolor de cabeza severo). Esto no es lo mismo que "grave", que se basa en los resultados o criterios de acción usualmente asociados con eventos que representan un peligro para la vida o el funcionamiento. La gravedad (no severidad) y la causalidad sirven como una guía para definir las obligaciones de reportes regulatorios.

Supervisión de evento adverso y período de observación: Para los propósitos de este estudio, el período de observación se extendió desde el momento en que el paciente proporcionó el consentimiento informado hasta la evaluación final del estudio del paciente. Por propósitos de seguridad, la evaluación final se definió como la evaluación de la seguridad post-estudio que se llevó a cabo aproximadamente 30 días después de la última infusión para los pacientes que completaron el estudio y no optaron por inscribirse en el estudio a largo plazo, o para los pacientes que interrumpieron o abandonaron el estudio antes de la visita de la semana 41. Para los pacientes que completaron el estudio y eligieron participar en el estudio clínico a largo plazo, los eventos adversos se supervisaron desde el momento en que el paciente da su consentimiento informado hasta la visita de la semana 41. Si el investigador consideró necesario informar de un EA en un paciente del estudio después del final del período de observación, él o ella deben contactar al patrocinador para determinar cómo el EA se debe documentar e informar.

Método estadístico

Metodología estadística general: Se consideraron dos conjuntos de datos para el análisis estadístico de la eficacia: 1) el conjunto de datos con intención de tratar (ITT) y 2) el conjunto de datos por protocolo (PP). El conjunto de datos ITT se compone de todos los pacientes aleatorizados que recibieron al menos una dosis completa o parcial del fármaco de estudio. El conjunto de datos PP es un subconjunto del conjunto de datos ITT, que incluye a los pacientes que completaron las 41 semanas del estudio, tenían recogidas las mediciones de las variables de eficacia primarias tanto en la línea de base como en la semana 41, y recibieron al menos el 80% de su dosis de infusión programada.

Para las variables que siguen una distribución continua, los resúmenes tabulares consistieron en n, promedio, desviación estándar, mínimo, máximo y mediana. Los gráficos de las variables principales de eficacia se presentaron por grupo de tratamiento, e incluyeron: los valores primarios: los valores sin transformar de la variable en la escala reportada originalmente, el cambio absoluto en el valor desde la línea de base, es decir, X - B (donde B es el valor de la línea de base y X es un valor posterior a la línea de base); y porcentaje de cambio en el valor desde la línea de base, es decir, 100* (X - B) / B (donde B es el valor de la línea de base y X es un valor posterior a la línea de base).

Prueba de hipótesis: Este estudio comparó el efecto de la alfa velaglucerasa con la imiglucerasa. La intención era mostrar que la alfa velaglucerasa fue clínicamente por lo menos tan buena como la imiglucerasa en el nivel de significación de 0.025.

La hipótesis nula para el punto final principal de eficacia es que el cambio promedio en la concentración de hemoglobina desde la línea de base hasta la semana 41 para la alfa velaglucerasa es de al menos 1 g/dl inferior al cambio medio en la concentración de hemoglobina desde la línea de base hasta la semana 41 para la imiglucerasa. La hipótesis a evaluar se puede expresar como:

H_0: $\mu_{Vela} - \mu_{IMIG} \leq -1$ vs. H_A: $\mu_{Vela} - \mu_{IMIG} > -1$

o

H_0: : la alfa velaglucerasa es inferior con respecto a la respuesta de hemoglobina promedio

H_A: la alfa velaglucerasa no es inferior con respecto a la respuesta de hemoglobina promedio

Fallos de selección y disposición del paciente: La disposición de todos los pacientes seleccionados para entrar en el estudio se tabuló junto con las razones para el fracaso de la selección. La disposición de todos los pacientes aleatorizados se tabuló por brazo de tratamiento y visita, y las razones de la interrupción se tabularon por brazo de tratamiento.

Justificación del tamaño de la muestra: Cuando el tamaño de la muestra en cada grupo de tratamiento es de 14, una prueba t de 0.025 de un-lado de dos grupos tendrá una potencia del 80% para rechazar la hipótesis nula de que la diferencia en las medias para la hemoglobina es ≤ -1 g/dl en favor de la hipótesis alternativa de que la diferencia en las medias es mayor que -1, si se asume que la diferencia esperada en las medias es 0, y la desviación estándar común es 0.90.

Si se supone un 15% de abandono, se inscribieron en el estudio un total de 32 pacientes (16 pacientes por grupo de tratamiento)

Análisis de eficacia

Poblaciones de análisis: Se consideraron dos conjuntos de datos para el análisis estadístico de la eficacia (el conjunto de datos con intención de tratar (ITT) y el conjunto de datos de la población por protocolo (PP)).

Análisis de eficacia primaria: El punto final de eficacia primaria es el cambio medio desde la línea de base hasta la semana 41 en la concentración de hemoglobina entre los dos grupos de tratamiento. El análisis primario se llevó a cabo por medio del uso de la población ITT. Este es un ensayo controlado aleatorizado de no inferioridad diseñado para demostrar que la alfa velaglucerasa no es inferior a la imiglucerasa en términos de eficacia en el tratamiento de pacientes con la enfermedad de Gaucher tipo I.

Se usó un intervalo de confianza de un 97.5% de un-lado. No se demostró inferioridad ni por el intervalo de confianza de un-lado o una prueba de hipótesis para evaluar la hipótesis nula de que la diferencia de tratamiento es menor o igual al margen inferior de equivalencia en la hemoglobina (-1 g/dl) contra la alternativa de que la diferencia de tratamiento de la imiglucerasa es mayor que el margen inferior de equivalencia. En otras palabras, si nos centramos en sólo un extremo del intervalo de confianza e ignoramos los otros resultados en un intervalo de confianza de 97,5% de un-lado [(a, ∞)], donde a es el límite inferior del intervalo de confianza de 1-lado, se puede extraer una conclusión de la eficacia.

Análisis de eficacia secundaria: Para los parámetros de eficacia secundaria (conteo de plaquetas, los volúmenes del hígado y el bazo, quitotriosidasa, y CCL18) que comparan los cambios desde la línea de base entre los grupos de tratamiento, las pruebas estadísticas evaluaron si los cambios medios desde la línea de base hasta la semana 41 entre los dos grupos de tratamiento son estadísticamente significativos (estadísticamente significativo se definirá como un valor de p menor que 0.05). Se presentó un intervalo de confianza del 95% para la diferencia en los cambios medios desde la línea de base entre los dos brazos de tratamiento por medio del uso de un modelo de análisis de covarianza (ANCOVA), que incluye, por ejemplo, la edad de línea de base como un covariado.

Para medir el tiempo para un resultado del evento (es decir, el tiempo para la primera respuesta de hemoglobina ≥ 1 g/dl desde la línea de base), se presentaron las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (límite de producto) para cada grupo de tratamiento y se usó una prueba de rango logarítmico para comparar curvas entre grupos de tratamiento. Se presentaron la mediana del tiempo y el intervalo de confianza de 95% para cada grupo de tratamiento. Los pacientes que no experimentaron el evento al final del estudio (es decir, en la semana 41) se censuraron en la semana 41. Los pacientes que abandonaron o se interrumpieron antes de la evaluación de la semana 41 y que no alcanzaron una respuesta en el momento del abandono o la interrupción se censuraron en el momento de la última evaluación conocida para ese paciente. Además, la proporción de pacientes que respondieron contra los no respondedores se presentó y comparó entre los grupos de tratamiento por medio del uso de la prueba exacta de Fisher.

Análisis de seguridad: Todos los pacientes que recibieron al menos una dosis del fármaco del estudio (o dosis parcial) se evaluaron por la seguridad clínica, y tolerabilidad. No se realizaron pruebas estadísticas formales en los parámetros de seguridad. Se resumieron las supervisiones de seguridad de los signos vitales, ECG de 12 derivaciones, química clínica, hematología, y análisis de orina. Para las variables categóricas, como EA, se tabuló el número y el porcentaje de pacientes que experimentan cada EA. Los EA se resumieron por la severidad del evento. El número y el porcentaje de pacientes que experimentaron EA relacionados con el fármaco y EA relacionados con la infusión, así como EA que no se consideraron relacionados con el fármaco del estudio también se mostrarán. Las evaluaciones de laboratorio clínico (hematología, química del suero, análisis de orina, y la determinación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa) se usaron para ensayar la seguridad de la alfa velaglucerasa.

Ejemplo 4: Estudio TKT034 (estudio abierto multicéntrico en pacientes que transitaron por un tratamiento con imiglucerasa)

Sumario

Este ejemplo describe un estudio global, abierto, de 12 meses para examinar la seguridad y eficacia de la alfa velaglucerasa en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I que recibieron previamente imiglucerasa. Los pacientes de edad ≥ 2 años de edad recibieron alfa velaglucerasa a una dosis igual a su dosis de imiglucerasa anterior, con las infusiones administradas durante 1 hora en semanas alternas.

Cuarenta pacientes recibieron alfa velaglucerasa (18 hombres; 4 previamente esplenectomizados; intervalo de edad, 9-71 años). El uso de imiglucerasa promedio anterior fue de 67 meses (intervalo 22-192 meses). Las dosis de alfa velaglucerasa fueron: 15-22.5U/kg (n=14) ("el grupo de 15U/kg"), 22.5-37.5U/kg (n=12) ("el grupo de 30U/kg"), 37.5-52.5 U/kg (n=7) ("el grupo de 45U/kg"), y >52.5U/kg (n=7) ("el grupo de 60U/kg"). La alfa velaglucerasa generalmente se toleró bien con la mayoría de eventos adversos (EA) de intensidad leve o moderada. Once pacientes (28%) experimentaron un EA considerado posible o probablemente relacionado con el fármaco del estudio; la mayoría se consideraron relacionados con la infusión. Ningún paciente experimentó un EA con peligro para la vida. Un EA grave se consideró probablemente relacionado con el tratamiento: un paciente tuvo una reacción de hipersensibilidad de grado 2 durante la primera infusión, y eligió interrumpir el estudio. Este paciente resultó negativo para IgE, IgM, IgG, IgA y anticuerpos neutralizantes en el momento de la infusión y 2 semanas después. Ningún paciente desarrolló anticuerpos IgG a la alfa velaglucerasa. La concentración de hemoglobina, el conteo de plaquetas, y el volumen del hígado y el bazo se mantuvieron en niveles terapéuticos por 1 año.

En conclusión, los pacientes adultos y pediátricos con enfermedad de Gaucher tipo I, que se trataron previamente con imiglucerasa por $\geq$ 22 meses, transitaron exitosamente a la alfa velaglucerasa, con estabilidad en las mediciones de la enfermedad clínica por 12 meses.

Objetivos del estudio

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la seguridad de la dosificación en semanas alternas de alfa velaglucerasa en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I que se trataron previamente con imiglucerasa.

Los objetivos secundarios fueron: evaluar los cambios en la concentración de hemoglobina después de las dosis en semanas alternas de alfa velaglucerasa, para evaluar los cambios desde la línea de base en el conteo de plaquetas después de las dosis en semanas alternas de alfa velaglucerasa, y para evaluar los cambios desde la línea de base en el volumen del hígado y el bazo por resonancia magnética abdominal después las dosis en semanas alternas de alfa velaglucerasa.

Los objetivos terciarios/exploratorios fueron: evaluar los cambios desde la línea de base en los niveles de quitotriosidasa del plasma y quimioquinas (motivo C-C) ligando 18 (CCL18) después de las dosis en semanas alternas de alfa velaglucerasa, evaluar los cambios en la edad ósea de los pacientes entre 2 y 17 años de edad, con una radiografía de la mano y muñeca izquierda

después las dosis en semanas alternas de alfa velaglucerasa, evaluar los cambios en la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner en pacientes entre 2 y 17 años de edad, después de las dosis en semanas alternas de alfa velaglucerasa, establecer una línea de base desde la que supervisar el efecto a largo plazo de la terapia de alfa velaglucerasa sobre la enfermedad ósea local y sistémica relacionada con la enfermedad de Gaucher en pacientes ≥ 18 años de edad, según lo medido por la densidad ósea (DXA) de la columna lumbar y el cuello femoral (lo que incluye imágenes de la corona), fosfatasa alcalina sérica, reticulaciones de N-telopéptidos (NTx), y reticulaciones de C-telopéptidos (CTx), y establecer una línea de base desde la cual evaluar la enfermedad ósea en pacientes entre 2 y 17 años de edad, por MRI de la columna lumbar y el cuello femoral.

Diseño general del estudio

Este es un estudio multicéntrico, Fase II/III, abierto diseñado para evaluar la seguridad de la terapia de la alfa velaglucerasa para pacientes que actualmente reciben tratamiento con imiglucerasa para la enfermedad de Gaucher tipo I. Se inscribieron 41 pacientes para recibir el mismo número de unidades de alfa velaglucerasa que su dosis de imiglucerasa. Las dosis oscilaron entre 15 U/kg y 60 U/kg. Los pacientes recibieron la misma dosis de imiglucerasa durante los 6 meses previos al estudio. La duración total del estudio para cada paciente fue de aproximadamente 14 meses (desde la selección hasta el final del estudio y/o seguimiento, según corresponda).

El estudio se compuso de 5 fases como sigue: Selección (día -14 hasta el día -4), Línea de base (-3 día hasta el día 0 (antes de la primera dosis)), Fase de Tratamiento: semana 1 (día 1; primera dosis) hasta la semana 51 (se administraron un total de 26 infusiones por paciente), visita de final del estudio: semana 53, seguimiento: 30 días después de la infusión final (para los pacientes que interrumpieron/abandonaron antes de la semana 53 de evaluación, o para pacientes que completaron este estudio, pero no optaron por inscribirse en el siguiente estudio clínico a largo plazo).

Los pacientes (o padre/tutor legal) que proporcionaron su consentimiento informado por escrito se sometieron a evaluaciones de selección en las dos semanas antes de su primera dosis para determinar la elegibilidad para la inscripción. Para determinar la elegibilidad del estudio, se obtuvo una muestra de sangre de cada paciente durante la selección para evaluar la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas.

Se tomó una muestra adicional de sangre durante la selección para la evaluación de la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas para fines de análisis estadístico.

La administración de la primera dosis del fármaco del estudio se definió como semana 1 (día 1). Las infusiones de alfa velaglucerasa se administraron en semanas alternas durante 12 meses (51 semanas) para un total de 26 infusiones. Los pacientes recibieron el mismo número de unidades de alfa velaglucerasa que su dosis de imiglucerasa. Las dosis oscilaron entre 15 U/kg y 60 U/kg. El tiempo de infusión fue de 60 minutos (1 hora). Los incrementos en la duración de la infusión (por ejemplo, 2 horas) se documentaron en la documentación de origen y CRF adecuada. Las infusiones no fueron de menos de 1 hora de duración.

Las primeras 3 infusiones de alfa velaglucerasa para cada paciente se administraron en el sitio clínico. Los pacientes que no experimentaron eventos adversos graves relacionados con el tratamiento o eventos adversos relacionados con la infusión de alfa velaglucerasa pueden recibir las infusiones posteriores a domicilio por personal médico calificado y entrenado, a discreción y dirección del investigador. Los pacientes que experimentaron un evento adverso relacionado con la infusión se pueden re-evaluar en un punto más adelante durante el estudio para considerar la transición a las infusiones a domicilio. Los pacientes que reciben alfa velaglucerasa como terapia a domicilio están obligados a regresar al sitio clínico en las semanas 7, 13, 19, 25, 31, 37, 45 y 51 y 53.

La visita final del estudio se define como la semana 53. Se consideró que los pacientes completaron este estudio una vez que 1) completaron el periodo de tratamiento de 51 semanas, y 2) completaron las visitas de estudio en la semana 51 y semana 53.

A los pacientes que completaron el estudio se les proporcionó la oportunidad de inscribirse en un estudio clínico abierto a largo plazo posterior. Para los pacientes que optaron por inscribirse en un estudio clínico abierto posterior a largo plazo, ciertas evaluaciones de las visitas de las visitas de la semana 51 y la semana 53 para este estudio (TKT034) se usaron como las evaluaciones de línea de base para aquel estudio; los pacientes recibirían su primera infusión para el estudio clínico abierto a largo plazo posterior en la visita de la semana 53, después de completar todas las evaluaciones para aquella visita y proporcionar su consentimiento informado por escrito para participar en el estudio clínico abierto a largo plazo posterior. Por lo tanto, la intención era que los pacientes recibieran tratamiento continuo de alfa velaglucerasa a través de los 2 estudios. Los pacientes que completaron este estudio y no eligieron inscribirse en el estudio clínico abierto a largo plazo posterior tendrán una evaluación de seguridad (para la recolección de eventos adversos

y los medicamentos concomitantes) por visita en el sitio o por teléfono 30 días después de su última infusión.

Selección de la población del estudio

Todos los pacientes inscritos que recibieron al menos 1 infusión (o infusión parcial) se incluyeron en la población de pacientes ITT.

Los participantes elegibles fueron hombres o mujeres de edad ≥ 2 años con enfermedad de Gaucher tipo I diagnosticada (deficiencia de actividad de la glucocerebrosidasa en los leucocitos, o por el análisis del genotipo), que recibieron un tratamiento consistente en imiglucerasa por un mínimo de 30 meses consecutivos; a un paciente que tuvo 22 meses consecutivos de tratamiento previo con imiglucerasa se le permitió participar.

Los participantes se excluyeron si tenían la concentración de hemoglobina ≤ 10 g/dl y el conteo de plaquetas ≤ $80x10^3$ plaquetas/mm^3, tenían concentración de hemoglobina inestable (superaba un intervalo de ± 1 g/dl del valor de selección) o conteo de plaquetas (±20% superior del valor de selección) durante los 6 meses anteriores a la selección; tenían (o se sospechaba que tenían) enfermedad de Gaucher tipo II o III; sufrieron un choque anafiláctico a la imiglucerasa, tenían un tratamiento con imiglucerasa inconsistente o recibieron Miglustat en los 6 meses anteriores al ingreso al estudio; o tenían infarto del bazo clínicamente significativo activo confirmado radiológicamente, o empeoramiento de la necrosis ósea dentro de 12 meses de la selección.

Otros criterios de exclusión incluyeron: tratamiento con cualquier medicamento o dispositivo en investigación dentro de los 30 días anteriores al ingreso al estudio; pruebas de VIH, hepatitis B o C positivas; anemia no relacionada con la enfermedad de Gaucher en el momento de la selección, o cualquier comorbilidad significativa que podría afectar los datos del estudio . Las mujeres embarazadas o lactantes se excluyeron y las mujeres en edad fértil estaban obligadas a usar un método anticonceptivo médicamente aceptable en todo momento.

Tratamientos del estudio

Asignación del tratamiento: Los pacientes recibieron infusiones de alfa velaglucerasa en semanas alternas en el mismo número de unidades que su dosis de imiglucerasa. La dosis actual de imiglucerasa del paciente se registró en la línea de base. Las dosis de alfa velaglucerasa oscilan entre 15 U/kg y 60 U/kg.

Esquema de tratamiento: Los pacientes recibieron su primera infusión la semana 1 (día 1). Todos los pacientes recibieron alfa velaglucerasa una vez en semanas alternas por 12 meses (51 semanas), por lo tanto, se administraron un total de 26 infusiones.

Todas las dosis de alfa velaglucerasa se administran como una infusión intravenosa continua a una velocidad máxima de 1 U/kg/minuto. El tiempo de infusión fue de 60 minutos (1 hora). Incrementos en las duraciones de la infusión (por ejemplo, 2 horas) se documentaron en la documentación de origen y CRF adecuada. Las infusiones no deben ser de menos de 1 hora de duración. Los pacientes recibieron su dosis final de imiglucerasa un máximo de 30 días antes del ingreso al estudio y un mínimo de 14 días anteriores al ingreso al estudio.

Cálculo de dosis: Un cambio en el peso de ≥ 5% desde la línea de base o del peso registrado anteriormente que se usó para calcular la dosis en las semanas 13, 25, ó 37 requirió un recálculo de la dosis de la medicación del estudio.

Ajuste de dosis: Los pacientes se supervisaron a través del período de tratamiento para cambios en los parámetros clínicos (es decir, concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, y el volumen de hígado y bazo). Si un paciente demuestra un cambio clínicamente significativo en estos parámetros, el investigador evaluó la opción de aumentar la dosis del paciente por 15 U/kg. Se consideró un ajuste de la dosis si dos o más de los siguientes cuatro criterios se cumplen y son consistentes en dos evaluaciones consecutivas: disminución desde la línea de base de la concentración de hemoglobina de > 1g/dl; una disminución desde la línea de base del conteo de plaquetas > 20%; un aumento del volumen del hígado que se indica por la palpación del órgano y que confirmó ser > 15% respecto al valor de la línea de base medida por MRI, y un aumento en el volumen del bazo que se indica por la palpación del órgano y que confirmó ser > 15% respecto al valor de la línea de base medida por MRI.

Si los valores de los parámetros clínicos no regresan a los niveles de la línea de base en tres meses, el investigador tenía la opción de aumentar la dosis en incrementos de 15 U/kg. No se ofreció un aumento de la dosis a los pacientes que recibían una dosis de 60 U/kg, y no se permitió una dosis por encima de 60 U/kg. Si el paciente no respondió a la dosis máxima de 60 U/kg, el paciente se retirará si se considera apropiado basado en el juicio clínico del investigador.

Administración de alfa velaglucerasa

Instrucciones generales para la administración de alfa velaglucerasa: La alfa velaglucerasa se administró por vía intravenosa. Las infusiones del fármaco del estudio ocurrieron aproximadamente el mismo día de la semana, pero pueden ocurrir cada 14 días (± 3 días) del día diana a fin de facilitar la programación de los pacientes. Si es posible, se debe evitar perder infusiones. Si un paciente no se dosifica dentro de 17 días desde de su dosis programada, el paciente debe recibir la siguiente infusión tan pronto como sea posible después de que se apruebe que el paciente continúe en el estudio. Puede ser aceptable dar la siguiente infusión tan pronto como 7 días después de la infusión anterior. Las infusiones posteriores retornarán a la programación original.

Instrucciones para la administración de alfa velaglucerasa a domicilio: Las primeras tres infusiones de alfa velaglucerasa se administraron en el sitio clínico. Después de las tres primeras dosis, los pacientes que no experimentaron un evento adverso grave relacionado con el tratamiento o un evento adverso relacionado con la infusión pueden recibir las infusiones posteriores a domicilio. Los pacientes que experimentaron un evento adverso relacionado con la infusión pueden re-evaluarse en un momento posterior durante el estudio para considerar la transición a las infusiones a domicilio. A los pacientes que reciben alfa velaglucerasa como terapia a domicilio se les obligó a regresar al centro clínico en las semanas 7, 13, 19, 25, 31, 37, 45, 51, y 53.

En el marco del domicilio los signos vitales y la documentación de los eventos adversos se recogieron en cada visita

Manejo de eventos adversos relacionados con la infusión: Un evento adverso relacionado con la infusión se define como un evento adverso que 1) se inicia ya sea durante o dentro de 12 horas después del inicio de la infusión, y 2) se considera como posible o probablemente relacionados con el fármaco del estudio.

Descripción del fármaco del estudio: La alfa velaglucerasa es un producto liofilizado que se suministra y se envía por un distribuidor calificado al sitio de estudio clínico para almacenarse entre 2 y 8°C.

Historia del tratamiento específico de la enfermedad de Gaucher: En la selección, se registraron todos los tratamientos específicos de la enfermedad de Gaucher, lo que incluye la dosis actual de imiglucerasa del paciente. La dosis inicial de alfa velaglucerasa del paciente se basa en la dosis de imiglucerasa actual que se registró.

Valores históricos de hemoglobina y plaquetas: Todas las evaluaciones de la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas dentro de los 30 meses anteriores al ingreso al estudio se recogieron y revisaron para determinar la elegibilidad del paciente.

Genotipado de enfermedad de Gaucher y quitotriosidasa: En la selección solamente, a todos los pacientes se les tomó una muestra de sangre para el genotipado de la enfermedad de Gaucher y la quitotriosidasa.

Signos vitales: Los parámetros de signos vitales que se registraron incluyeron el pulso, la presión arterial, la frecuencia respiratoria y la temperatura.

Se siguió el siguiente esquema para registrar los signos vitales en todas las visitas de infusión: inicio de la infusión (a menos de 10 minutos antes de comenzar la infusión; durante la infusión (30 minutos (± 5 minutos)); después de la infusión (a menos de 5 minutos después de que se completó la infusión, 30 minutos (± 5 minutos) después de completar la infusión, y 60 minutos (± 5 minutos) después de completar la infusión)

Exámenes Físicos: Los exámenes físicos se realizaron en la línea de base, y en las semanas 13, 25, 37, 51 y 53. Los exámenes físicos incluyeron los siguientes: aspecto general, endocrino, cabeza y cuello, cardiovasculares, ojos, abdomen, oídos, genitourinario, nariz, piel, garganta, músculo esquelético, pecho y pulmones, y neurológicos.Cualquier cambio anormal en la exploración física se registró como un evento adverso en la página(s) adecuada del CRF.

Altura y peso: La altura y el peso se registraron en la visita de la línea de base y en las semanas 13, 25, 37 y 51. La velocidad de crecimiento se calculó por medio de las medidas de altura y peso, y se correlacionó con la clasificación de Tanner.

Electrocardiograma de 12 derivaciones: Un ECG de 12 derivaciones se realizó en la visita de la línea de base y en las semanas 13, 25, 37 y 51. Cada ECG de 12 derivaciones incluyó la evaluación de PR, QRS, QT, e intervalos QTc, y la frecuencia cardíaca.

Pruebas de laboratorio clínico: Las muestras de sangre y orina se recogieron como se describe a continuación para las siguientes evaluaciones.

Hematología: Se tomaron muestras de sangre para las pruebas de hematología en las visitas de selección y de línea de base, y en las semanas 7, 13, 19, 25, 31, 37, 45, 51 y 53. Se evaluaron los siguientes parámetros hematológicos: conteo sanguíneo completo (CBC) con diferencial, el tiempo de tromboplastina parcial activada (aPPT), conteo de reticulocitos (se realizó por el laboratorio local del sitio), conteo de plaquetas, y el tiempo de protrombina (PT). En la selección, línea de base, y en todas las visitas de estudio (excepto en la visita de la semana 1), se tomaron muestras de sangre para medir la concentración de hemoglobina y el conteo de plaquetas.

Se recogió una muestra adicional de sangre durante la selección para medir la hemoglobina y el conteo de plaquetas para fines de análisis estadísticos.

Química del suero: Se tomaron muestras de sangre para las pruebas de química del suero en la visita de la línea de base y en las semanas 13, 25, 37, 51 y 53.

Se evaluaron los siguientes parámetros químicos séricos: sodio, bilirrubina total, potasio, fosfatasa alcalina*, glucosa, alanina aminotransferasa, calcio total, aspartato aminotransferasa, proteínas totales, lactato deshidrogenasa, albúmina, gamma glutamil transferasa, creatinina, creatinina fosfoquinasa, nitrógeno de urea, CTx, NTx * (*los resultados se usaron para la evaluación de biomarcadores óseos). Los pacientes que en la selección tenían anemia relacionada con deficiencias de ácido fólico y/o vitamina B_{12}, y por lo tanto no cumplían con los criterios de entrada del estudio se consideraron un fracaso de selección. Estos pacientes se podrían tratar por su anemia relacionada con ácido fólico y/o deficiencia de vitamina B_{12} hasta 12 semanas a discreción del investigador, de acuerdo con las prácticas habituales del sitio clínico. Tales pacientes se podrían re-seleccionar para este estudio después de que completaran el régimen de tratamiento de ácido fólico y/o vitamina B_{12}

Análisis de orina: Las muestras de orina se recogieron para el análisis de orina en la visita de línea de base y en las semanas 13, 25, 37, 51 y 53. Se evaluaron los siguientes parámetros de análisis de orina: el pH, la evaluación microscópica, y la evaluación macroscópica.

Determinación de anticuerpos anti-imiglucerasa en el suero: Todos los pacientes tenían una muestra de sangre en la línea de base sólo para la determinación de anticuerpos anti- imiglucerasa en el suero. Los pacientes se eligieron para la inscripción en este estudio, independientemente de su estado de anticuerpos anti-imiglucerasa. A los pacientes que eran positivos a anticuerpos anti-imiglucerasa se les permitió entrar en este estudio. Estas muestras de sangre se evaluaron para determinar la presencia de anticuerpos anti-imiglucerasa.

Determinación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa en el suero: Se tomaron muestras de sangre para la determinación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa en la visita de línea de base y en las semanas 7, 13, 19, 25, 31, 37, 45 y 51. Las muestras de sangre que se recogieron para la determinación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa se evaluaron. Estas muestras se detectaron por medio del uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA).

Eventos adversos: Los eventos adversos se supervisaron a través de todo el estudio desde el momento en que el paciente proporcionó el consentimiento informado firmado hasta 30 días después de su última infusión para los pacientes que completaron el estudio y no eligieron inscribirse en el estudio clínico abierto a largo plazo posterior, o para los pacientes que interrumpieron o abandonaron el estudio antes de la visita de la semana 53. Para los pacientes que completaron el estudio y optaron por inscribirse en el estudio clínico abierto a largo plazo posterior, los eventos adversos se supervisaron desde el consentimiento informado hasta la visita de la semana 53 de este estudio (TKT034).

Enfermedades previas y concomitantes: Las enfermedades adicionales presentes en la línea de base se consideraron como enfermedades concomitantes y se documentaron en las páginas apropiadas del historial médico de la CRF. Las enfermedades que se producen por primera vez o se detectan durante el estudio, o el empeoramiento de una enfermedad concomitante durante el estudio, se consideraron como EA y se documentaron como tal en el CRF.

Procedimientos del estudio para las evaluaciones de eficacia

Concentración de hemoglobina: La concentración de hemoglobina se midió en los puntos de tiempo que se describen en la presente. El cambio desde la línea de base hasta 12 meses en la concentración de hemoglobina fue un punto final secundario de este estudio.

Conteo de plaquetas: El conteo de plaquetas se midió en los puntos de tiempo descritos en este documento. El cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en el conteo de plaquetas fue un punto final secundario de este estudio.

Volúmenes de hígado y bazo medidos por MRI abdominal: Los pacientes se sometieron a una MRI abdominal cuantitativa del hígado y el bazo en la línea de base, semana 25, y la semana 51. El cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en el volumen del hígado y el bazo fue un punto final secundario de este estudio.

Niveles plasmáticos de quitotriosidasa y CCL19: Se tomaron muestras de sangre para la evaluación de los niveles de quitotriosidasa y CCL18 en plasma en la visita de línea de base y en las semanas 13, 25, 37, 51 y 53. El cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en los niveles de quitotriosidasa y CCL18 en plasma fue un punto final terciario de este estudio.

Velocidad de crecimiento y clasificación de Tanner: Para los pacientes de 2 a 17 años de edad, el crecimiento se evaluó en los puntos de tiempo que se definen en la presente. La velocidad de crecimiento se calculó por medio del uso de las medidas de la altura y el peso que se registraron en puntos de tiempo regulares durante este estudio, y se correlacionó con la clasificación de Tanner. El cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner fue un punto final terciario de este estudio.

Crecimiento esquelético: Los pacientes entre 2 y 17 años de edad se sometieron a una radiografía de la mano y muñeca izquierdas en la línea de base y en la semana 51 para la evaluación de la edad ósea. El cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en el crecimiento del esqueleto en pacientes de 2 a 17 años de edad fue un punto final terciario de este estudio.

Procedimientos adicionales del estudio

Biomarcadores óseos: Solamente en la línea de base, los pacientes ≥ 18 años de edad se sometieron a un DXA de columna lumbar y cuello femoral, que incluyó imágenes de la corona, para determinar la enfermedad ósea local y sistémica relacionada con Gaucher. La pérdida de hueso y la desmineralización también se evaluaron mediante la medición de la fosfatasa alcalina del suero, NTx, y CTx. Los resultados de estos parámetros se obtuvieron a partir de muestras de sangre que se tomaron para pruebas de laboratorio clínico en la línea de base solamente.

Para pacientes de 2 a 17 años de edad, se obtuvieron al inicio MRI del cuello femoral y la columna lumbar (al mismo tiempo, los pacientes se sometieron a resonancia magnética del hígado y el bazo).

No se esperaba que ningún efecto del tratamiento fuera aparente para estos parámetros durante este estudio, por lo tanto, las mediciones se recogieron en la línea de base sólo para establecer un punto de referencia desde la cual supervisar estos biomarcadores durante el estudio clínico abierto a largo plazo posterior.

Eventos adversos

Definición de evento adverso: Un evento adverso (EA) es cualquier cambio nocivo, patológico o no intencionado en la función anatómica, fisiológica o metabólica según lo indicado por los signos físicos, síntomas y/o cambios de laboratorio que se producen en cualquier fase de un estudio clínico, se consideren o no relacionados con el fármaco de estudio. Esto incluye una exacerbación de una condición pre-existente. Los eventos adversos se recogieron desde el consentimiento informado hasta 30 días después de la última dosis del fármaco del estudio y/o hasta que el evento se resolvió/estabilizó o se alcanzó un resultado, lo que ocurriera primero. Para los pacientes que suspendieron el tratamiento o lo abandonaron antes de la visita de la semana 53, se siguieron los EA hasta 30 días después de su última infusión de alfa velaglucerasa.

Los EA incluyen: empeoramiento (cambio en la naturaleza, severidad o frecuencia) de las condiciones presentes en el inicio del estudio; enfermedades intercurrentes, interacciones de fármacos, eventos relacionados o posiblemente relacionados con medicamentos concomitantes, valores de laboratorio anormales (esto incluye cambios significativos desde la línea de base dentro del intervalo de lo normal que el investigador considere que son clínicamente importantes); alteraciones clínicamente significativas en el examen físico, signos vitales, peso, y ECG.

Además, los EA también podrían incluir valores de laboratorio inesperados que se convierten en significativamente fuera del intervalo y se determinó que eran clínicamente

significativos por el investigador. En el caso de un valor inesperado fuera del intervalo, la prueba de laboratorio se repetiría hasta que volviera a lo normal o se pueda explicar y a seguridad del paciente no esté en riesgo.

Definición de evento adverso relacionado con la infusión: Un evento adverso relacionado con la infusión se define como un evento adverso que 1) se inicia durante o dentro de las 12 horas después del inicio de la infusión, y 2) se considera como posible o probablemente relacionado con el fármaco del estudio. Otros EA que ocurrieron antes de la infusión, junto con EA asociados con las pruebas y evaluaciones definidas por el protocolo (por ejemplo, pruebas de laboratorio, electrocardiogramas y exámenes físicos) que se realizaron antes de la infusión, no se definieron como eventos adversos relacionados con la infusión. Los eventos adversos relacionados con la infusión se manejaron como se definió anteriormente.

Definición de evento adverso grave: Un EA grave (EAG) es cualquier EA que ocurre a cualquier dosis que resulta en cualquiera de los siguientes resultados: muerte, peligro para la vida, requiere la hospitalización del paciente, requiere la prolongación de la hospitalización ya existente, una discapacidad/incapacidad persistente o significativa, y una anomalía congénita/defecto de nacimiento.

Eventos médicos importantes que pueden no dar lugar a la muerte, peligro para la vida, o que requieren hospitalización se pueden considerar como EAG, basado en criterios médicos adecuados, ellos pueden arriesgar al paciente y pueden requerir intervención médica o quirúrgica para prevenir uno de los resultados que se enumeran anteriormente.

Un EA que pone en peligro la vida se define como un EA que coloca al paciente, en el punto de vista del reportero inicial, en riesgo inmediato de muerte por el EA tal como ocurrió (es decir, no incluye un EA que, de ocurrir en un una forma más grave, podría haber causado la muerte).

Clasificación de eventos adversos y eventos adversos graves: Se consultó la calificación de criterios comunes de toxicidad versión 3.0 del National Cancer Institute (NCI CTC) cuando se evaluó la gravedad del EA. Si un EA no se describió en el NCI CTC, la gravedad se registró en base a la escala debajo. La gravedad de todos los EA/EAG se registraron en la página apropiada CRF como grado 1, 2, 3 ó 4 correspondiente, respectivamente, a una severidad leve, moderada,

severa, o que pone en peligro la vida. Grado 1 (leve) se define como no limitación de las actividades habituales. Grado 2 (moderada) se define como una cierta limitación de las actividades habituales; grado 3 (severa) se define como incapacidad para llevar a cabo las actividades habituales, y grado 4 (con peligro para la vida) se define como riesgo inmediato de muerte.

La relación de un evento adverso o un efecto adverso grave con la medicación del estudio a ciegas se determinó por el investigador en base en las siguientes definiciones. "No relacionados" se define como no relacionados con el fármaco del estudio. "Posiblemente relacionado" se define como un evento clínico/anomalía de laboratorio con una secuencia de tiempo razonable a la administración del fármaco en estudio, pero el cual también podría explicarse por una enfermedad concurrente u otros fármacos/químicos. "Probablemente relacionados" se define como un evento clínico/anomalía de laboratorio con una secuencia de tiempo razonable a la administración del fármaco del estudio, con baja probabilidad de atribuirse a una enfermedad concurrente u otros fármacos y químicos y que sigue una respuesta clínicamente razonable al retirar el fármaco.La asociación de los eventos clínicos/anormalidad de laboratorio también debe tener cierta plausibilidad biológica, al menos en el terreno teórico.

Aclaración entre grave y severo: El término "severo" se usa a menudo para describir la intensidad (severidad) de un evento específico (como en el infarto de miocardio leve, moderado o severo); el evento en sí mismo, sin embargo, puede ser de importancia médica relativamente menor (tal como dolor de cabeza severo). Esto no es lo mismo que "grave", que se basa en los resultados o criterios de acción usualmente asociados con eventos que representan un peligro para la vida o el funcionamiento. La gravedad (no severidad) y la causalidad sirven como una guía para definir las obligaciones de reportes regulatorios.

Supervisión de evento adverso y período de observación: Para los propósitos de este estudio, el período de observación se extendió desde el momento en que el paciente proporciona el consentimiento informado firmado hasta la evaluación final del estudio del paciente. Por razones de seguridad, la evaluación final se definió como la evaluación de la seguridad posterior al estudio llevada a cabo aproximadamente 30 días después de la última infusión para los pacientes que completaron el estudio y no eligieron inscribirse en el estudio clínico abierto a largo plazo posterior, o para los pacientes que interrumpieron o abandonaron el estudio antes de la semana 53.

Para los pacientes que optaron por inscribirse en el estudio clínico abierto a largo plazo posterior, los eventos adversos se supervisaron hasta la semana 53; los eventos adversos que no se resolvieron para la visita de la semana 53 para este estudio se registraron en el historial médico del paciente para el estudio clínico abierto a largo plazo posterior.

Métodos Estadísticos

Metodología estadística general: La población de pacientes con intención de tratar (ITT), se definió como todos los pacientes inscritos que recibieron al menos una infusión (infusión total o parcial). El análisis estadístico de los datos se realizó en la población ITT. Los datos continuos recogidos en la línea de base y en las visitas posteriores del estudio se resumieron usando de estadísticas descriptivas (n, promedio, mediana, mínimo, máximo y desviación estándar). Los datos categóricos se resumieron como frecuencias y porcentajes. Las estadísticas descriptivas se presentaron para todos los pacientes en la población ITT de acuerdo a las características demográficas y de línea de base.

El análisis de los puntos finales secundarios (es decir, los parámetros clínicos) se basó en una hipótesis de no inferioridad como se describe a continuación.

Justificación del tamaño de la muestra: Este fue un ensayo de seguridad, y fue difícil identificar una sola variable primaria de resultado de seguridad para el estudio. Sin embargo, el tamaño de la muestra seleccionado el cual se basó en los parámetros de eficacia era adecuado para la evaluación de los efectos adversos menos frecuentes

La inclusión de al menos 26 pacientes proporcionó la información básica sobre seguridad y tolerabilidad. Del estudio TKT025, el cambio promedio a los 6 meses de los pacientes no indica ningún empeoramiento de los eventos adversos (EA) desde la línea de base. Algunos pacientes tendrán sus EA resueltos, algunos pacientes un empeoramiento de sus EA. Si se supone la variabilidad natural de los pacientes, entonces la oportunidad de ver un empeoramiento para un solo paciente es del 11%. Esta tasa de fracaso del 11% es para un paciente. La probabilidad de que los 26 pacientes en el ensayo no tendrán un EAG es igual a la probabilidad del paciente 1 de no tener un EAG multiplicado por la probabilidad del paciente 2 de no tener un EAG multiplicado por (... etc ...) la probabilidad del paciente 26 de no tener un EAG. Eso es una probabilidad del 95% de que al menos un paciente de 26 mostrará un empeoramiento de un EA desde la línea de base [1 – $(.89)^{26} = 0.95$]. En otras palabras, para un tamaño de muestra de 26, la probabilidad de observar al

menos un evento será 0.95, cuando la probabilidad del evento es 0.11. o, cuando no se observan eventos, obtener un límite superior de 0.11 en el intervalo de confianza del 95% a la probabilidad de un acontecimiento raro, requeriría un tamaño de muestra de 26.

La hipótesis nula es que los cambios promedio desde la línea de base (es decir, el final del tratamiento de imiglucerasa) al mes 12 para cada uno de los parámetros clínicos seleccionados (la concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado y el bazo) están dentro de los valores clínicamente significativos pre-especificado. Los cambios clínicamente significativos desde la línea de base hasta la semana 53 para la hemoglobina se definen como un cambio de no menos de 1 gm/dl, y un cambio del 20% en el conteo de plaquetas. Para el volumen normalizado del hígado y del bazo, los cambios desde la línea de base hasta la semana 53 se definieron como ser no más de un 15% de incremento. La estimación del tamaño de la muestra de 26 pacientes se basó en una prueba t pareada de medias, con una desviación estándar de 0.671 con un nivel alfa de 0.05 de dos lados, y 80% de potencia.

Análisis primario: Todos los pacientes que recibieron al menos una dosis completa o parcial del fármaco del estudio se evaluaron por seguridad clínica y tolerabilidad. Los signos vitales, química clínica y hematología que se recogieron para la supervisión de seguridad se enumeraron para cada paciente y los valores anormales se marcaron. Para las variables categóricas, como EA, se tabularon el número y porcentaje de pacientes que experimentan cada uno de los EA. Los EA se resumieron por la severidad del evento. El número y el porcentaje de pacientes que experimentaron EA relacionados con el fármaco y EA que no se consideraron relacionados con el fármaco del estudio también se mostraron. Las reacciones eventos adversos relacionados con la infusión y las tasas de formación de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa también se resumieron.

La variable clínica principal fue evaluar la seguridad de la alfa velaglucerasa que se administró en semanas alternas a pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I que se encontraban clínicamente estables en la imiglucerasa. La seguridad se evaluó mediante la evaluación de los signos vitales y la documentación de los eventos adversos (por tipo, frecuencia y severidad) en cada visita de estudio, así como por el comportamiento de los exámenes físicos y los cambios en las evaluaciones de laboratorio en las visitas requeridas.

Todos los EA se codificaron por medio del uso del MedDRA Coding Diccionary. Los resúmenes de EA en general se basaron en todos los EA que ocurren después de la primera infusión del paciente del fármaco de estudio (derivados del tratamiento).

Análisis secundarios: Los puntos finales secundarios de este estudio son: el cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en la concentración de hemoglobina, el cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en el conteo de plaquetas, el cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en el volumen del bazo por MRI abdominal (evaluado como % de cambio) (los volúmenes del bazo se normalizaron por el peso corporal), y cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en el volumen de hígado a través MRI abdominal (evaluado como % de cambio) (el volumen del hígado se normalizó por el peso del cuerpo).

Para cada parámetro de la actividad clínica, la hipótesis alternativa es que el cambio medio desde la línea de base (es decir, al final del tratamiento de imiglucerasa) al Mes 12 estaba dentro de los niveles clínicamente significativos especificados para los parámetros a evaluar (donde el cambio medio de la población desde la línea de base para la hemoglobina está dentro de 1 g/dl , el conteo de plaquetas está dentro del 20%, y los volúmenes de hígado y el bazo están dentro del 15%). Esto se evaluó por medio del uso de un intervalo de de confianza de 90% de dos lados para la verdadera diferencia desde la línea de base para estos parámetros clínicos. Por ejemplo, la eficacia de la alfa velaglucerasa se concluyó, si el intervalo de confianza para el cambio desde la línea de base de la hemoglobina estaba dentro del intervalo de -1 a 1 g/dl.

La expectativa del patrocinador es que la concentración promedio de hemoglobina fue esencialmente constante durante el período de 12 meses. Por ejemplo, en lugar de usar un intervalo de confianza del 90% para el análisis de eficacia secundaria para la hemoglobina, se podrían usar el siguiente par de pruebas de hipótesis estadísticas, cada uno a un nivel alfa de 0.05.

$\mathbf{H_{01}: \mu_d \geq 1}$ **Vs** $\mathbf{H_{11}: \mu_d < 1}$

$\mathbf{H_{02}: \mu_d \leq -1}$ **Vs** $\mathbf{H_{21}: \mu_d > -1}$

Al rechazar la primera hipótesis nula (H_{01}) en favor de la primera hipótesis alternativa (H_{11}), uno concluye en el nivel de significación de 0.05 que el cambio promedio del tratamiento desde la línea de base para la hemoglobina es menos de 1 g/dl más alto que el valor de línea de base. Al rechazar la segunda hipótesis nula (H_{02}) en favor de la segunda hipótesis alternativa (H_{21}), se concluye en el nivel de significación de 0.05 que el cambio promedio del tratamiento desde la línea de base para la hemoglobina es mayor de 1 g/dl más bajo que el valor de línea de base. Debido a que H_{01} y H_{02}, no pueden ser simultáneamente verdaderas, la tasa general de error Tipo I es de 0.05 para el par anterior de pruebas de hipótesis. Por lo tanto, al rechazar ambas hipótesis nulas en favor de las hipótesis alternativas, uno concluye en el nivel de significación de 0.05 que la

concentración de hemoglobina del tratamiento (alfa velaglucerasa) se encuentra dentro del intervalo de -1 a 1 g/dl .

El promotor considera que el método de intervalo de confianza es más fácil de interpretar que el método correspondiente por medio del uso de las pruebas de hipótesis. Por tanto, el método de intervalo de confianza se usará para la inferencia secundaria.

Análisis terciarios: Los puntos finales terciarios para este estudio son: cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en los niveles en plasma de quitotriosidasa y de CCL18, el cambio desde la línea de base hasta los 12 meses de la edad ósea de los pacientes de 2 a 17 años de edad, y cambio desde la línea de base hasta los 12 meses en la velocidad de crecimiento y la clasificación de Tanner.

Los puntos finales terciarios se resumieron por medio del uso de estadística descriptiva (promedio, mediana, desviación estándar, mínimo y máximo) en cada punto de tiempo. Para los puntos finales donde los datos se recogieron al inicio y otros puntos de tiempo durante el estudio, se examinaron los cambios dentro de los grupos.

Análisis de subgrupos: Se realizaron análisis adicionales específicamente para pacientes entre 2 a 17 años de edad. Además, se tuvo en cuenta en el análisis de la severidad de la enfermedad a los valores de línea de base de hemoglobina.

Resultados

Se incluyeron 40 pacientes en el análisis con intención de tratar (ITT) (**Tabla 19**), y 38 pacientes (93%) completaron el estudio. Un paciente interrumpió antes de recibir el fármaco de estudio, y dos pacientes en el grupo de 15 U/kg interrumpieron, uno debido a una reacción anafiláctica durante su primera infusión con alfa velaglucerasa, y uno en la semana 31 debido a percibir una falta de mejoría en los síntomas relacionados con Gaucher.

Los pacientes recibieron la alfa velaglucerasa en el mismo número de unidades que su régimen de imiglucerasa anterior. La mediana de uso de imiglucerasa anterior era de 67 meses (intervalo 22-192 meses). Las dosis de alfa velaglucerasa se agruparon en cuatro intervalos: ≤ 22.5 U/kg (n=14), 22.5-37.5 U/kg (n=12), 37.5-52.5 U/kg (n=7), y > 52.5 U/kg (n=7). Los investigadores tenían la opción de aumentar la dosis de alfa velaglucerasa (hasta un máximo de 60

U/kg en semanas alternas) si un paciente demostró un cambio clínicamente significativo en la hemoglobina o el conteo de plaquetas. No se realizaron ajustes de dosis durante el estudio.

Tabla 19 Características del paciente TKT034 en la línea de base

	Población ITT (n=40)
Edad, promedio (intervalo)	36 años (9–71 años); 25% <18 años
Gender, n (%)	18 (45%) hombre / 22 (55%) mujer
Parámetros clínicos, promedio (intervalo)	
Hemoglobina	13.8 g/dl (10.4–16.5 g/dl)
Conteo de plaquetas	162 x 10^9/l (29–399 x 10^9/)
Volumen del hígado*	0.8 MN (0.6–1.6 MN)
Volumen del bazo**	2.5 MN (1.0–16.0 MN)
Biomarcadores, promedio	
Quitotriosidasa	3071.3 nmol/ml/h
ligando 18 quimocina motivo C-C (CCL18)	325.0 ng/ml
Antes del uso de imiglucerasa, promedio (intervalo)	67 meses (22–192 meses)
Anticuerpo anti-imiglucerasa positivo antes de recibir alfa velaglucerasa, n (%)	3 (8%)

* Un volumen del hígado normal es 2.5% del peso corporal.

**En 36 pacientes con bazo intacto; cuatro pacientes tuvieron que someterse a esplenectomía antes de la inscripción. Un volumen del bazo normal es 0.2% del peso corporal. MN=múltiplos del normal.

Los parámetros clínicos se mantuvieron a niveles terapéuticos durante 1 año (**Tabla 20**).

Tabla 20

	N	Promedio de la línea de base	Cambio promedio o % cambio desde la línea de base hasta los 12 meses	90% CI	Cortes clínicamente significativos
Concentración de hemoglobina (g/dl)	40	10.8	-0.1	-0.3, 0.1	-1, 1
Conteo de plaquetas ($x10^9$/l)	40	162	7.0%	0.5%, 13.5%	-20%, 20%
Volumen del hígado normalizado (% de peso corporal)	40	1.9	0.0%	-2.6%, 2.6%	-15%, 15%
Volumen del bazo normalizado (% de peso corporal)	36	0.5	-5.6%	-10.8%, -0.4%	-15%, 15%

La alfa velaglucerasa fue generalmente bien tolerada, con la mayoría de los eventos adversos (EA) de severidad leve o moderada (Tabla 21). (**Tabla 21**). El EA más frecuentemente reportado fue nasofaringitis (8/40 pacientes), artralgia (9/40 pacientes) y dolor de cabeza (12/40 pacientes). En general, 11 de 40 pacientes (28%) experimentaron un EA considerado posible o probablemente relacionados con el fármaco del estudio, la mayoría de estos eventos se consideraron relacionados con la infusión. Ningún paciente experimentó un EA con peligro para la vida. Un evento adverso severo se consideró probablemente relacionado con el tratamiento y se produjo en un paciente que tuvo una reacción de hipersensibilidad severa. Este paciente resultó negativos para los 4 isotipos (IgE, IgM, IgG, IgA), lo que incluyó anticuerpos neutralizantes, tanto en el momento de la infusión y como 2 semanas después. Un paciente (en el grupo de 15 U/kg) experimentó una reacción anafiláctica que motivó la interrupción; ningún otro paciente interrumpió debido a EAs. Ningún paciente desarrolló anticuerpos IgG a la alfa velaglucerasa, lo que incluye tres pacientes que fueron positivos para anticuerpos anti-imiglucerasa alfa en la selección.

Tabla 21 Sumario de seguridad TKT034

	Pacientes, n (%)				
	Total (n=40)	**15 U/kg (n=15)**	**30 U/kg (N=12)**	**45 U/kg (n=6)**	**60 U/kg (n=7)**
Experimentado ≥1 AE* derivado del tratamiento	**34 (85)**	12(80)	11(92)	5 (83)	6 (86)
Experimentado ≥1 AE relacionado con fármaco	**11 (28)**	6 (40)	3 (25)	1 (17)	1 (14)
Experimentado ≥1 AE relacionado con infusión†	**9 (23)**	6 (40)	2 (17)	0	1 (14)
Experimentado ≥1 AE severo	**5 (13)**	0	2 (17)	1 (17)	2 (29)
Experimentado ≥1 AE con peligro para la vida	**0**	0	0	0	0
Experimentado ≥1 AE grave	**4 (10)**	1 (7)	1 (8)	2 (33)	0
Descontinuado debido a un AE	**1 (3)**	1 (7)	0	0	0
Muertes	**0**	0	0	0	0

Anticuerpos anti-alfa velaglucerasa desarrollados	**0**	0	0	0	0

*Un AE derivado del tratamiento se definió como los AE que occurrieron en o después del día de la primera infusión hasta los 30 días posteriores a la última infusión del paciente.

†Un AE relacionado con la infusión se definió como un AE que 1) se inicia durante o dentro de las 12 horas después del inicio de la infusión, y 2) se considera como posible o probablemente relacionado con el fármaco del estudio.

Las tres primeras infusiones para cada paciente se administraron en el sitio clínico, después de lo cual los pacientes que no experimentaron un EA grave relacionado con el fármaco o un EA relacionado con la infusión se eligieron para recibir infusiones posteriores a domicilio. Durante el estudio, 25 (63%) de 40 pacientes elegibles recibieron tratamiento en el domicilio al menos una vez, diez pacientes (67%) en el grupo 15 U/kg, seis (50%) en el grupo de 30 U/kg, cinco (83 %) en el grupo de 45 U/kg, y cuatro (57%) en el grupo de 60 U/kg.

Para la concentración de hemoglobina, el cambio promedio desde la línea de base fue de -0.1 g/dl, con un intervalo de confianza del 90% de -0.3 a 0.1 g/dl, dentro del criterio de eficacia predefinido de ± 1 g/dl. Para el conteo de plaquetas, el porcentaje de cambio desde la línea de base fue +7.0%, con un intervalo de confianza del 90% de 0.5 a 13.5%, dentro del criterio de eficacia predefinido de ± 20%. Para el volumen del hígado, el porcentaje de cambio desde la línea de base fue -0.0%, con un intervalo de confianza del 90% de -2.6 a 2.6% dentro del criterio de eficacia predefinido de ±15%. Para el volumen del bazo, el porcentaje de cambio desde la línea de base fue -5.6%, con un intervalo de confianza del 90% de -10.8 a -0.4% dentro del criterio de eficacia predefinido de ±15%. La concentración de hemoglobina, el conteo de plaquetas, y el volumen del hígado y del bazo se mantuvieron en niveles terapéuticos a través de 1 año de tratamiento con alfa velaglucerasa, como se demuestra por los criterios de eficacia pre-especificados para el cambio clínicamente significativo. El cambio promedio en la hemoglobina y el porcentaje de cambio promedio en el conteo de plaquetas y el volumen de los órganos se muestran en las **Figuras 15-18**. Para cada parámetro, se observaron resultados similares en los cuatro grupos de dosis.

El porcentaje de cambio en la quitotriosidasa de plasma y CCL18 de plasma se muestran en **las Figuras 19** y **20**. Los niveles de ambos marcadores se mantuvieron y posiblemente se redujeron a lo largo del período de tratamiento de 12 meses.

Ejemplo 5: Estudio HGT-GCB-058

Sumario

HGT-GCB-058 es un estudio de tratamiento abierto, multicéntrico para observar la seguridad de la alfa velaglucerasa en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I, que se diagnosticaron recientemente (sin tratamiento previo) o que transitaron de imiglucerasa a alfa velaglucerasa. El diseño del estudio fue para pacientes masculinos o femeninos de dos años de edad o mayores. La velaglucerasa se administró a una dosis de 15-60 U/kg en semanas alternas (EOW) por una infusión intravenosa (IV) de 1 hora. Los pacientes recibieron el mismo número de unidades de alfa velaglucerasa que su dosis anterior de imiglucerasa (los pacientes que recibieron <15 U/kg de imiglucerasa EOW recibieron 15 U/KG de alfa velaglucerasa). La tasa de infusión fue un máximo de 1 U/kg/minuto.

Pacientes y métodos

HGT-GCB-058 se inició para proporcionar una alternativa de tratamiento para los pacientes que de otro modo tienen un acceso limitado o nulo a la imiglucerasa, debido a restricciones de oferta. El punto final primario fue observar la seguridad de la alfa velaglucerasa.

Para HGT-GCB-058, dentro de los 3 meses de iniciar el primer sitio, 20 centros clínicos en los Estados Unidos reclutaron pacientes. Entre el 1 de septiembre del 2009 y el 31 de enero del 2010 más de 150 pacientes se inscribieron en HGT-GCB-058, y recibieron al menos una infusión de alfa velaglucerasa. Sólo 3 pacientes fueron sin tratamiento previo, todos los demás se trataron previamente con imiglucerasa.

Resultados preliminares de seguridad

Interrumpieron: : <10%; Abandono de consentimiento & otros (<10%), Experiencia de EA que incluye EAG (<2%).

Eventos adversos derivados del tratamiento (TE-EA):

Pacientes sin tratamiento previo (n=3): No EA graves, no EA severos, dos pacientes experimentaron EA moderados: dolor de cabeza (moderado) y dolor de espalda (moderado) (relacionados con la infusión - posiblemente relacionado)

Tratados previamente con imiglucerasa (n>150): 35.8% al menos un TE-EA; 18.2% al menos un TE-EA posiblemente/probablemente relacionado; 13,8% al menos una reacción

relacionada con la infusión; <1% - EA grave (una mujer de 69 años de experimentó un accidente cerebrovascular severo que requirió hospitalización) no relacionado; 3,1% - al menos un EA severo: artralgia (no relacionado), fatiga (probablemente relacionado), dolor en los huesos (no relacionado), dolor en las extremidades (no relacionado), leucopenia (posiblemente relacionado), accidente cerebrovascular (no relacionado).

Ejemplo 6: Estudio comparativo

El objetivo de este ejemplo es comparar la eficacia de Ceredase®, Cerezyme®, alfa velaglucerasa, Genz-112638, y Zavesca® en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher tipo I. La concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado y volumen del bazo se midieron después de 6, 9 ó 12 meses de tratamiento.

Dosis: La terapia de remplazo enzimático (ERT): 60U/kg EOW; Genz112638: 50 & 100 mg BID; Zavesca: 100 mg TID

Relación de hombres a mujeres: Cerezyme (8 a 7); Ceredase (3 a 2); Velaglucerasa estudio Ph I/II TKT025 (5 a 7); Velaglucerasa-estudio TKT032 dosis-45U/kg (8 a 5); velaglucerasa-estudio TKT032 - dosis 60U/kg (7 a 5); Zavesca (1 a 1); Genz-112638 (3 a 4)

Criterios de inclusión:

Cerezyme & Ceredase: anemia & esplenomegalia

Velaglucerasa TKT025: anemia y trombocitopenia

Genz-112638: anemia, trombo, & esplenomegalia

Zavesca dosis:organomegalia & <100/nl Pl o <11.5 Hb

Velaglucerasa HGT-GCB-039 y TKT032: anemia y una manifestación de otro parámetro

La comparación de los valores de línea de base en pacientes vírgenes se muestra en la **Tabla 22**.

Tabla 22

	Hemoglobina (g/dl)	Plaquetas (células / nl)	Vol. hígado MN (l)	Vol. bazo MN (l)
Ceredase®	10.8	71	1.83	24
Cerezyme®	10.7	72	1.65	19
velaglucerasa	11.6	57	1.95 (2.4l)	19 (2.1l)

(Fase I/II TKT025)				
Velaglucerasa (TKT032-45U/kg dosis)	10.9	58	3.50 (% de peso corporal)	2.90 (% de peso corporal)
Velaglucerasa (TKT032) 60U/kg dosis	10.83	66	3.60 (% de peso corporal)	2.90 (% de peso corporal)
Genz-112638	11	70	1.7	19
Zavesca®	11.9	77	(2.4l)	(1.6l)

MN=múltiplo del normal

Los resultados comparativos de los pacientes tratados con Ceredase®, Cerezyme®, alfa velaglucerasa, o Genz-112638 por seis meses se muestran en la**Tabla 23**.

Tabla 23

	Volumen de reducción promedio del bazo (%)	**Volumen de reducción promedio del hígado (%)**	**Aumento de plaquetas promedio o (%) [actual]**	**Aumento De hemoglobina promedio (g/dl)**
Ceredase®[1] 6mo	32.1 ± 8.8	11.4 ± 9.4	34 [16 /nl]	1.60
Cerezyme®[1] 6mo	37.3 ± 13.6	13.4 ± 13.1	22 [23 /nl]	1.82
velaglucerasa[2] 6mo (n=11)	41.3 ± 9.8	14.7 ± 12.0	38 [23.4 ± 24.6 /nl]	1.92 ± 0.82
Genz-112638[3] 6mo (n=17-21)	27	7	18 [12.5 /nl[4]]	0.9

1 Datos para Cerezyme y Ceredase según lo reportado por Grabowski *y otros* (1995) *Ann. Intern. Med.***122**, 33-39.

-Aumento promedio del conteo de plaquetas en células/nl para Cerezyme y Ceredase son de Cerezyme SBA.

2 resultados para alfa velaglucerasa fase I/II

3 Oppenheimer Analyst Report: 8 de mayo de 2008 del Genzyme Analyst Day 2008

4 Calculado multiplicando los valores de la línea de base por el porcentaje de cambio

ERT administrado a 60U/kg EOW, Genz112638 administrado a 50 & 100mg BID

Los resultados comparativos de los pacientes tratados con Ceredase®, Cerezyme®, alfa velaglucerasa, o Genz-112638 por nueve a doce meses se muestran en la **Tabla 24**.

Tabla 24

	Reducción del volumen del bazo promedio (%)	**Reducción del volumen del hígado promedio (%)**	**Aumento de plaquetas promedio (%) [actual]**	**Aumento de hemoglobina promedio (g/dl)**
Ceredase[1] 9mo (n=15)	42.2 ± 6.9	16.4 ± 8.4	53.2 [25.1 /nl]	2.28
Cerezyme[1] 9mo (n=15)	47.1 ± 13.7	21.4 ± 10.8	43.5 [30.9 /nl]	2.54
velaglucerasa[2] 9mo (n=11)	49.5 ± 12.6	18.2 ± 8.2	67.6 [40.6 ± 30.7 /nl]	2.24 ± 0.89
velaglucerasa[3] 1yr (n=10)	no disponible	no disponible	95.3 ± 21.2 [54.9 ± 11.1]	2.35 ± 0.3
velaglucerasa[4] 1yr (n=12)	50.4 ± 5.3	17.0 ± 4.5	65.9 ± 16.9 [50.88 ± 12.2]	2.43 ± 0.3
velaglucerasa[5] 1yr (n=10)			40.92	2.44
Genz-1126383[5] 1yr (n=11-13)	40	17	40 [26 /nl4]	1.6

1 Datos para Cerezyme y Ceredase 9-Mo según lo reportado por Grabowski *y otros* (1995) *Ann. Intern. Med.***122**, 33-39. La dosis fue 60U/kg en semanas alternas (EOW).

-el aumento promedio en el conteo de plaquetas en células/nl calculado a partir de datos básicos

2 datos para alfa velaglucerasa 9-Mo de TKT025 (Fase I/II) – 60U/kg dosis EOW

3 datos para alfa velaglucerasa 12-Mo de TKT025Extension – 60U/kg dosis EOW

4 datos para alfa velaglucerasa 12 Mo de TKT032 – 60U/kg dosis EOW

5 datos para velaglucerasa afa 12 Mo de TKT032 – 45U/kg dosis EOW

3 WORLD meeting presentation, Feb. 20, 2009 – administrado a 50 & 100 mg BID

Conclusiones: este estudio muestra que alfa velaglucerasa fue al menos tan eficaz como Ceredase®, Cerezyme®, Genz-112638, y Zavesca® en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher tipo I, sobre la base de la medición de la concentración de hemoglobina, conteo de plaquetas, volumen del hígado, y volumen del bazo, 6, 9 ó 12 meses después de que inició el tratamiento.

Ejemplo 7: Ensayos de anticuerpos anti- fármaco (ADA)

Sumario

El desarrollo de anticuerpos contra las proteínas terapéuticas puede impactar la seguridad del paciente, la eficacia y la farmacocinética del fármaco. Se desarrolló y validó un panel de ensayos para anticuerpos anti-fármacos (ADA) y anticuerpos neutralizantes (NAB) con el fin de evaluar y comparar la respuesta de anticuerpos en pacientes que reciben alfa velaglucerasa o imiglucerasa en uno de tres estudios de alfa velaglucerasa en fase III.

La evaluación de la inmunogenicidad potencial de una terapia biológica, tal como una terapia de remplazo enzimático (ERT) se realizó mediante las siguientes etapas:

1. Detección de anticuerpos a la ERT
    i. Permite los falsos positivos
    ii. Amplia especificidad por todos los isotipos
    iii. Tolerante a la presencia de fármaco
2. Etapa confirmatoria
    i. Descartar los falsos positivos
    ii. Específica por el isotipo
3. Etapa de titulación

i. Concentración relativa

4. Prueba de anticuerpos neutralizantes
    i. Actividad in vitro
    ii. Captación celular in vitro

Esta evaluación se puede realizar para cualquier ERT.

Un ejemplo de tal evaluación se muestra en la **FIG. 21**.

Métodos de inmunoensayo

Los anticuerpos anti-alfa velaglucerasa y anti-imiglucerasa se evaluaron de forma idéntica por medio del uso de inmunoensayos de puente e inmunoensayos indirectos específicos por subclase de inmunoglobulina (Ig), todos basados en una plataforma electroquimioluminiscente, así como ensayos de RIP. El inmunoensayo electroquimioluminiscente de puente detecta todas las subclases de inmunoglobulinas, y se consideró la prueba de detección de anticuerpos. El inmunoensayo electroquimioluminiscente para subclase de Ig fue un ensayo confirmatorio de la presencia de IgA, IgM e IgE, mientras que el ensayo de RIP fue confirmatorio de la presencia de anticuerpos IgG. Los ensayos de detección de anticuerpos y los ensayos de IgG fueron calibrados, cuantitativos y usaron anticuerpos humanos como controles positivos. Los ensayos de IgA, IgM e IgE fueron semi-cuantitativos y usaron híbridos (humano-oveja) como controles positivos.

Todos los inmunoensayos de anti-alfa velaglucerasa y anti-imiglucerasa fueron idénticos, incluidos los criterios de corte positivo, excepto que la alfa velaglucerasa o la imiglucerasa se usaran para interrogar a la muestra. Estos ensayos son de alta capacidad, proporcionan un área de superficie mayor para la detección, permiten el uso de muestra con alta concentración de suero con un mínimo de unión no específica y detectan todas las subclases de anticuerpos.

Ensayos de detección de anticuerpos

Como se muestra en la **Figura 22**, la detección de anticuerpos anti-fármaco se puede realizar por medio del uso de un inmunoensayo electroquimioluminiscente (ECL).

Los anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) se detectaron por medio del uso de alfa velaglucerasa (o imiglucerasa) conjugada a biotina inmovilizada en placas de micropocillos recubiertas con estreptavidina. La alfa velaglucerasa (o imiglucerasa) biotinilada inmovilizada capturó anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) presentes en el suero de los pacientes y las proteínas que no se unieron se eliminaron mediante lavado. Se añadió alfa

velaglucerasa (o imiglucerasa) marcada con rutenio complejo a cada pocillo lo que resultó en la formación de un complejo con los anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) unidos. A esto siguió una segunda etapa de lavado, en el que se eliminaron las proteínas que no se unieron.

Las moléculas marcadas que se unen cerca de la superficie de micropocillos emiten luz en un proceso desencadenado por la reacción de electroquimioluminiscencia, que se mide por un instrumento MSD Sector Imager 2400 (http://www.mesoscale.com/CatalogSystemWeb/WebRoot/products/imager_2400.aspx). Un anticuerpo monoclonal de ratón con reactividad cruzada con alfa velaglucerasa e imiglucerasa se usó como un calibrador dentro de cada placa de ensayo y un anticuerpo humano anti-imiglucerasa con reactividad cruzada con alfa velaglucerasa se uso como control positivo del ensayo. La concentración de anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) en las muestras de prueba se estimó por interpolación de la señal electroquimioluminiscente medida de desconocidos en la curva de calibración.

Un mínimo de 67 líneas de base de pacientes de Gaucher se evaluaron con el fin de establecer los puntos de corte de anticuerpos positivos para estos ensayos. El diseño de la prueba incluye al menos tres analistas que examinan muestras replicadas por medio del uso de diferentes números de lote de placa durante un período de al menos 14 días. Se usaron por lo menos tres lotes diferentes de microplacas. Se usaron al azar dos instrumentos MSD disponibles para un total de 1269 determinaciones para cada ensayo. El punto de corte del ensayo para anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) se estableció como el promedio más la desviación estándar de 1.645 de los valores de electroquimioluminiscencia obtenidos como se recomienda en Mire-Sluis, AR *y otros*, *Journal of Immunological methods* 289 (2004), pp 1-16. La sensibilidad del ensayo se estimó en 33.4 y 65.6 ng/ml para anticuerpos anti-alfa velaglucerasa y anti-imiglucerasa, respectivamente.

Las características de detección para este ensayo (por medio del uso de la velaglucerasa como el fármaco) se muestran en la **Tabla 25**.

La descripción muestra para cada parámetro, ensayos de detección de ADA altamente sensibles y reproducibles que se validaron para evaluar la respuesta de anticuerpos en pacientes que reciben alfa velaglucerasa o imiglucerasa.

Tabla 25

Parámetro	**Especificación**

Imprecision, % RSD Intra ensayo Inter ensayo	 ≤6.2 ≤8.5
Precisión, %	93.5 – 107.7
Sensibilidad,1 ng/ml	100
LOD,2 ng/ml	5
LOQ, ng/ml	15
Controles positivos	ADA de oveja & humano
Calibrador	ADA monoclonal de ratón

ADA = anticuerpo anti-fármaco; LOD = límites de detección; LOQ = límite de cuantificación; RSD = desviación estándar relativa

La curva de dosis respuesta del ensayo de detección para velaglucerasa se muestra en la **Figura 23**.

Un ejemplo de la afinidad y la cinética de unión de un ADA monoclonal en la plataforma BIACORE® se muestra en la **Tabla 26**. Se observaron afinidades por el ligando y cinéticas de unión similares para el calibrador del ensayo de ADA.

Tabla 26

Ligando	**ka (1/Ms)**	**kd (1/s)**	**KD (M)**
velagucerasa alfa	9.2E+05	2.7E-04	3.0E-10
imiglucerasa	2.8E+06	1.0E-04	3.7E-10
alfa velaglucerasa biotinilada	4.0E+05	2.2E-04	5.4E-10
imiglucerasa biotinilada	2.0E+06	9.5E-04	4.8E-10

Ensayo de radioinmunoprecipitación

Si el anticuerpo anti-fármaco se detecta en una muestra, se pueden realizar los ensayos de confirmación para determinar el isotipo Ig del anticuerpo. Los anticuerpos inmunoglobulina G (IgG) se detectaron por medio del uso de radioinmunoprecipitación. Un ensayo de radioinmunoprecipitación (RIP) se muestra en la **Figura 24**.

En el ensayo de radioinmunoprecipitación, los anticuerpos IgG anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) presentes en el suero del paciente se unieron a ^{125}I-alfa velaglucerasa (o imiglucerasa) en fase en solución y se formaron complejos antígeno/anticuerpo que se capturaron por medio del uso de mini-columnas de proteína G. Las mini-columnas se lavaron para eliminar el marcador libre y se cuantificaron directamente en un contador gamma. Los recuentos de radioactividad que se retuvieron en las mini-columna fueron proporcionales a la concentración de anticuerpos IgG anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) en la muestra de prueba. La concentración de anticuerpos IgG anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) en las muestras de prueba se estimaron a partir de una curva de calibración por medio del uso del mismo anticuerpo monoclonal calibrador que se discutió anteriormente. El mismo anticuerpo humano control positivo descrito anteriormente se usó en este ensayo.

La correspondencia de la línea de mínimos cuadrados con la curva de calibración que se basa en el anticuerpo monoclonal de alta pureza, por medio del uso de concentraciones conocidas de anticuerpo bien caracterizadas, proporcionó un método fiable y consistente para el cálculo de la incertidumbre en las determinaciones del ensayo. Esta herramienta permite la normalización del punto de corte para los cambios en los conteos inter-ensayo que pueden producirse por el decaimiento del agente radiomarcado, radioautolisis y/o la variabilidad en el manejo del ensayo, así como permite cambios en la unión no específica y cambios en las lecturas del ensayo que pueden ocurrir en el tiempo.

Un total de 59 líneas de base de paciente de Gaucher se pusieron a prueba con el fin de establecer el punto de corte positivo de anticuerpos para este ensayo. Los puntos de corte del ensayo para IgG anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa) se establecieron como se describió anteriormente y se recomienda en el Mire-Sluis y otros [2]. La sensibilidad del ensayo se estimó en 28.3 y 64.5 ng/ml para los ensayos de IgG anti-alfa velaglucerasa e IgG anti-imiglucerasa, respectivamente.

Un ejemplo de los resultados obtenidos con tal ensayo por medio del uso de velaglucerasa como el fármaco se muestra en la **Tabla 27**.

Análisis confirmatorios IgG ADA altamente sensibles y reproducibles se validaron para evaluar la respuesta de anticuerpos en pacientes que reciben alfa velaglucerasa o imiglucerasa.

Tabla 27

Parámetro	**Especificación**
Imprecision, % RSD	
Intra ensayo	≤8.7
Inter ensayo	≤12.0
Precisión, %	90.5 – 132.8
Sensibilidad,1 ng/ml	80
LOD,2 ng/ml	4
LOQ, ng/ml	13
Controles positivos	ADA de oveja & humano
Calibrador	ADA monoclonal de ratón

ADA = anticuerpo anti-fármaco; LOD = límites de detección; LOQ = límite de cuantificación; RSD = desviación estándar relativa

Un ejemplo de una curva dosis respuesta obtenida para un ensayo RIP usando velaglucerasa se muestra en la **Figura 25**.

Inmunoensayos electroquimioluminiscente indirectos

Paralelamente a la detección de anticuerpos IgG, se realizan ensayos para detectar la presencia de anticuerpos IgE. Los ensayos también se pueden realizar para detectar la presencia de anticuerpos IgA e IgM.

ADA IgA, IgM, e IgE se detectaron por medio del uso de ensayos de ECL. Un ejemplo de tal ensayo se muestra en la **Figura 26**.

Se analizaron los anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa) por su subclase de Ig por medio del uso de inmunoensayos de electroquimioluminiscencia indirectos. Se detectaron los anticuerpos en el suero por alfa velaglucerasa (imiglucerasa) biotinilada en placas de micropocillos

recubiertas de estreptavidina. Se añadieron las muestras de suero diluidas a la alfa velaglucerasa (imiglucerasa) inmovilizada, la cual capturó cualquier anticuerpo anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa) presente en la muestra. Después de la incubación de la muestra, los pocillos se lavaron para eliminar las proteínas no unidas. A continuación, se añadieron separadamente complejos rutenio-anticuerpos secundarios anti-humanos contra IgA, IgM o IgE y se incubaron adicionalmente lo que resulta en la formación de complejos específicos por una clase de Ig enlazados con cualquier anticuerpo unido anti-alfa velaglucerasa o imiglucerasa. A esto le siguió otra etapa de lavado, en la cual se eliminó el anticuerpo secundario marcado no unido. Las moléculas marcadas unidas cerca de la superficie de los micropocillos entonces emiten luz como se describió anteriormente.

Se prepararon anticuerpos artificiales como controles positivos para estos ensayos ya que no estaban disponibles anticuerpos IgA, IgM o IgE anti-alfa velaglucerasa (anti-imiglucerasa). Se sintetizaron anticuerpo híbridos de IgA- IgM- e IgE- humanas al entrelazar químicamente fragmentos de IgA, IgM e IgE humanas purificadas con un anticuerpo producido en oveja hiperinmunizada con alfa velaglucerasa y con reactividad cruzada con imiglucerasa. Los híbridos de anticuerpos IgA-, IgM- y IgE- por lo tanto se unieron a la alfa velaglucerasa (o imiglucerasa) a través del dominio de anticuerpo de oveja, y se detectaron por medio del uso de anticuerpos anti-humanos secundarios marcados con complejos de rutenio contra los dominios IgA, IgM o IgE humanos, respectivamente .

Los puntos de corte del ensayo para IgA, IgM e IgE anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa) se establecieron como se describió anteriormente y se recomienda en el Mire-Sluis y otros [2]. La sensibilidad del ensayo se estimó en 10.6 y 11.0 ng/ml para los ensayos de IgE anti-alfa velaglucerasa e IgE anti-imiglucerasa, respectivamente. Para los anticuerpos IgA e IgM anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa), los puntos de corte positivos del ensayo tenían que encontrarse en adición a una relación mayor que o igual a 2.0 de la señal de punto de tiempo a la señal de línea de base pre-infusión [3].

Para estos ensayos, se pueden usar controles positivos híbridos. Por ejemplo:

- ADA IgG de oveja, e IgA IgM e IgE humana, se tratan para producir proteínas activadas por piridiltiol (véase Gu M. L., Feng S. L., y Glenn J. K. Development of an animal-human antibody complex for use as a control in ELISA. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 32 (2003), 523-529)

- IgA, IgM e IgE activada se reducen y se desalan

- IgG activada se mezcla con IgA, IgM o IgE reducidas

- Los anticuerpos híbridos formados se caracterizaron por cromatografía de exclusión por tamaño y ELISA ECL

- Se obtuvieron relaciones molares humano/oveja de 5 para IgA e IgM, y 2 para la IgE

Un ejemplo de las características confirmatorias del ensayo de IgA, IgM e IgE (cuando se usó velaglucerasa como el fármaco) se muestra en la **Tabla 28**.

Ensayos de isotipado de ADA IgA, IgM e IgE altamente sensibles y reproducibles se validaron para evaluar la respuesta de anticuerpos en pacientes que reciben alfa velaglucerasa o imiglucerasa.

Tabla 28

Parámetro[4]	**Especificación del ensayo IgA**	**Especificación del ensayo IgM**	**Especificación del ensayo IgE**
Imprecision, % RSD			
Intra ensayo	≤3.1	≤6.2	≤6.6
Inter ensayo	≤4.8	≤3.7	≤13.3
Especificidad	Fc cadena α	Fc cadena μ	Fc cadena ε
Linealidad,[1] ng/ml	156 – 2000	156 – 2500	156 – 10000
LOD,[2] conteos ECL	260	460	240
Controles positivos[3]	ADA híbrido	ADA híbrido	ADA híbrido

[1]basado en la respuesta del híbrido control; [2]punto de corte positivo; la relación de punto de tiempo a valores de línea de base debe ser ≥2.0; [3]controles ADA híbrido humano/oveja; [4]ensayos de isotipado de ADA IgA, IgM e IgE altamente sensibles y reproducibles se validaron para evaluar la respuesta del anticuerpo en pacientes que reciben alfa velaglucerasa o imiglucerasa

ADA = anticuerpo anti-fármaco; LOD = límites de detección; LOQ = límite de cuantificación; RSD = desviación estándar relativa

Inhibición por el anticuerpo de la actividad enzimática in vitro

La inhibición de la actividad enzimática *in vitro* por anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa) se evaluó mediante un ensayo que detecta y cuantifica los anticuerpos que inhiben la actividad de la alfa velaglucerasa (imiglucerasa). El método se basa en un ensayo de actividad colorimétrico que mide la capacidad de la alfa velaglucerasa (imiglucerasa) para hidrolizar el substrato sintético 4-nitrofenil-β-D-glucopiranósido a p-nitrofenol y D glucopiranósido.

Las muestras de suero positivas para anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa) se pre-incubaron con una cantidad fija de alfa velaglucerasa o imiglucerasa, respectivamente, durante 30 minutos a 37°C. Anticuerpos de ovejas policlonales que inhiben la actividad de la alfa velaglucerasa e imiglucerasa *in vitro* se usaron como controles positivos. A continuación se añadió la solución de sustrato 4-nitrofenil- β -D-glucopiranósido y se incubó con la mezcla muestra de suero/enzima durante una hora a 37 °C. La reacción enzimática se detuvo por adición de tampón glicina/carbonato de sodio (pH 10.7) y el producto (p-nitrofenol) se midió a la longitud de onda de absorbancia de 405 nm. Una unidad de actividad de alfa velaglucerasa (imiglucerasa) se define como la cantidad de enzima requerida para hidrolizar un µmole del sustrato 4-nitrofenil- β -D-glucopiranósido en un minuto a 37 °C. La actividad enzimática se cuantificó por comparación del p-nitrofenol liberado en muestras de prueba y controles de ensayo con una curva de calibración de p-nitrofenol medido en la misma placa de ensayo. Los resultados de las muestras de prueba se expresaron en relación a la actividad de alfa velaglucerasa (imiglucerasa) medida en ausencia de muestra de suero y que se informó como % de inhibición.

El punto de corte del ensayo se determinó a partir de sueros de donantes humanos sanos individuales (N=52) y pacientes de Gaucher no tratados previamente con la terapia de remplazo enzimático (N=35). El punto de corte para los ensayos de anticuerpos neutralizantes de alfa velaglucerasa e imiglucerasa se definió como la inhibición >20.0% basada en estas 87 muestras. Por lo tanto, una muestra de paciente se consideró como negativa para anticuerpos inhibidores si el nivel de inhibición observada fue ≤ 20.0% y para ser positivo si la inhibición > 20.0%.

Ensayo in vitro basado en células

Se usó un ensayo in vitro basado en células para ensayar los anticuerpos anti-fármacos para determinar si los anticuerpos eran neutralizantes.

La Tabla 29 muestra la especificación de las características del ensayo para neutralizar los niveles del anticuerpo anti-fármaco (se usó velaglucerasa como el fármaco).

Tabla 29

Parámetro	Especificación
Imprecision, % RSD Intra ensayo Inter ensayo	 ≤12.9 ≤6.1
Precisión, %	86.7 – 92.7
Linealidad, mU/ml	0.3 – 33.3
Punto de corte positivo,[1] % inhibición	>20
LOD, mU/ml	0.3
LOQ, mU/ml	1.0
controles positivos	ADA de oveja & humano

[1]n=104 NHS y 70 pacientes Gauche que no recibieron tratamiento ERT

LOD = límites de detección; LOQ = límite de cuantificación; RSD = desviación estándar relativa

Con respecto a los anticuerpos neutralizantes en ERT como ERT para la enfermedad de Gaucher, los puntos a considerar incluyen:

- La captación celular mediada por el receptor es crítica para la función in vivo del agente terapéutico
- La interferencia de unión al receptor por ADA puede impedir el tráfico de la enzima.
- La inhibición de la captación celular es una herramienta importante para evaluar una ERT exitosa ya que
    - Imita el mecanismo por el cual el NAb puede ejercer un efecto in vivo, y
    - El NAb podría reducir o suprimir la actividad biológica del agente terapéutico
- Los ensayos basados en células proporcionan el modelo biológico más adecuado para la evaluación de NAb

Las muestras de pacientes sometidos a ERT en ensayos clínicos para la enfermedad de Gaucher se evaluaron para los anticuerpos neutralizantes a velaglucerasa o imiglucerasa. Los resultados se muestran en **la Tabla 30.**

Tabla 30

ID del Paciente	Tratamiento	Inhibición de la captación de imiglucerasa, % promedio				Inhibición de la captación de velaglucerasa, % promedio			
		Semana de visita				Semana de visita			
		0	13	19	41	0	13	19	41
032-191-0002	velaglucerasa	NS[2]				NS			
039-009-0001	imiglucerasa								
039-194-0001	imiglucerasa								
039-194-0002	imiglucerasa								
039-167-0001	imiglucerasa	NT3	38	38	33	NP	4	5	5
034-027-0002	imiglucerasa[1]	NS	NT[3]			NS	NP		
034-154-0001	imiglucerasa[1]	5				10			
034-164-0001	imiglucerasa[1]	38				10			
Una marcada inhibición basada en la célula de la captación de imiglucerasa se observó en dos pacientes positivo para ADA La inhibición basada en la célula de la captación de velaglucerasa fue insignificante o no se observó en cualquier paciente positivo para ADA probado									

[1]recibiendo previamente tratamiento con imiglucerasa y cambió a alfa velaglucerasa al inicio del ensayo; [2]no significativo (menos que el límite de cuantificación); [3]no probado hasta ahora; punto de tiempo negativo para anticuerpos anti-alfa velaglucerasa

Ensayo I in vitro basado en células

Objetivos principales: Se realizaron experimentos para determinar la capacidad de los anticuerpos humanos que reaccionan con alfa velaglucerasa y/o imiglucerasa para inhibir (bloquear o neutralizar) la captación de las enzimas recombinantes mediada por CD206 por una línea celular humana (HT1080) diseñada para expresar CD206, y para comparar a este respecto las anticuerpos anti-fármacos (ADA) que se producen en respuesta a la imiglucerasa a los producidos en respuesta a la alfa velaglucerasa. La hipótesis es que existen diferencias antigénicas entre la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa; estos epítopes diferenciarán la alfa velaglucerasa de la

imiglucerasa con respecto al efecto funcional de los ADA en la unión a la célula, internalización celular, y/o el tráfico intracelular del agente terapéutico.

Materiales y equipo:

Materiales Críticos

1. La línea celular MRC1-18 se deriva de la línea HT1080 y está establemente transfectada con CD206 humano (el receptor de manosa de macrófagos; MMR, también referido como MRC1, receptor de manosa C tipo 1). Las células HT1080(saf) se transfectaron con un vector de expresión que porta el gen que codifica el MMR (que se aisló de una biblioteca de ADNc de hígado humano) por electroporación e inmediatamente se sembraron en placas de 96 pocillos. Los clones estables se seleccionaron por medio del uso de medios que contienen 0.4 mg/ml de G418. La expresión de MRC1 se analizó por medio del uso de tinción anti-MRC1 FITC y el análisis por el cambio de fluorescencia. La expresión de MMR en MRC1-18 se confirmó por tinción de la superficie con Ab anti-MMR. Además, se verificó por inmunotinción y citometría de flujo que MRC1-18 fuera negativo para la expresión de receptores Fc (gamma).

2. Alfa velaglucerasa e imiglucerasa conjugadas con Alexa Fluor® 488: la alfa velaglucerasa o la imiglucerasa se conjugaron con Alexa Fluor® 488 por medio del uso del kit de marcaje de proteínas Alexa Fluor®r 488 según el protocolo del fabricante (Molecular Probes, catálogo # A 10235).

3. Sueros de pacientes positivos para ADA Imiglucerasa o alfa velaglucerasa de los ensayos clínicos TKT-032, TKT-034, y HGT-GCB-039 (véase **Tabla 31** para los ID de la muestra)

4. Ensayo de control positivo (PC): 250 µg/ml de anticuerpo purificado policlonal de oveja anti-alfa velaglucerasa (G140) en suero humano normal (NHS; BRH127439)

5. Muestras control negativo: sueros humanos de donantes sanos normales (Bioreclamation, Catálogo # HMSM, BRH127438, BRH127439), o muestras de suero de línea de base de los pacientes incluidos en el ensayo clínico TKT-032 (N=25).

6. Manano: Sigma Catálogo # M7054

7. D-manosa-6-fosfato: Sigma Catálogo # M3655

8. Medio de crecimiento: 50% de CD-CHO (Invitrogen catálogo # 10743) y 50% de CD-293 (Invitrogen catálogo # 11913) suplementado con 4 mM L-glutamina (Invitrogen Catálogo # 25230) y 0.4 mg/ml de geneticina (G418, Invitrogen Catálogo # 11811-031).

9. 0.05% de tripsina-EDTA: Invitrogen catálogo # 25300

10. Tampón de lavado: PBS/0.5% BSA

11. Perlas de configuración y seguimiento del citómetro BD: BD Bioscience catálogo # 641319

Lista parcial de equipos

1. Incubadora a 37 °C con 5% de CO_2: Forma Scientific modelo 3033
2. Centrífuga: Thermo Scientific Modelo Sorvall Legend T +
3. Contador de células: Mexcelom Bioscience LLC, Modelo Auto Cellometer T 4
4. Citómetro de flujo: Bioscience BD, FACSCanto II

Métodos: Se examinó el suero de los pacientes que resultaron positivo para anticuerpos anti-fármacos mediante la detección de anticuerpos y la prueba confirmatoria por un ensayo de captación celular *in vitro*, por medio del uso de la línea celular HT1080 diseñada para expresar el receptor de manosa de macrófagos humanos (MMR). En resumen, células MRC1-18 se mantuvieron en medio CD suplementado con 0.5 mg/ml de G418. Para cada ensayo, se añadieron $1.5x10^5$ células/pocillo en medio CD suplementado con G418 a placas de fondo plano de 96 pocillos, y pre-incubadas con muestras de suero de pacientes de prueba diluidas 1:20 en suero humano normal (NHS), o con controles positivos del ensayo (anticuerpo G140, 5 mg/ml manano) en NHS diluido 1:20 a 37 °C durante 15 minutos. A continuación, se añadieron 5 nM de alfa velaglucerasa o imiglucerasa marcada con Alexa Fluor® 488, y se incubaron a 37 °C durante 2 horas. En cada experimento se incluyó una curva de calibración de alfa velaglucerasa o imiglucerasa marcadas con Alexa Fluor® 488 por la incubación células MRC1-18 con alfa velaglucerasa o imiglucerasa marcadas con Alexa Fluor® 488 (0 - 10 nM) en NHS diluido 1:20 a 37 °C por 2h.

Después de una incubación de 2 horas, se retiró el medio por centrifugación, las células se trataron con tripsina-EDTA durante 3 minutos para eliminar la alfa velaglucerasa o imiglucerasa que se unieron a la superficie, después se neutralizó por la adición de un volumen igual de medio con FBS al 10%. Las células se lavaron con PBS/0.5%BSA una vez, se resuspendieron en PBS/0.5%BSA y se analizaron por BD FACS Canto II, con la configuración del instrumento arreglada. El instrumento Canto II se configuró con las perlas de configuración y seguimiento del citómetro BD antes de cada análisis. Los resultados se analizaron con el software FlowJo, y se registró la intensidad media de fluorescencia (MFI) para cada muestra. El ajuste de la MFI se

calculó por la sustracción de la MFI de la muestra de fondo (células con 0 nM del fármaco) de la MFI de cada muestra. La inhibición de la captación de alfa velaglucerasa y de la imiglucerasa por las muestras de los pacientes se determinó en relación a una muestra de suero humano normal (NHS) o la propia muestra del paciente sin tratamiento en la línea de base, cuando estaba disponible. El porcentaje de inhibición se puede calcular por medio del uso de la siguiente ecuación:

% de inhibición = 1 - (MFI ajustada de la muestra de la prueba/ MFI ajustada de línea de base del paciente o NHS.) x100

Resultados

Desarrollo del Ensayo:

Los siguientes resultados iniciales se obtuvieron en el desarrollo de este ensayo (datos no mostrados):

• La internalización de alfa velaglucerasa e imiglucerasa por la línea celular MRC1-18 es dependiente de la dosis.

• El receptor de manosa media la internalización de alfa velaglucerasa e imiglucerasa por la línea celular MRC1-18, ya que la internalización se inhibió por manano (5 mg/ml, > 89%), pero no por M6P (5 mM).

• El anticuerpo G140 se añadió 1:20 en NHS (suero humano normal) inhibe la captación y la absorción de alfa velaglucerasa e imiglucerasa por la línea celular MRC1-18. La inhibición depende de la dosis.

• Doce lotes de prueba del NHS a la dilución 1:20 no inhibieron la captación de la alfa velaglucerasa por la línea celular MRC1-18.

Variabilidad del ensayo:

Se probaron durante tres días veinte y cinco muestras de suero de Gaucher sin tratamiento individuales de un estudio clínico (N = 75) para establecer el efecto de línea de base en la captación de alfa velaglucerasa o imiglucerasa por la línea celular MRC1-18.

El efecto del suero de línea de base promedio sobre la captación de alfa velaglucerasa es similar al efecto de suero de línea de base sobre la captación de imiglucerasa. Sin embargo, la variabilidad, que se calcula como el CV%, es mucho mayor para la imiglucerasa que para la alfa velaglucerasa (28% vs 15%) (datos no presentados).

Resultados de muestras de sueros de pacientes ADA positivos y reproducibilidad del ensayo:

Se probó la inhibición de la captación de alfa velaglucerasa e imiglucerasa por las muestras de suero de pacientes que se determinó previamente tenían anticuerpos contra imiglucerasa o alfa velaglucerasa. Cada muestra de suero se probó en paralelo para su capacidad de bloquear tanto la captación imiglucerasa como la captación de alfa velaglucerasa, independientemente de cuál preparación enzimática inicialmente provocó la producción de los anticuerpos. **La Tabla 31** enumera las muestras de suero de pacientes y el tratamiento con proteína que recibieron (solamente un paciente positivo para anticuerpos, ENU, recibió tratamiento con alfa velaglucerasa).

Tabla 31: Muestras de suero de pacientes positivos para ADA

Paciente	**Iniciales del paciente**	**Tratamiento recibido**
032-191-0002	ENU	Alfa velaglucerasa
039-009-0001	RW	imiglucerasa
039-194-0001	GAJ	imiglucerasa
039-194-0002	AVL	imiglucerasa
039-167-0001	KM	imiglucerasa
034-027-0002	SB	imiglucerasa
034-154-0001	JMS	imiglucerasa
034-164-0001	MPQ	imiglucerasa

Las muestras de pacientes ENU, RW, GAJ, AVL, y SB no mostraron inhibición de la captación de la imiglucerasa ni de la alfa velaglucerasa (datos no presentados). La reproducibilidad de la inhibición de la captación de alfa velaglucerasa e imiglucerasa por las muestras de los pacientes JMS, KM, MPQ, y SB (como un control negativo) se determinó durante tres días con respecto a una muestra de suero humano normal o la propia muestra del paciente en la línea de base sin tratamiento, cuando estaba disponible (**Tabla 32**).

El paciente KM (039-167-0001) no recibió tratamiento al inicio del estudio y luego se trató con imiglucerasa en un estudio posterior. Las muestras de las tres visitas mostraron una inhibición significativa de la captación de imiglucerasa (24 - 52% de inhibición con respecto a su línea de

base), con relación a la inhibición de la captación equivalente de alfa velaglucerasa (0 -15%, el cual está dentro del intervalo de variabilidad del ensayo) .

Los pacientes SB (034-027-0002), JMS (034-154-0001), y el MPQ (034-164-0001) se trataron previamente con imiglucerasa. El suero del paciente SB no mostró una inhibición de la captación de imiglucerasa (0%) o de la captación de alfa velaglucerasa (0%) en relación con una muestra normal de suero humano. La inhibición de la captación de imiglucerasa (0 - 14%) por el suero del pacientes JMS fue consistente con la inhibición de la captación de alfa velaglucerasa que se observó (0 - 20%). La inhibición de la captación de imiglucerasa (32 - 45%) por el suero de paciente MPQ fue significativamente mayor que la inhibición de la captación equivalente de alfa velaglucerasa (0 - 15%, la cual está dentro del intervalo de variabilidad del ensayo).

Estos resultados preliminares sugieren que los anticuerpos neutralizantes presentes en el suero de los pacientes KM y MPQ inhiben la captación de imiglucerasa pero no la captación de alfa velaglucerasa en las células.

Tabla 32: Inhibición de la captación de imiglucerasa o alfa velaglucerasa por las muestras de pacientes positivo para ADA

Paciente #	Iniciales	Visita	Tratamiento	Inhibición de la captación de imiglucerasa				Inhibición de la captación de alfa velaglucerasa
				Día 1	Día 2	Día 3	Promedio	
039-167-0001	KM	Semana 13	sin tratamiento en la línea de base, después tratado con imiglucerasa	38%	24%	52%	38%	0-8%
		Semana 19		29%	45%	40%	38%	
		Terminación temprana		28%	38%	33%	33%	
034-027-0002	SB	Visita de línea de base	Previamente tratado con imiglucerasa	0%	0%	0%	0%	0-14%
034-154-0001	JMS	Visita de línea de base	Previamente tratado con imiglucerasa	14%	0%	2%	5%	0-20%
034-164-0001	MPQ	Visita de línea de base	Previamente tratado con imiglucerasa	45%	32%	40%	38%	0-15%

La inhibición de la captación de imiglucerasa o alfa velaglucerasa por el inhibidor de la manosa manano y por el anticuerpo policlonal de oveja anti-alfa velaglucerasa G140 (control positivo), se determinó durante tres días (**Tabla 33**). El manano inhibe la captación tanto de la imiglucerasa como de la alfa velaglucerasa en las células MRC1-18 a través del receptor de manosa. El anticuerpo G140 inhibe la captación tanto de la imiglucerasa como de la alfa velaglucerasa en las células MRC1-18 por una cantidad equivalente.

Tabla 33: Inhibición de la captación de imiglucerasa o alfa velaglucerasa por Controles positivos

		Inhibición de la captación de imiglucerasa		**Inhibición de la captación de alfa velaglucerasa**	
		Promedio	CV%	Promedio	CV%
G140	5 µg/ml	52%	37%	42%	14%
G140	10 µg/ml	78%	11%	71%	7%
Manano	5 mg/ml	92%	3%	91%	3%

Conclusiones: La alfa velaglucerasa y la imiglucerasa difieren estructuralmente, con respecto tanto a la secuencia de proteína (por ejemplo, la mutación R495H en imiglucerasa) como a la estructura de carbohidratos. Los experimentos se realizaron para abordar la hipótesis de que existen diferencias antigénicas entre la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa, y que estos epítopos diferencian a la alfa velaglucerasa de la imiglucerasa con respecto a la capacidad de los anticuerpos anti-fármacos (ADA) para bloquear la unión celular y/o la internalización celular de cada terapéutico. Los experimentos se realizaron por medio del uso de la línea celular HT1080 desarrollada recientemente en la cual la captación del terapéutico se facilita principalmente por el MMR, y se confunde mínimamente con otros mecanismos celulares de captación conocidos. La inhibición de la de la captación de imiglucerasa o alfa velaglucerasa por las muestras de suero de los pacientes se midió en relación una a la otra. Los datos muestran que de un total de 7 muestras de suero que se tomaron de pacientes que producen ADA en respuesta al tratamiento de imiglucerasa y 1 muestra de suero que se tomó de un paciente que produjo ADA en respuesta al

tratamiento de alfa velaglucerasa, 2 sueros (2/7=29%) de los pacientes que produjeron ADA en respuesta a la imiglucerasa causaron 24% a 52% de inhibición de la captación celular de imiglucerasa, pero sólo 0-15% de inhibición de la captación celular de alfa velaglucerasa la cual está dentro de la variabilidad del ensayo. En comparación, sólo se identificó un paciente hasta la fecha que produce anticuerpos en respuesta al tratamiento con alfa velaglucerasa, este suero no inhibió la captación.

Cada muestra de suero se probó en paralelo para su capacidad de bloquear la captación de imiglucerasa y/o la captación de alfa velaglucerasa, independientemente de cuál preparación enzimática inicialmente provocó la producción de los anticuerpos. Tales comparaciones de la inhibición de la captación de alfa velaglucerasa, contra la inhibición de la captación de imiglucerasa, permite el mapeo burdo de los epítopos de las porciones biológicamente relevantes de cada terapéutico (con la salvedad de que los antisueros que se probaron en la presente son policlonales, y por lo tanto cada antisuero probablemente contiene una mezcla de especificidades antigénicas, y quizás reconocen múltiples epítopos). Con estas precauciones en mente, la inhibición de la captación que se observó con antisueros anti-imiglucerasa parece restringirse a la imiglucerasa ya que los mismos antisueros no inhibieron la captación de alfa velaglucerasa que se probó en paralelo. Estos datos sugieren que algunos ADA que se producen en respuesta a la imiglucerasa inhiben la internalización celular *a través* de epítopos que están expuestos únicamente en la imiglucerasa. Además, la diferencia en la variabilidad que se observó en el efecto del suero sobre la captación de imiglucerasa vs. alfa velaglucerasa quizás pueda deberse a una mayor homogeneidad en la preparación de alfa velaglucerasa que en la preparación de imiglucerasa en términos de modificaciones post traslacionales.

La inhibición de la captación de la enzima por anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa) se probó por medio del uso de un ensayo basado en células que detecta y cuantifica anticuerpos que interfieren con la captación de alfa velaglucerasa (imiglucerasa) mediada por los receptores de manosa de los macrófagos (MMR). El método se basa en la cuantificación de la alfa velaglucerasa (imiglucerasa) marcada fluorescentemente la cual se internaliza por células MRC1 18 bajo condiciones definidas. MRC1-18 es una línea celular diseñada en el Shire HGT a partir de las células HT1080 que se transfectaron establemente con el receptor C de manosa de macrófagos humanos, tipo 1.

En resumen, muestras de suero positivas para anticuerpos anti-alfa velaglucerasa (imiglucerasa) se incubaron previamente con células MRC1-18 en medio de cultivo en placas de 96

pocillos de fondo plano, a 37°C por 15 minutos. Se usó suero humano normal (NHS) agrupado como control negativo. Los anticuerpos policlonales de oveja que se sabe inhiben la captación de alfa velaglucerasa e imiglucerasa tan bien como el manano, el ligando específico de MMR (Sung SJ *y otros, J. Cell Biol.* 1983; 96:160-166) se usaron como controles positivos para bloquear la captación de la enzima.

Después de la preincubación, se añadió alfa velaglucerasa o imiglucerasa marcadas con Alexa Fluor-488, y se incubó a 37°C por 2 horas adicionales. Se incluyó en cada experimento una curva de calibración que consiste en la incubación de la enzima marcada con Alexa Fluor-488 con células MRC1-18. Después de la incubación, se eliminó el medio por centrifugación, las células se trataron con tripsina-EDTA durante 3 minutos para eliminar la enzima unida a la superficie, y finalmente el pH de la reacción se volvió neutro por la adición de un volumen igual de medio de cultivo. Las células se lavaron una vez y se resuspendieron por medio del uso de tampón fosfato salino que contiene 0.5% BSA. Las células se analizaron por medio del uso de un instrumento Becton Dickinson FACS Canto II que se calibró antes de cada análisis, por medio del uso de las perlas de configuración y seguimiento para citómetro del instrumento.

Los resultados se analizaron con el software del instrumento FlowJo, y se registró la intensidad media de fluorescencia (MFI) para cada muestra. La MFI ajustada se calculó por la resta de la MFI de fondo de los pozos de muestras que no contienen la enzima de la MFI de cada muestra desconocida y control. La inhibición de la captación de enzima por la muestra de suero del paciente se estimó en relación con el control del NHS de acuerdo con la siguiente ecuación:

% de Inhibición = [1 - [MFI ajustada de la muestra de prueba/ MFI ajustada. de NHS]] X 100

El punto de corte del ensayo se determinó por el análisis de 25 sueros individuales que se recogieron de pacientes de Gaucher sin tratamiento previo. Cada suero se ensayó en cuatro días separados para un total de 100 valores y el punto de corte positivo se definió como la inhibición mayor que la media de estos valores, más desviaciones estándar de 1.645.

Ensayo II in vitro basado en células

Este ensayo se desarrolló para comparar la captación de la alfa velaglucerasa con la imiglucerasa.

Métodos: Para los ensayos de diseño de experimentos (DOE), el diseño factorial general se asistió por DESIGN EXPERT Statease™. DOE usó macrófagos derivados de células U937 que se indujeron con acetato de forbol miristato (PMA), y se llevó a cabo en presencia de 5 mM de manosa-6-fosfato (M6P). Para las comparaciones de internalización, los macrófagos derivados de U937 se incubaron durante 3 horas con GCB a pH 7.5 con 10 mM de calcio. El fármaco internalizado se midió mediante un ensayo de actividad con un sustrato sintético (4-MU-gcl) que fluoresce después de la escisión.

Resultados: La comparación en las células U937 de las tasas de internalización de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa mostró que la alfa velaglucerasa se interioriza hasta 2.5 veces más eficientemente que la imiglucerasa. Esta diferenciación en la internalización celular también se observó por medio del uso de la línea célular murina J774 que expresa MMR. Bajo condiciones de ensayo específicas, la adición de calcio inhibió ligeramente la captación celular de imiglucerasa mientras que aumentó la captación de alfa velaglucerasa. La internalización de ambas enzimas se pudo inhibir por la adición de manano al medio de cultivo, aunque la inhibición de la captación de alfa velaglucerasa por las células J774 fue más completa que la de imiglucerasa. El ensayo de DOE reveló que: i) la interacción del calcio con pH afecta en gran medida la captación, y ii) las comparaciones de muestras de bioensayo requieren la presencia de calcio, en consistencia con la conocida dependencia de calcio del MMR. La presencia de manosa-6-fosfato (M6P) en los experimentos de DOE asegura que el receptor de M6P en células U937 no contribuye a la internalización que se midió.

Estos datos sugieren que alfa velaglucerasa se interioriza de manera más eficiente que la imiglucerasa. Mientras que ambas enzimas son principalmente internalizadas a través del MMR, una pequeña porción, mayor para la imiglucerasa que para la alfa velaglucerasa, se internaliza por un mecanismo alternativo. Estos datos pueden resultar útiles en la diferenciación de alfa velaglucerasa, imiglucerasa, y otras terapias en el futuro.

Sumario

A partir de estos estudios, un resumen de métodos de detección de anticuerpos es como sigue:

- Ensayos equivalentes validados para ADA de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa según las directrices de ICH y la FDA. Véase, por ejemplo,

http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM128049.pdf y http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf

- Detección
- Confirmatorios
- Título
- Isotipo
- Neutralizantes

- Muestras enmascaradas de los pacientes se evaluaron para ADA de la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa en paralelo
- Los controles y calibradores abarcaron una amplia variedad de afinidades de anticuerpos
- Se desarrollaron controles híbridos específicos de isotipo cuando no se encontraron sueros humanos positivos.

Estado de la inmunogenicidad de los pacientes en los estudios de Fase III:

- TKT032: pacientes asignados al azar a la alfa velaglucerasa 60 U/kg o 45 U/kg EOW
  - Un paciente con ADA negativo en la línea de base desarrolló NAb en respuesta a la alfa velaglucerasa
- TKT034: pacientes previamente estables en imiglucerasa que cambiaron a alfa velaglucerasa 15-60 U/kg
  - Tres pacientes positivos para anti-imiglucerasa en la línea de base, fueron negativos contra la velaglucerasa a lo largo de los 12 meses del tratamiento.
- HGT-GCB-039: pacientes asignados al azar a la alfa velaglucerasa 60 U/kg o imiglucerasa 60 U/kg EOW
  - Cuatro pacientes ADA-negativos en la línea de base, seroconvirtieron en respuesta a la imiglucerasa
  - De éstos, uno desarrolló NAb reactivos contra ambas imiglucerasa y alfa velaglucerasa, mientras tres desarrollaron IgG ADA no inhibitorios solamente contra la imiglucerasa.

El resumen de seroconversión de los pacientes se muestra en la **Tabla 34**. De los 99 pacientes que se trataron, 82 recibieron alfa velaglucerasa y 17 recibieron imiglucerasa. Uno de los

82 pacientes que recibieron alfa velaglucerasa y cuatro de los 17 pacientes que recibieron imiglucerasa desarrollaron anticuerpos durante este ensayo.

Tabla 34

Estudio	**Meses**	**Tratamientos**	**U/kg EOW**	**N**	**Seroconversión**
TKT032					
12 meses		alfa velaglucerasa	60	12	0/12 pacientes
		alfa velaglucerasa	45	13	1/13 pacientes
TKT034					
12 meses		alfa velaglucerasa	15–60	40	A la fecha: 0 pacientes (3 pacientes positivos al anticuerpo imiglucerasa en la línea de base)
HGT-GCB-039					
9 meses		alfa velaglucerasa	60	17	0/17 pacientes
		imiglucerasa	60	17	4/17 pacientes

Implicaciones clínicas de los estudios que se discutieron en este ejemplo son las siguientes:

- Se desarrollaron métodos de alta sensibilidad y equivalentes, que se optimizaron y validaron para ensayar y comparar directamente la respuesta de anticuerpos del paciente a los tratamientos con alfa velaglucerasa e imiglucerasa
- Los resultados muestran seroconversión en el 1% de los pacientes que se trataron con alfa velaglucerasa y en el 23% de los pacientes que se trataron con imiglucerasa, lo que sugiere diferencias antigénicas significativas entre la alfa velaglucerasa y la imiglucerasa
- Además, hubo una marcada inhibición de la captación celular por ADA de la imiglucerasa pero no de la alfa velaglucerasa

Ejemplo 8: Efecto del contenido de humedad sobre la estabilidad del producto velaglucerasa liofilizado

Propósito: Para evaluar el efecto del contenido de humedad sobre la estabilidad de un producto de velaglucerasa liofilizado.

Métodos: La proteína se formuló en una solución que contiene sacarosa y se liofilizó por medio del uso de un liofilizador FTS a escala de laboratorio (LyoStar II). Los viales liofilizados se

retiraron a intervalos después del secado primario con un ladrón de muestra para producir muestras con diferentes contenidos de humedad. La estructura secundaria de la proteína liofilizada se examinó mediante FT-IR. La estabilidad térmica de estas muestras se caracterizó por la apariencia física, el contenido de humedad, HPLC de exclusión por tamaño y en fase reversa, y la oxidación por los métodos de mapeo de péptidos.

Tras la reconstitución con agua estéril para inyección, el producto de velaglucerasa contiene aproximadamente 2.5 mg/ml (40 U/ml) de alfa velaglucerasa, 50 mg/ml de sacarosa, 12.9 mg/ml de citrato de sodio dihidratado, 1.3 mg/ml de ácido cítrico monohidratado y 0.11 mg/ml de polisorbato 20.

Resultados: Se alcanzó un intervalo de contenido de humedad de 1.3% a 6.2% en el producto liofilizado. El colapso de la torta se observó a temperatura acelerada (40°C) en el fármaco producto con un alto contenido de humedad (≥ 5%). Sin embargo, las pruebas de estabilidad químicas para la solución reconstituida demostraron que las muestras con mayor contenido de humedad (≥ 3%) mostraron degradación significativamente menor que las muestras más secas por ambos métodos SE-HPLC y RP-HPLC, así como mostró cantidades de oxidación más bajas. Esta tendencia de estabilidad se correlaciona con los cambios que se observaron en la estructura secundaria mediante FT-IR del producto seco.

Conclusión: Un mayor contenido de humedad resulta en una mejor estabilidad química de una proteína liofilizada. Esta tendencia de estabilidad se explica por un menor número de cambios en la estructura secundaria en la fase sólida con mayor contenido de humedad. Una selección del contenido apropiado de humedad en el producto liofilizado necesita equilibrar tanto la estabilidad estructural de la torta y la estabilidad química de la proteína.

Ejemplo 9: Análisis de los objetivos terapéuticos para la alfa velaglucerasa

Los objetivos terapéuticos se describieron para supervisar el logro, el mantenimiento y la continuidad de la respuesta terapéutica en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo I que recibieron la ERT (Pastores G *y otros*, (2004) *Seminars in Hematology*, 41 (suppl 5): 4–14)

Para comparar el impacto del tratamiento con alfa velaglucerasa respecto a los objetivos terapéuticos para los parámetros clínicos de la enfermedad de Gaucher tipo I (anemia, trombocitopenia, hepatomegalia y esplenomegalia), la proporción de pacientes en objetivo para la

anemia, trombocitopenia, hepatomegalia y esplenomegalia en la línea de base se comparó con la proporción que logró cada uno de estos objetivos a los 9 meses o 1 año.

No se usó ninguna imputación de datos. Sólo se incluyeron los pacientes que tenían datos para cada objetivo en ambos puntos temporales. Para los parámetros hematológicos, la línea de base fue el promedio de los valores de la selección y la línea de base; los valores de los objetivos de un año de terapia fueron el promedio de los valores de la semana 51 y la semana 53 para TKT032 y TKT034, y el promedio de los valores de la semana 39 y la semana 41 para HGT-GCB-039. Para los volúmenes de órganos, el valor de la semana 41 se aplicó al criterio de objetivo terapéutico de 1 año HGT-GCB-039.

Los objetivos terapéuticos para los pacientes TKT032, HGT-GCB-039, HGT-GCB-039 con el bazo intacto, pacientes HGT-GCB-039 esplenectomizados, TKT034 y TKT025 se describen en **las Tablas 35-40**.

Tabla 35

Objetivos terapéuticos	**alfa velaglucerasa 60 U/kg N=12**		**alfa velaglucerasa 45 U/kg N=13**		**alfa velaglucerasa general N=25**	
	Valores de línea de base	1 Año	Valores de línea de base	1 Año	Valores de línea de base	1 Año
Concentración de hemoglobina	2/12 (17%)	11/12 (92%)	3/13 (23%)	12/13 (92%)	5/25 (20%)	23/25 (92%)
Conteo de plaquetas	2/11 (18%)	6/11 (55%)	4/13 (31%)	9/13 (69%)	6/24 (25%)	15/24 (63%)
Hígado	5/11 (45%)	11/11 (100%)	7/12 (58%)	8/12 (67%)	12/23 (52%)	19/23 (83%)
Bazo	3/11 (27%)	11/11 (100%)	4/12 (33%)	11/12 (92%)	7/23 (30%)	22/23 (96%)
≥3 objetivos	**1/11 (9%)**	**10/11 (91%)**	**5/12 (42%)**	**9/12 (75%)**	**6/23 (26%)**	**19/23 (83%)**
Los 4 objetivos	**1/10 (10%)**	**6/10 (60%)**	**0/12 (0%)**	**7/12 (58%)**	**1/22 (5%)**	**13/22 (59%)**

Tabla 36

Objetivos terapéuticos	**alfa velaglucerasa 60 U/kg N=17**		**imiglucerasa 60 U/kg N=17**	
	Valores de línea de base	9 meses	Valores de línea de base	9 meses
Concentración de hemoglobina	10/16 (63%)	15/16 (94%)	4/15 (27%)	12/15 (80%)
Conteo de plaquetas	8/16 (50%)	16/16 (100%)	9/15 (60%)	15/15 (100%)

Hígado	8/16 (50%)	15/16 (94%)	4/16 (25%)	16/16 (100%)
Bazo	1/6 (17%)	6/6 (100%)	3/6 (50%)	6/6 (100%)
≥3 objetivos	**1/16 (6%)**	**14/16 (88%)**	**1/15 (7%)**	**12/15 (80%)**
Los 4 objetivos	**0/6 (0%)**	**6/6 (100%)**	**0/6 (0%)**	**6/6 (100%)**

Tabla 37

Objetivos terapéuticos	**alfa velaglucerasa 60 U/kg N=7**		**imiglucerasa 60 U/kg N=7**	
	Valores de línea de base	9 meses	Valores de línea de base	9 meses
Concentración de hemoglobina	5/7 (71%)	7/7 (100%)	2/6 (33%)	6/6 (100%)
Conteo de plaquetas	0/7 (0%)	7/7 (100%)	0/6 (0%)	6/6 (100%)
Hígado	6/7 (86%)	7/7 (100%)	1/6 (17%)	6/6 (100%)
Bazo	1/6 (17%)	6/6 (100%)	3/6 (50%)	6/6 (100%)
≥3 objetivos	**1/7 (14%)**	**7/7 (100%)**	**1/6 (17%)**	**6/6 (100%)**
Los 4 objetivos	**0/6 (0%)**	**6/6 (100%)**	**0/6 (0%)**	**6/6 (100%)**

Tabla 38

Objetivos terapéuticos	**alfa velaglucerasa 60 U/kg N=10**		**imiglucerasa 60 U/kg N=10**	
	Valores de la línea de base	9 meses	Valores de la línea de base	9 meses
Concentración de hemoglobina	5/9 (56%)	8/9 (89%)	2/9 (22%)	6/9 (67%)
Conteo de plaquetas	8/9 (89%)	9/9 (100%)	9/9 (100%)	9/9 (100%)
Hígado	2/9 (22%)	8/9 (89%)	3/10 (30%)	10/10 (100%)
≥2 objetivos	**6/9 (67%)**	**9/9 (100%)**	**5/9 (56%)**	**9/9 (100%)**
Los 3 objetivos	**0/9 (0%)**	**7/9 (78%)**	**0/9 (0%)**	**6/9 (67%)**

5

Tabla 39

Objetivos terapéuticos	**alfa velaglucerasa total N=40**

	Valores de la línea de base	1 Año
Concentración de hemoglobina	37/38 (97%)	37/38 (97%)
Conteo de plaquetas	29/36 (81%)	29/36 (81%)
Hígado	37/37 (100%)	37/37 (100%)
Bazo	30/34 (88%)	31/34 (91%)
≥3 objetivos	**32/37 (86%)**	**33/37 (89%)**
Los 4 objetivos	**26/32 (81%)**	**26/32 (81%)**

Tabla 40

Objetivos terapéuticos	**TKT025 alfa velaglucerasa 60 U/kg N=12**		**TKT032 alfa velaglucerasa 60 U/kg N=12**	
	Valores de la línea de base	Mes 9	Valores de la línea de base	Año 1
Concentración de hemoglobina	5/10 (50%)	10/10 (100%)	2/12 (17%)	11/12 (92%)
Conteo de plaquetas	0/10 (0%)	7/10 (70%)	2/11 (18%)	6/11 (55%)
Hígado	5/10 (50%)	7/10 (70%)	5/11 (45%)	11/11 (100%)
Bazo	0/10 (0%)	9/10 (90%)	3/11 (27%)	11/11 (100%)
≥3 objetivos	**0/10 (10%)**	**8/10 (80%)**	**1/11 (9%)**	**10/11 (91%)**
Los 4 objetivos	**0/10 (10%)**	**5/10 (50%)**	**1/10 (10%)**	**6/10 (60%)**

Se ha descrito un número de modalidades de la invención. No obstante, se entiende que pueden realizarse varias modificaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. En consecuencia, otras modalidades están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES:

1. Un método para tratar un sujeto con la enfermedad de Gaucher, el método comprende administrar una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa por infusión intravenosa al sujeto durante un período de menos de 2 horas, para, de ese modo, tratar al sujeto.

2. El método de la reivindicación 1, en donde la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se administra durante un período de 90 minutos o menos.

3. El método de la reivindicación 1, en donde la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se administra durante un período de 60 minutos o menos.

4. El método de la reivindicación 1, que además comprende administrar una segunda terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa por infusión intravenosa al sujeto durante un período de menos de 2 horas.

5. El método de la reivindicación 1, en donde la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se selecciona del grupo que consiste de: velaglucerasa, imiglucerasa y Uplyso.

6. El método de la reivindicación 1, en donde la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa se administra a una dosis de 15 a 60 U/kg.

7. Un método para identificar un sujeto como adecuado para el tratamiento con una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, que comprende:

determinar si los anticuerpos neutralizantes a una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa están presentes en una muestra del sujeto para obtener un valor medido del anticuerpo a la terapia, en donde al sujeto se le administra actualmente una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o previamente recibió una primera terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, y

comparar el valor del anticuerpo medido a la terapia con un estándar,

en donde si el valor del anticuerpo medido es mayor que el estándar, el sujeto se identifica que tiene anticuerpos para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa y como un candidato para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa con velaglucerasa, y si el valor del anticuerpo medido no es mayor que el estándar, identificar al sujeto como un candidato para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa con la primera terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa o una terapia de reemplazo enzimático alternativa con glucocerebrosidasa.

8. El método de la reivindicación 7, en donde la primera terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa es imiglucerasa o Uplyso.

9. El método de la reivindicación 7, en donde la muestra es una muestra de sangre o suero.

10. El método de la reivindicación 9, en donde la muestra de sangre o suero se modificó.

11. El método de la reivindicación 10, en donde la muestra se contacta con un sustrato o reactivo analítico.

12. El método de la reivindicación 10, en donde la muestra es una porción concentrada de una muestra de sangre o suero.

13. El método de la reivindicación 7, en donde el sujeto se identifica como un candidato para la terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa con velaglucerasa, y el método comprende, además, administrar velaglucerasa al sujeto.

14. Un método para tratar un sujeto con la enfermedad de Gaucher que lleva actualmente en curso o recibió previamente una terapia de reemplazo enzimático con glucocerebrosidasa, que comprende:

seleccionar un sujeto sobre la base de que el sujeto resultó positivo para la producción de anticuerpos a la terapia que el sujeto lleva actualmente en curso o que recibió previamente para la enfermedad de Gaucher, y

administrar velaglucerasa al sujeto.

15. El método de la reivindicación 14, en donde el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgE a la terapia que el sujeto lleva actualmente en curso o que recibió previamente para la enfermedad de Gaucher.

16. El método de la reivindicación 14, en donde el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgM a la terapia que el sujeto lleva actualmente en curso o que recibió previamente para la enfermedad de Gaucher.

17. El método de la reivindicación 14, en donde el sujeto resulta positivo para la producción de anticuerpos IgG a la terapia que el sujeto lleva actualmente en curso o que recibió previamente para la enfermedad de Gaucher.

18. El método de la reivindicación 14, en donde la terapia que el sujeto lleva actualmente en curso o que recibió previamente para la enfermedad de Gaucher es imiglucerasa.

19. El método de la reivindicación 14, en donde la terapia que el sujeto lleva actualmente en curso o que recibió previamente para la enfermedad de Gaucher es Uplyso.

20. El método de la reivindicación 14, en donde la velaglucerasa se administra a una dosis de 15 a 60 U/kg.

21. El método de la reivindicación 14, en donde la velaglucerasa se administra al sujeto por infusión intravenosa durante 90 minutos o menos.

22. El método de la reivindicación 1 que comprende, además, administrar una terapia oral que comprende un compuesto que reduce la glucosilceramida.

23. El método de la reivindicación 1 que comprende, además, administrar una molécula chaperona farmacológica.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Se describen métodos y composiciones para tratar la enfermedad de Gaucher.

5

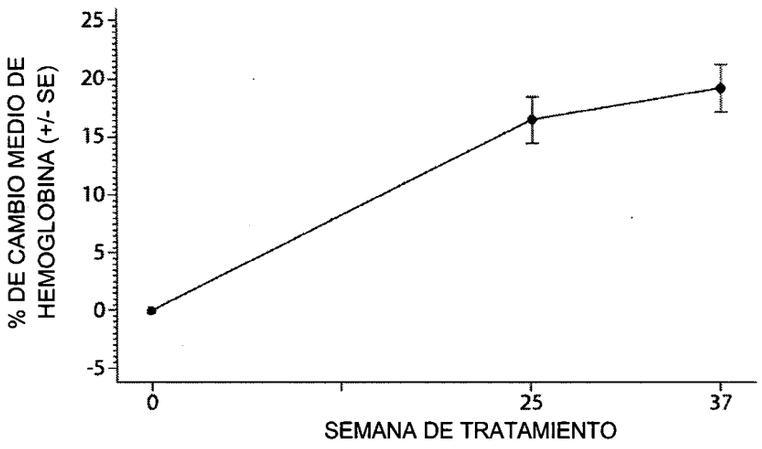

% DE CAMBIO MEDIO DE HEMOGLOBINA (+/- SE)
25
20
15
10
5
0
-5
0
25
37
SEMANA DE TRATAMIENTO

Fig. 1A

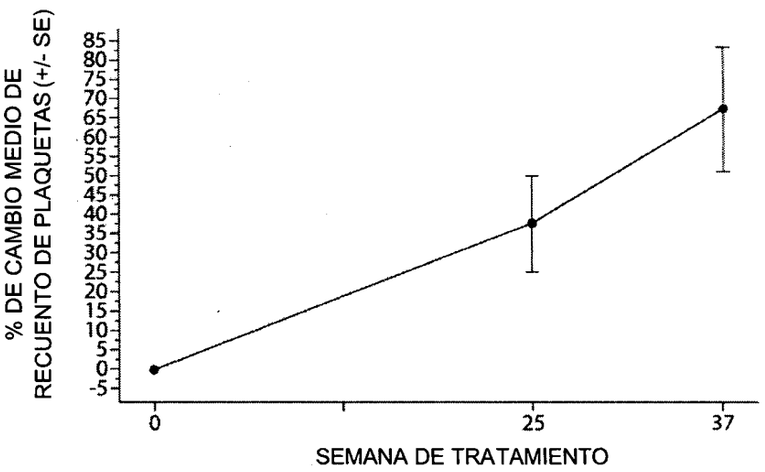

% DE CAMBIO MEDIO DE RECUENTO DE PLAQUETAS (+/- SE)
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
-5
0
25
37
SEMANA DE TRATAMIENTO

Fig. 1B

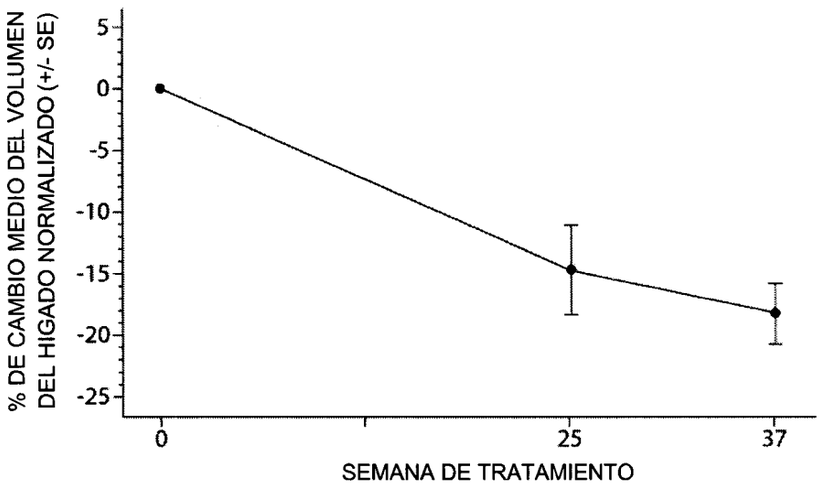

% DE CAMBIO MEDIO DEL VOLUMEN DEL HIGADO NORMALIZADO (+/- SE)
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
0
25
37
SEMANA DE TRATAMIENTO

Fig. 1C

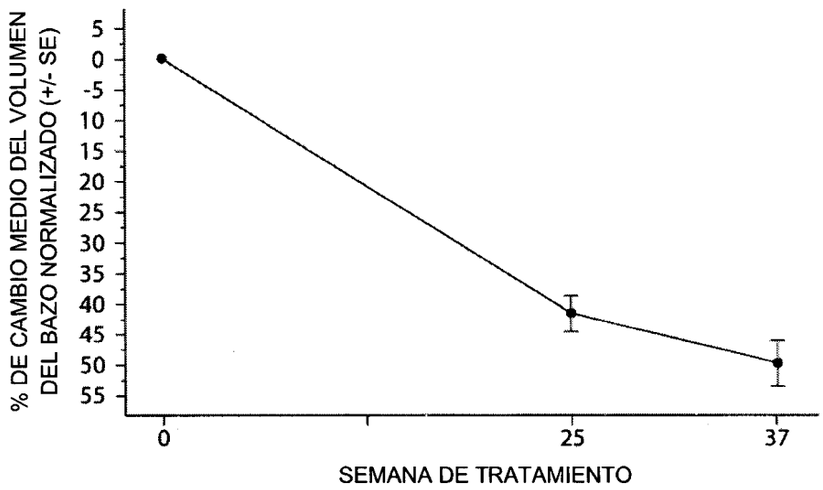

% DE CAMBIO MEDIO DEL VOLUMEN DEL BAZO NORMALIZADO (+/- SE)
5
0
-5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
0
25
37
SEMANA DE TRATAMIENTO

Fig. 1D

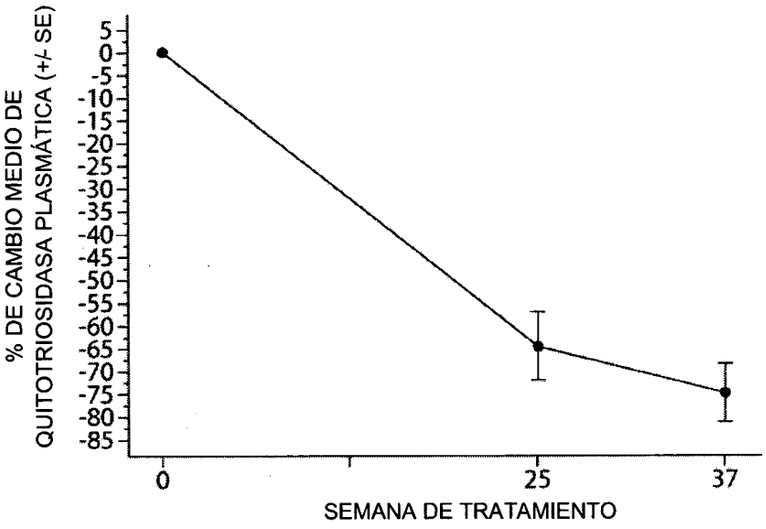

% DE CAMBIO MEDIO DE QUITOTRIOSIDASA PLASMÁTICA (+/- SE)
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
-30
-35
-40
-45
-50
-55
-60
-65
-70
-75
-80
-85
0
25
37
SEMANA DE TRATAMIENTO

Fig. 1E

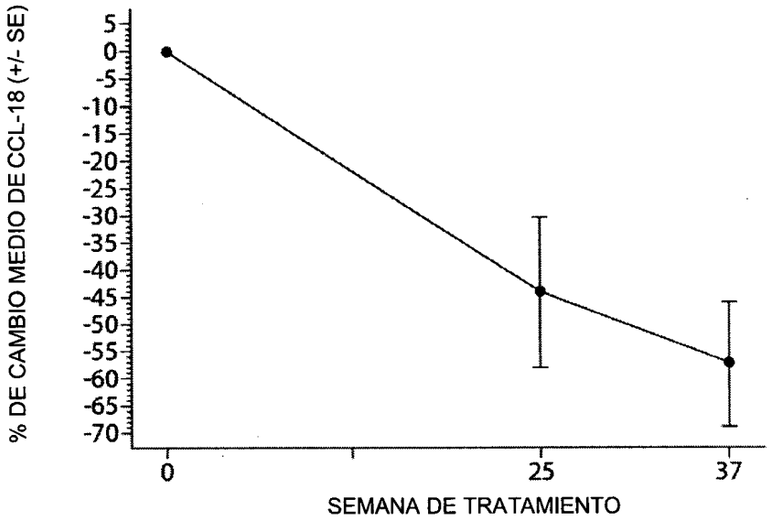

% DE CAMBIO MEDIO DE CCL-18 (+/- SE)
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
-30
-35
-40
-45
-50
-55
-60
-65
-70
0
25
37
SEMANA DE TRATAMIENTO

Fig. 1F

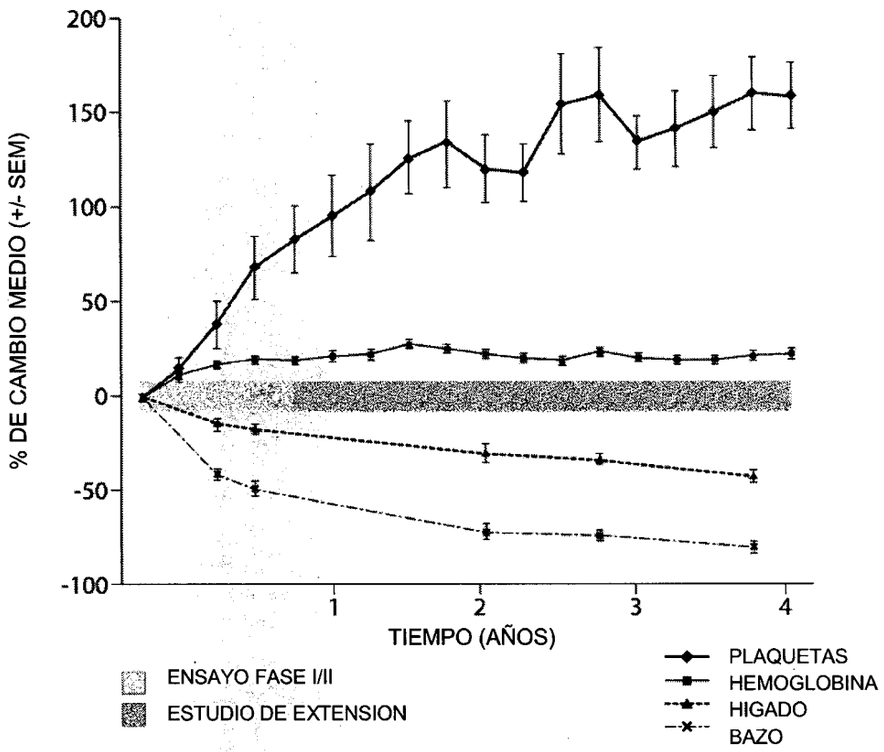

200
150
100
50
0
-50
-100
% DE CAMBIO MEDIO (+/- SEM)
1
2
3
4
TIEMPO (AÑOS)
ENSAYO FASE I/II
ESTUDIO DE EXTENSION
PLAQUETAS
HEMOGLOBINA
HIGADO
BAZO

Fig. 2

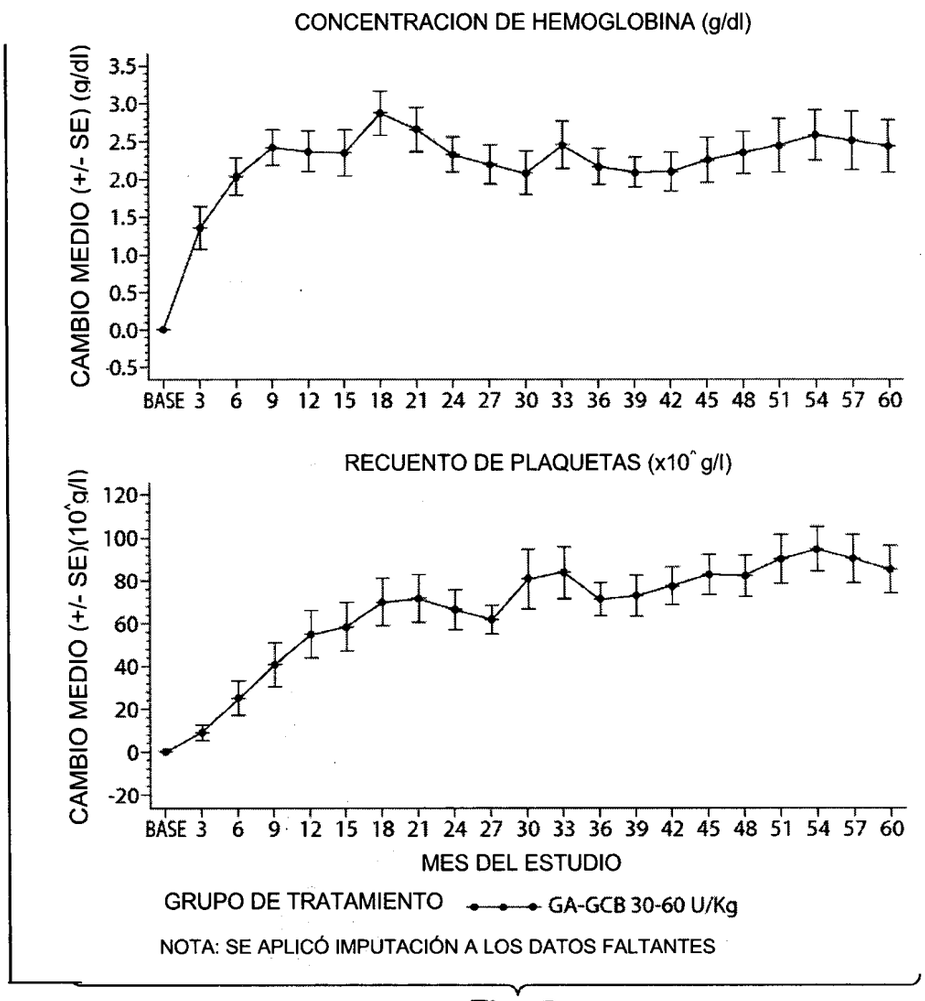

CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA (g/dl)
CAMBIO MEDIO (+/- SE) (g/dl)
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
BASE 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45 48 51 54 57 60
RECUENTO DE PLAQUETAS (x10^ g/l)
CAMBIO MEDIO (+/- SE)(10^g/l)
120
100
80
60
40
20
0
-20
BASE 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45 48 51 54 57 60
MES DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO GA-GCB 30-60 U/Kg
NOTA: SE APLICÓ IMPUTACIÓN A LOS DATOS FALTANTES

Fig. 3

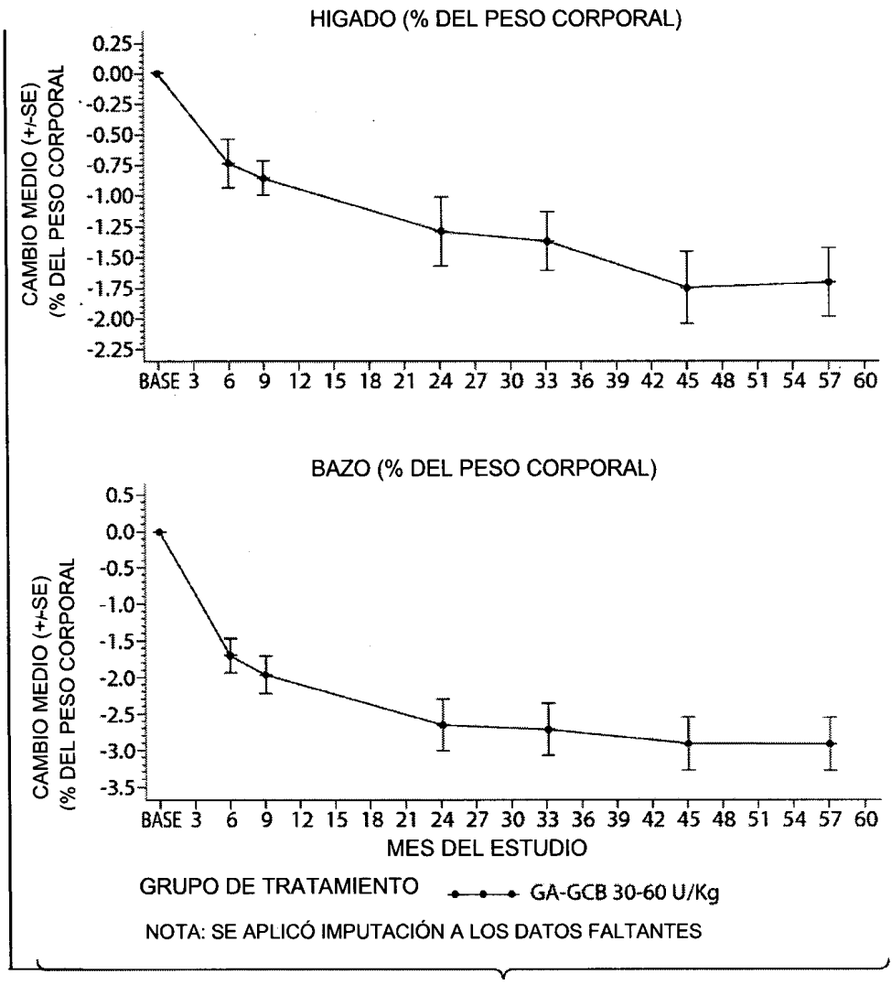

HIGADO (% DEL PESO CORPORAL)
CAMBIO MEDIO (+/-SE) (% DEL PESO CORPORAL
0.25
0.00
-0.25
-0.50
-0.75
-1.00
-1.25
-1.50
-1.75
-2.00
-2.25
BASE 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45 48 51 54 57 60
BAZO (% DEL PESO CORPORAL)
CAMBIO MEDIO (+/-SE) (% DEL PESO CORPORAL
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
-3.5
BASE 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45 48 51 54 57 60
MES DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 30-60 U/Kg
NOTA: SE APLICÓ IMPUTACIÓN A LOS DATOS FALTANTES

Fig. 4

COLUMNA LUMBAR

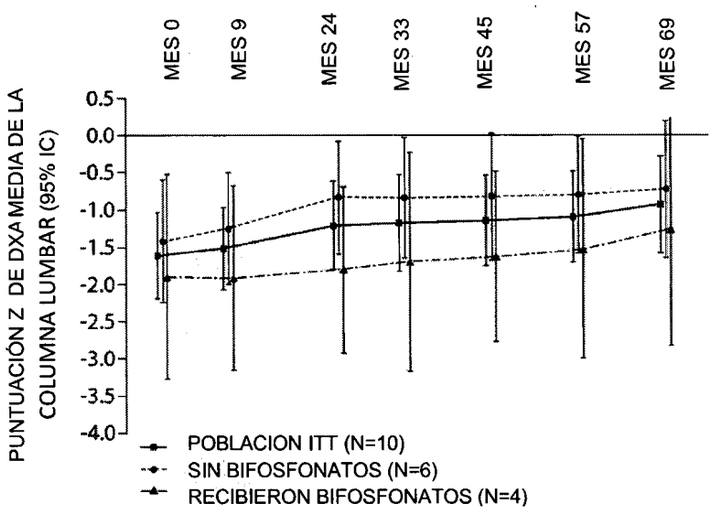


Fig. 5

CUELLO FEMORAL

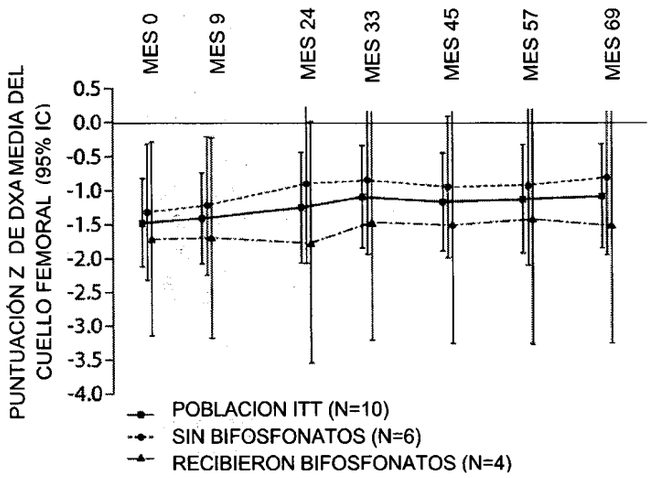


Fig. 6

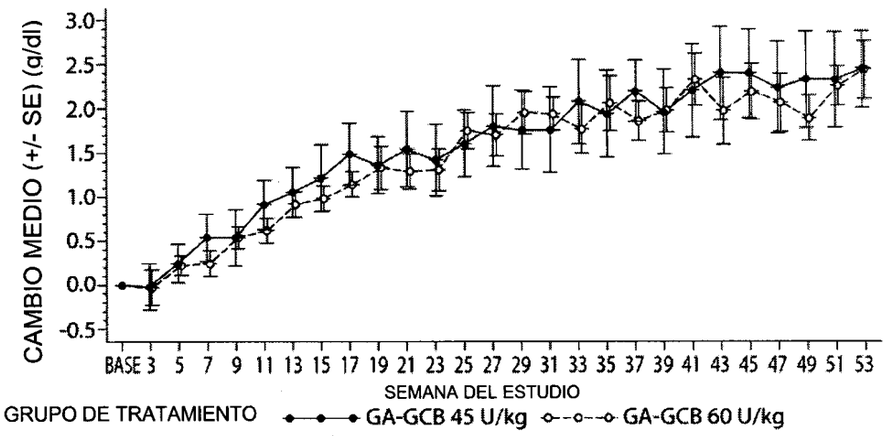

CAMBIO MEDIO (+/- SE) (g/dl)
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
BASE 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41 43 45 47 49 51 53
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 45 U/kg
GA-GCB 60 U/kg

Fig. 7

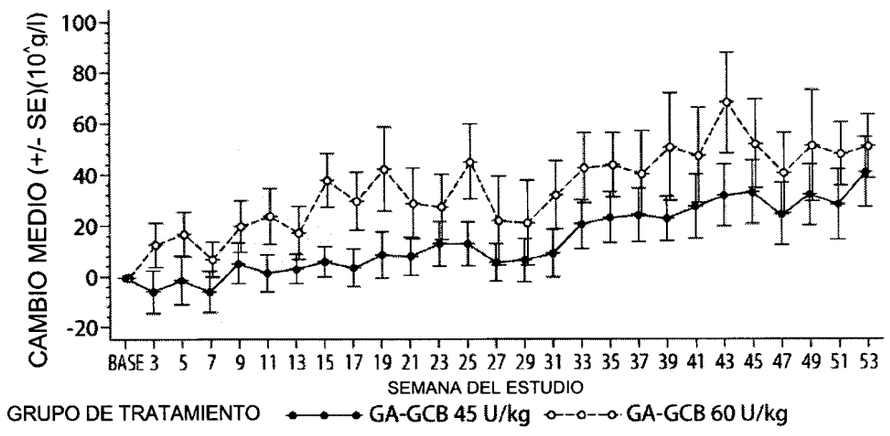

CAMBIO MEDIO (+/- SE)(10^9g/l)
100
80
60
40
20
0
-20
BASE 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41 43 45 47 49 51 53
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 45 U/kg
GA-GCB 60 U/kg

Fig. 8

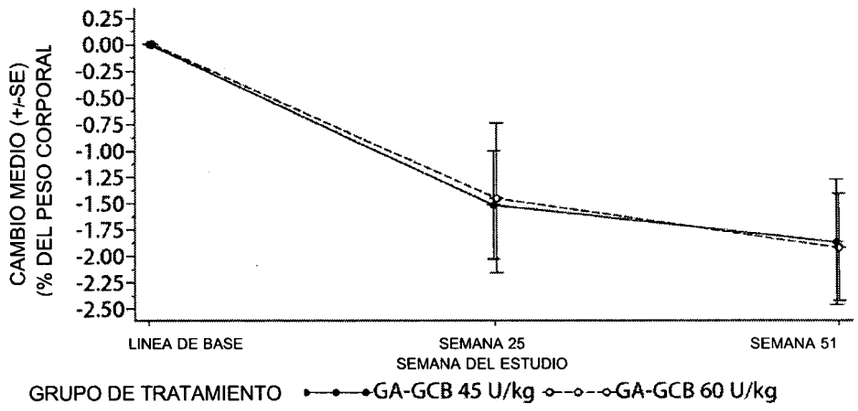

0.25
0.00
-0.25
-0.50
-0.75
-1.00
-1.25
-1.50
-1.75
-2.00
-2.25
-2.50
CAMBIO MEDIO (+/-SE)
(% DEL PESO CORPORAL
LINEA DE BASE
SEMANA 25
SEMANA 51
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 45 U/kg
GA-GCB 60 U/kg

Fig. 9

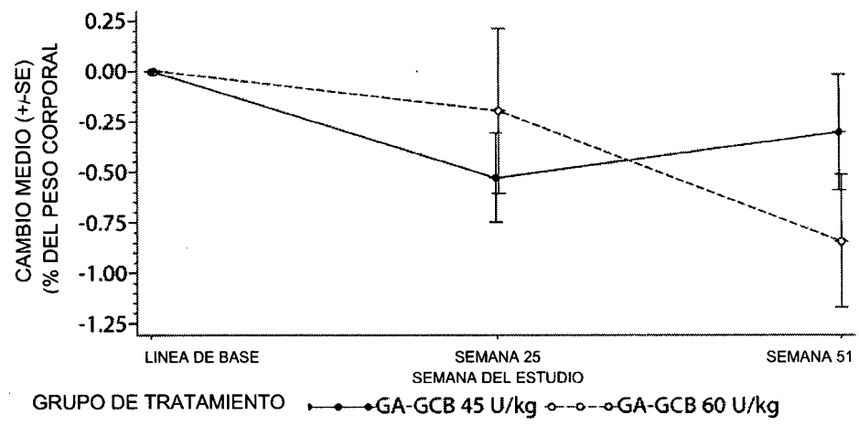

0.25
0.00
-0.25
-0.50
-0.75
-1.00
-1.25
CAMBIO MEDIO (+/-SE)
(% DEL PESO CORPORAL
LINEA DE BASE
SEMANA 25
SEMANA 51
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 45 U/kg
GA-GCB 60 U/kg

Fig. 10

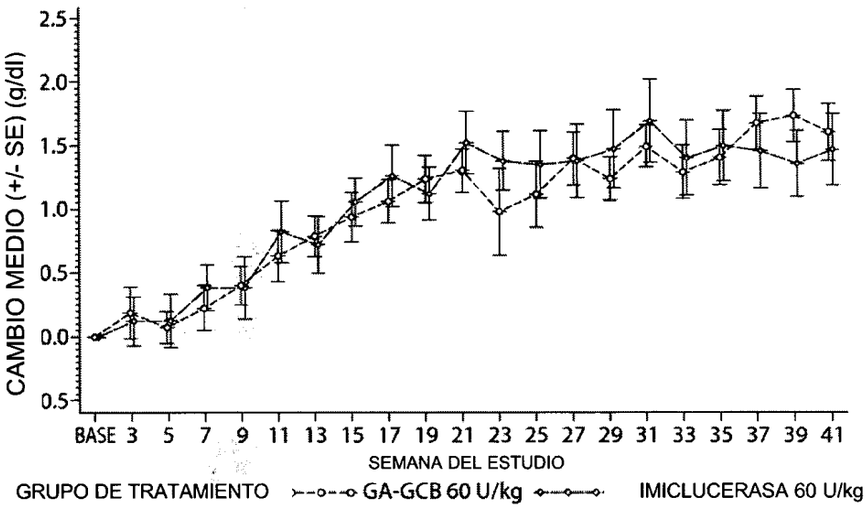

CAMBIO MEDIO (+/- SE) (g/dl)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.5
BASE 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 60 U/kg
IMICLUCERASA 60 U/kg

Fig. 11

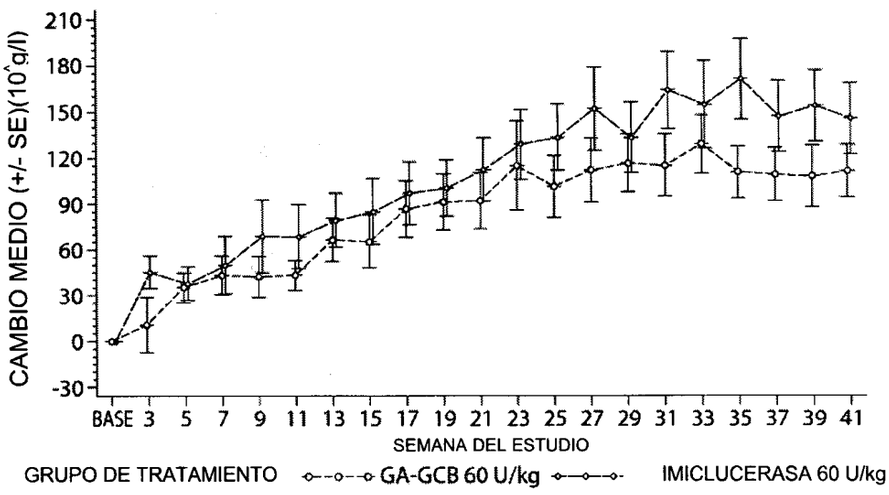

CAMBIO MEDIO (+/- SE)(10^9 g/l)
210
180
150
120
90
60
30
0
-30
BASE 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 60 U/kg
IMICLUCERASA 60 U/kg

Fig. 12

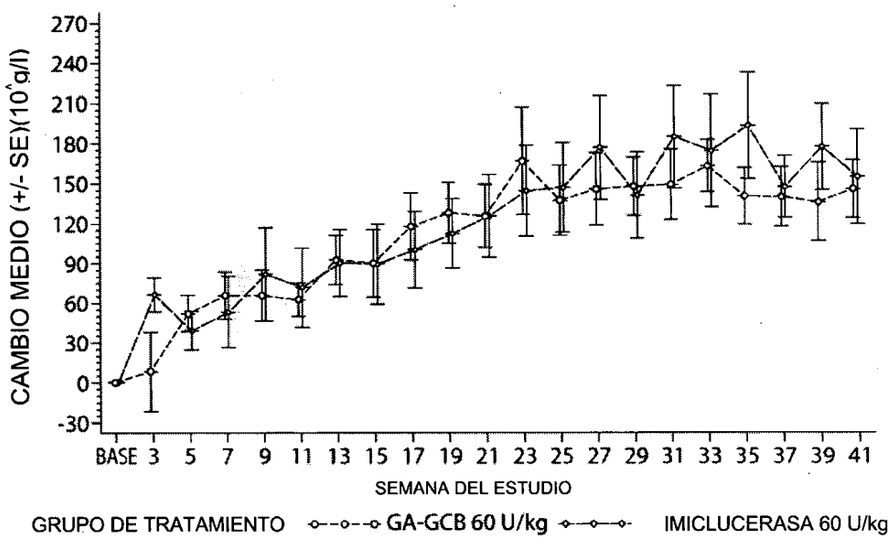

CAMBIO MEDIO (+/- SE)(10^g/l)
270
240
210
180
150
120
90
60
30
0
-30
BASE 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 60 U/kg
IMICLUCERASA 60 U/kg

Fig. 13

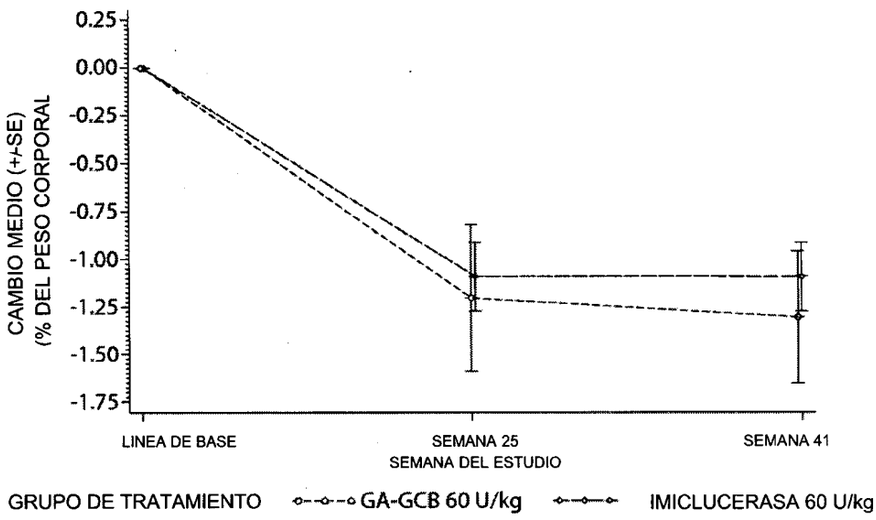

CAMBIO MEDIO (+/-SE)
(% DEL PESO CORPORAL
0.25
0.00
-0.25
-0.50
-0.75
-1.00
-1.25
-1.50
-1.75
LINEA DE BASE
SEMANA 25
SEMANA 41
SEMANA DEL ESTUDIO
GRUPO DE TRATAMIENTO
GA-GCB 60 U/kg
IMICLUCERASA 60 U/kg

Fig. 14

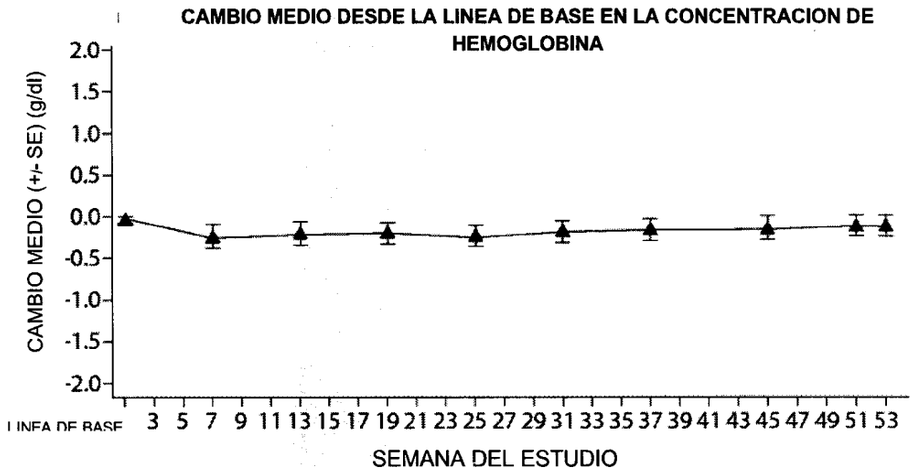

CAMBIO MEDIO DESDE LA LINEA DE BASE EN LA CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA
CAMBIO MEDIO (+/- SE) (g/dl)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
LINEA DE BASE 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41 43 45 47 49 51 53
SEMANA DEL ESTUDIO

Fig. 15

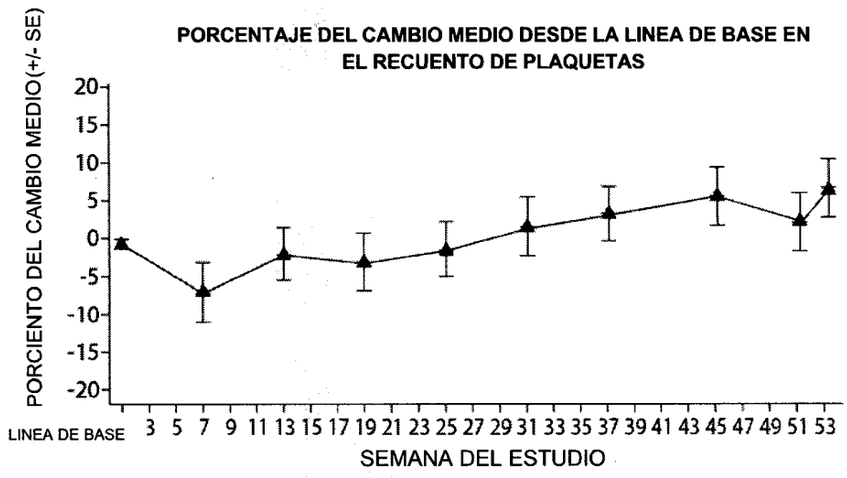

PORCENTAJE DEL CAMBIO MEDIO DESDE LA LINEA DE BASE EN EL RECUENTO DE PLAQUETAS
PORCIENTO DEL CAMBIO MEDIO(+/- SE)
20
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
LINEA DE BASE 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41 43 45 47 49 51 53
SEMANA DEL ESTUDIO

Fig. 16

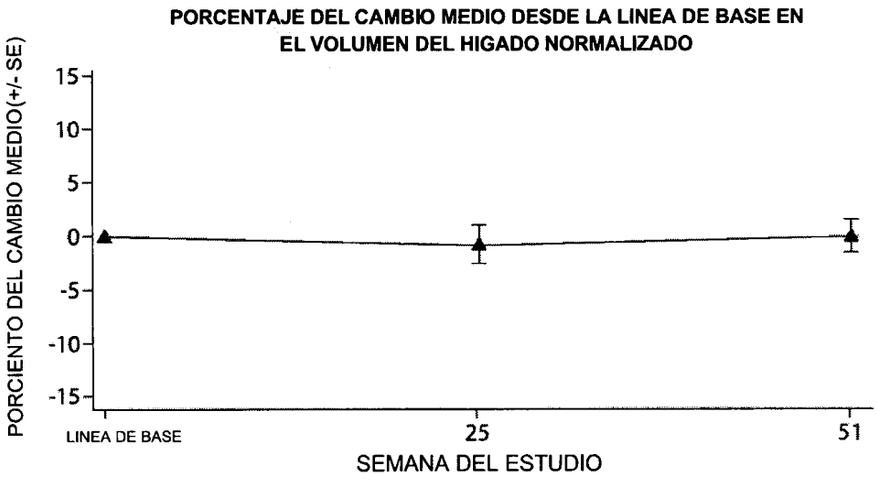

PORCENTAJE DEL CAMBIO MEDIO DESDE LA LINEA DE BASE EN EL VOLUMEN DEL HIGADO NORMALIZADO
PORCIENTO DEL CAMBIO MEDIO(+/- SE)
15
10
5
0
-5
-10
-15
LINEA DE BASE
25
51
SEMANA DEL ESTUDIO

Fig. 17

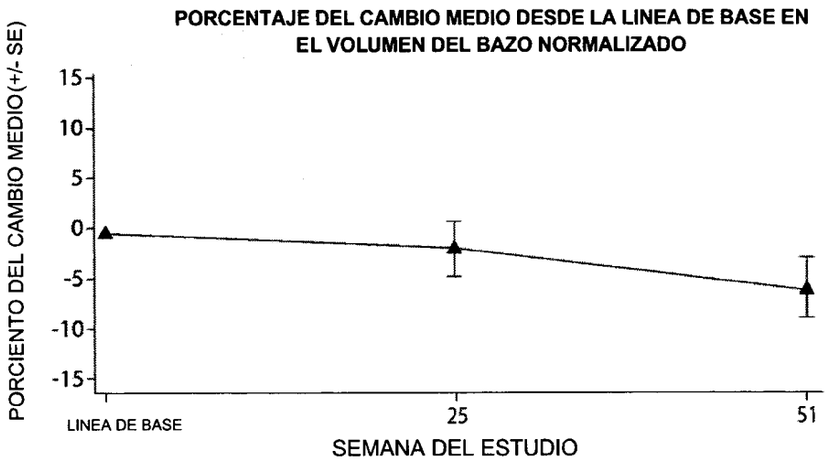

PORCENTAJE DEL CAMBIO MEDIO DESDE LA LINEA DE BASE EN EL VOLUMEN DEL BAZO NORMALIZADO
PORCIENTO DEL CAMBIO MEDIO(+/- SE)
15
10
5
0
-5
-10
-15
LINEA DE BASE
25
51
SEMANA DEL ESTUDIO

Fig. 18

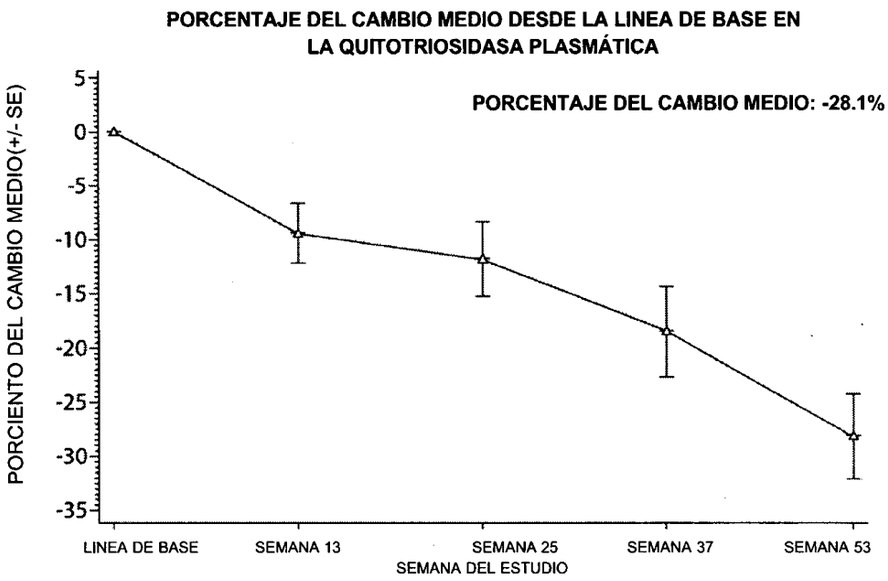

PORCENTAJE DEL CAMBIO MEDIO DESDE LA LINEA DE BASE EN LA QUITOTRIOSIDASA PLASMÁTICA
PORCENTAJE DEL CAMBIO MEDIO: -28.1%
PORCIENTO DEL CAMBIO MEDIO(+/- SE)
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
-30
-35
LINEA DE BASE
SEMANA 13
SEMANA 25
SEMANA 37
SEMANA 53
SEMANA DEL ESTUDIO

Fig. 19

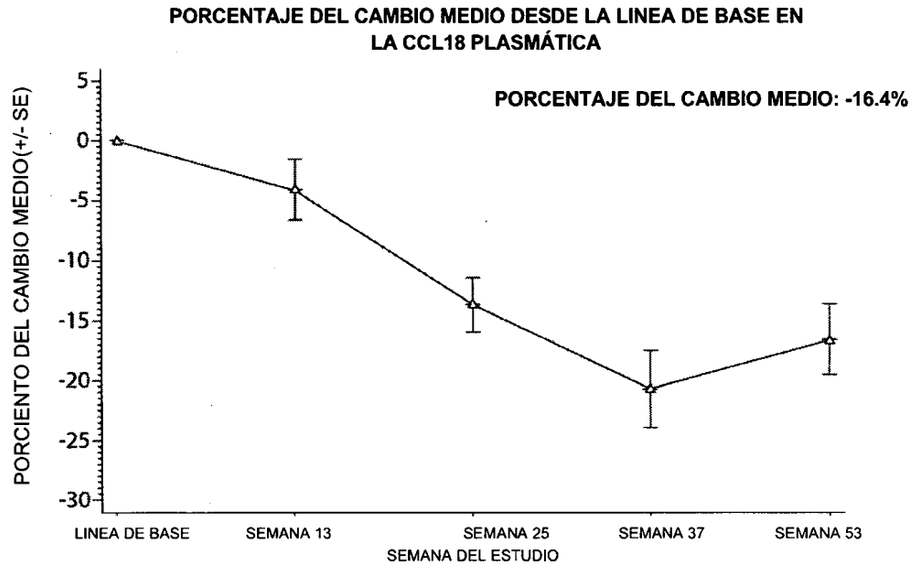

PORCENTAJE DEL CAMBIO MEDIO DESDE LA LINEA DE BASE EN LA CCL18 PLASMÁTICA
PORCENTAJE DEL CAMBIO MEDIO: -16.4%
PORCIENTO DEL CAMBIO MEDIO(+/- SE)
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
-30
LINEA DE BASE
SEMANA 13
SEMANA 25
SEMANA 37
SEMANA 53
SEMANA DEL ESTUDIO

Fig. 20

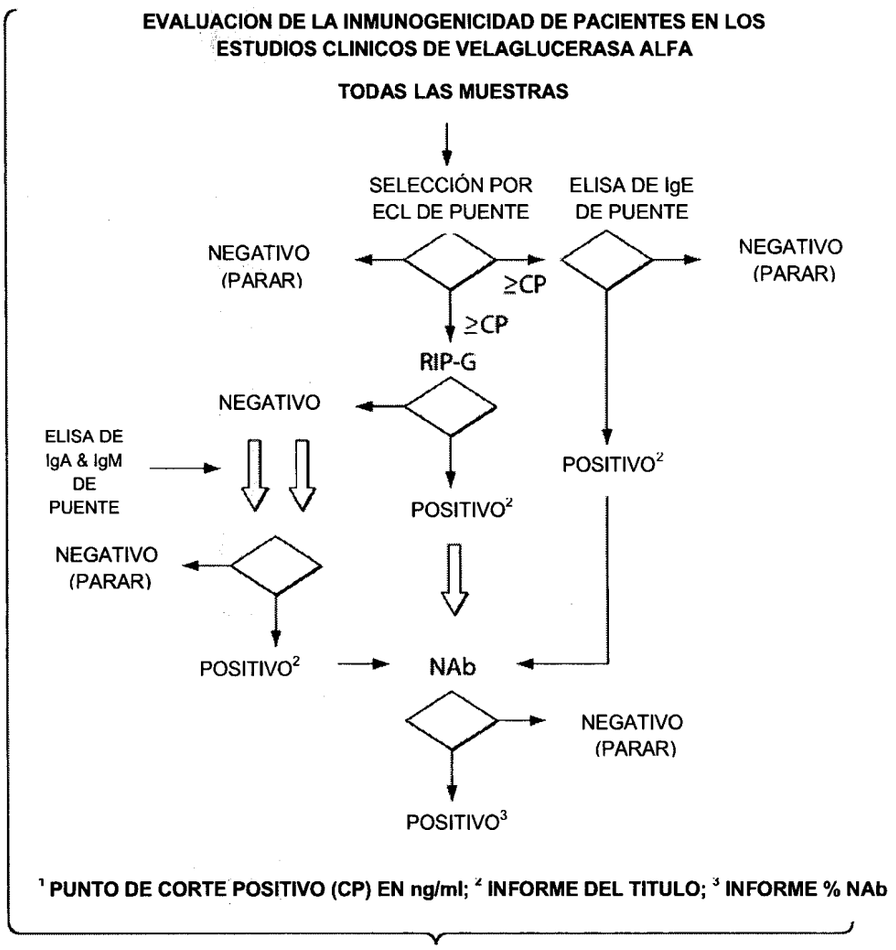

EVALUACION DE LA INMUNOGENICIDAD DE PACIENTES EN LOS ESTUDIOS CLINICOS DE VELAGLUCERASA ALFA
TODAS LAS MUESTRAS
SELECCIÓN POR ECL DE PUENTE
ELISA DE IgE DE PUENTE
NEGATIVO (PARAR)
≥CP
NEGATIVO (PARAR)
≥CP
RIP-G
NEGATIVO
ELISA DE IgA & IgM DE PUENTE
POSITIVO2
POSITIVO2
NEGATIVO (PARAR)
POSITIVO2
NAb
NEGATIVO (PARAR)
POSITIVO3
1 PUNTO DE CORTE POSITIVO (CP) EN ng/ml; 2 INFORME DEL TITULO; 3 INFORME % NAb

Fig. 21

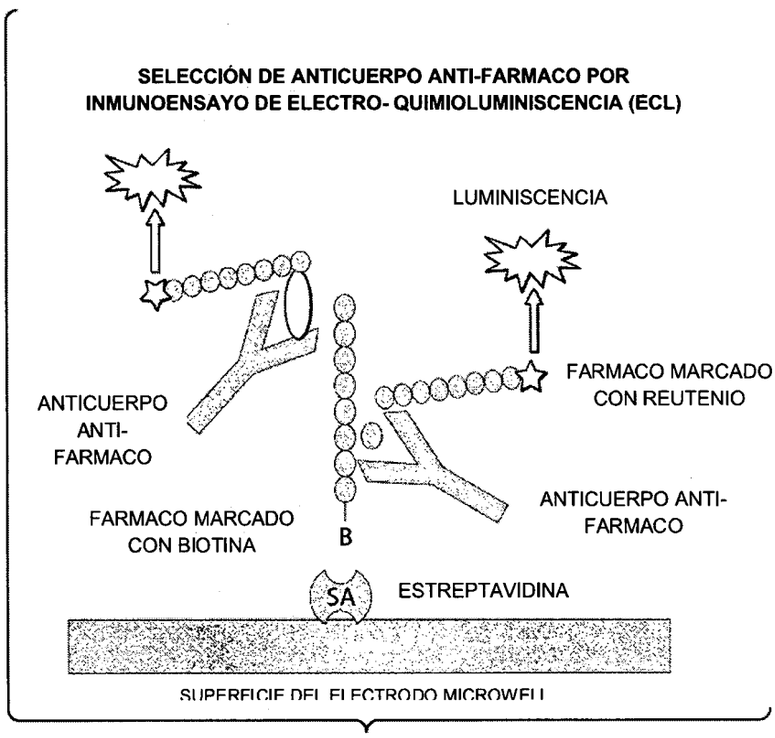

SELECCIÓN DE ANTICUERPO ANTI-FARMACO POR
INMUNOENSAYO DE ELECTRO- QUIMIOLUMINISCENCIA (ECL)
LUMINISCENCIA
FARMACO MARCADO
CON REUTENIO
ANTICUERPO
ANTI-
FARMACO
ANTICUERPO ANTI-
FARMACO
FARMACO MARCADO
CON BIOTINA
B
SA
ESTREPTAVIDINA
SUPERFICIE DEL ELECTRODO MICROWELL

Fig. 22

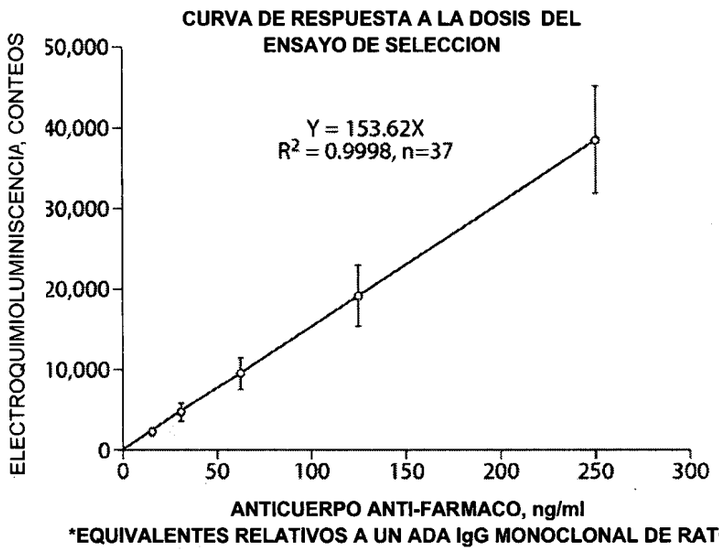

CURVA DE RESPUESTA A LA DOSIS DEL
ENSAYO DE SELECCION
ELECTROQUIMIOLUMINISCENCIA, CONTEOS
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
Y = 153.62X
R2 = 0.9998, n=37
0
50
100
150
200
250
300
ANTICUERPO ANTI-FARMACO, ng/ml
*EQUIVALENTES RELATIVOS A UN ADA IgG MONOCLONAL DE RATON

Fig. 23

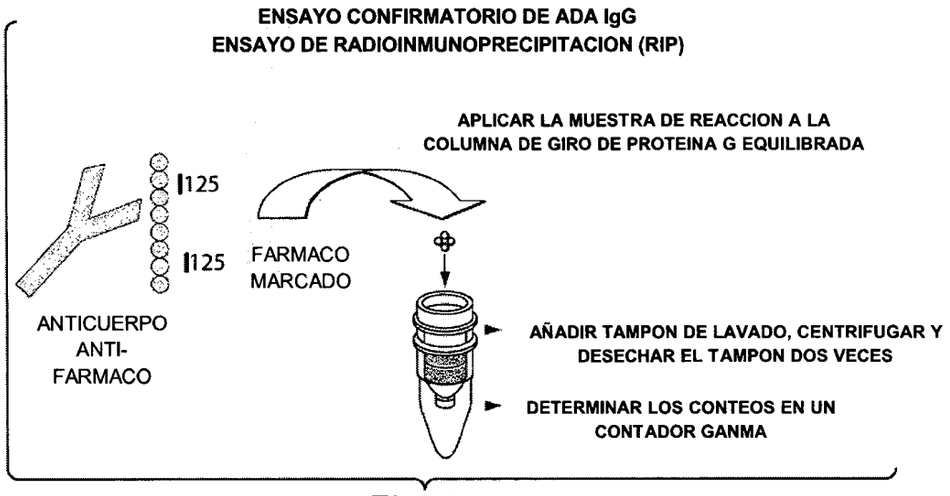

ENSAYO CONFIRMATORIO DE ADA IgG
ENSAYO DE RADIOINMUNOPRECIPITACION (RIP)
APLICAR LA MUESTRA DE REACCION A LA
COLUMNA DE GIRO DE PROTEINA G EQUILIBRADA
I125
I125
FARMACO
MARCADO
ANTICUERPO
ANTI-
FARMACO
AÑADIR TAMPON DE LAVADO, CENTRIFUGAR Y
DESECHAR EL TAMPON DOS VECES
DETERMINAR LOS CONTEOS EN UN
CONTADOR GANMA

Fig. 24

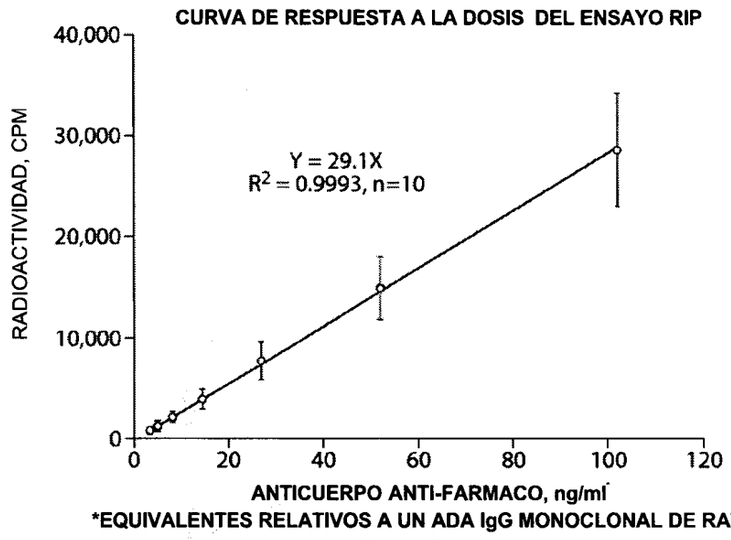

CURVA DE RESPUESTA A LA DOSIS DEL ENSAYO RIP
RADIOACTIVIDAD, CPM
40,000
30,000
20,000
10,000
0
Y = 29.1X
R2 = 0.9993, n=10
0
20
40
60
80
100
120
ANTICUERPO ANTI-FARMACO, ng/ml*
*EQUIVALENTES RELATIVOS A UN ADA IgG MONOCLONAL DE RATON

Fig. 25

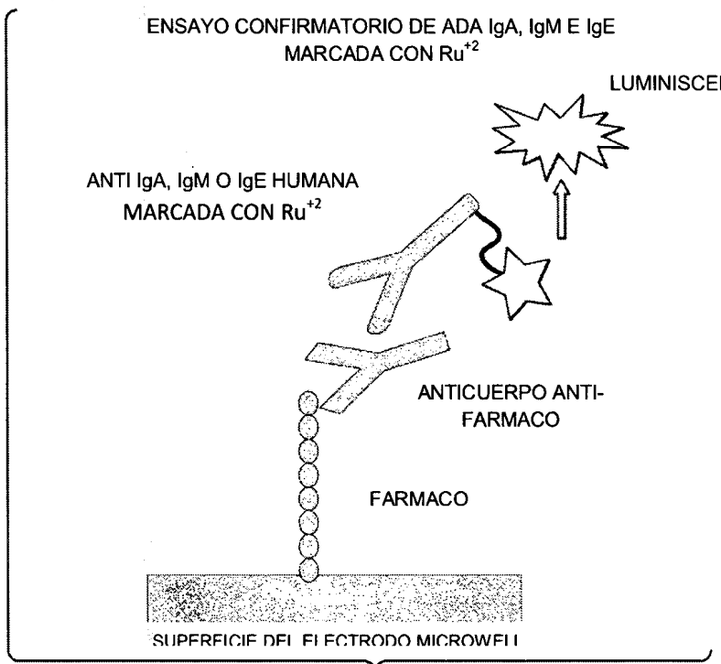

ENSAYO CONFIRMATORIO DE ADA IgA, IgM E IgE
MARCADA CON Ru+2
LUMINISCENCIA
ANTI IgA, IgM O IgE HUMANA
MARCADA CON Ru+2
ANTICUERPO ANTI-
FARMACO
FARMACO
SUPERFICIE DEL ELECTRODO MICROWELL

Fig. 26

215

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

TARJETA ARCHIVO TEMATICO
PATENTE

(21) No. De solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional:

(74) Apoderado: Andrea Tobos Mateus

(30) Prioridad	(31) No. De Prioridad	(32) Fecha	(33) País
SI	61/229,195	28 julio 2009	US
	61/303,044	10 febrero 2010	US
	61/317,513	25 marzo 2010	US
	61/333,372	11 mayo 2010	US
	61/359,338	28 junio 2010	US

(54) Título: COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA TRATAR LA ENFERMEDAD DE GAUCHER

(71) Solicitante (s): SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES

(72) Inventor (es): DANIEL, Peter, F. y HEARTLEIN, Michael, W.

PI02-F10 (2009-11-18)

AL DILIGENCIAR POR FAVOR NO VARIAR EL TAMAÑO DE LA TARJETA

ESTA SE IMPRIME EN CARTULINA BLANCA

216

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN

[X] **Patente de Invención** [ ] **Patente modelo de utilidad** [X] **PCT**

(21) No. De solicitud	(51) int. Cl:
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES
(30) Prioridad Si (31) No. Prioridad 61/229,195 61/303,044 61/317,513 61/333,372 y 61/359,338 (32) Fecha 28 julio 2009, 10 febrero 2010, 25 marzo 2010, 11 mayo 2010 y 28 junio 2010 (33) País US todas las prioridades	(72) Interventor (es) DANIEL, Peter, F. HEARTLEIN, Michael, W. (74) Apoderado (s) Andrea Tobos Mateus
(54) Título COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA TRATAR LA ENFERMEDAD DE GAUCHER	
Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT	
(85) Fecha límite inicio Fase Nacional 28 febrero 2012 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud 28 julio 2010 ***No. de solicitud PCT*** PCT/US2010/043586	(87) Publicación internacional Fecha 10 feb 11 ***Fecha (dd/mm/aa)*** No. Publicación ***WO*** /2011/017177

Resumen reivindicación (es):
La presente invención se refiere métodos y composiciones para tratar la enfermedad de Gaucher.

2/7

Print | Close Window

Subject: **Auto: Nueva solicitud de patente PCT fase nacional para PCT_US2010_043586**
From: **info@sic.gov.co**
Date: **Wed, Feb 29, 2012 9:29 pm**
To: **<tobos@tobos.com.co>**

Estimado Usuario:

Nos permitimos informarle que hemos recibido su solicitud. Para futuras comunicaciones vía correo electrónico, por favor envíelas a la siguiente dirección

contactenos@sic.gov.co

Cordial Saludo,

Centro de Documentación e Información
Superintendencia de Industria y Comercio

Copyright © 2003-2012. All rights reserved.

Tobos Intellectual Property

From: Tobos Intellectual Property [tobos@tobos.com.co]
Sent: Wednesday, February 29, 2012 11:28 PM
To: 'info@sic.gov.co'; 'informes@sic.gov.co'
Cc: 'andrea.tobos@tobos.com.co'
Subject: Nueva solicitud de patente PCT fase nacional para PCT_US2010_043586
Attachments: petitorio.PDF; Textoenespanol.PDF; figurasenespañol.PDF; expublicacion.PDF; tarjetaarchivotematico.PDF; 11_100703.pdf

Nueva solicitud de patente PCT fase nacional para PCT_US2010_043586

Estimados Señores:

Adjunto encontrarán la documentación necesaria para la entrada en fase nacional de la solicitud de patente PCT_US2010_03586.

Anexos:
Petitorio
Texto de la solicitud en español
Figuras de la solicitud en español
Extracto para publicación
Tarjeta de archivo temático
Comprobante de pago.

Mañana presentaremos la documentación impresa ante ese Despacho.

Gracias por su amable colaboración.

Andrea Tobos Mateus

Tobos Abogados s.a.s.
Carrera 7C No. 138-19 Oficina 901
Bogotá D.C., Colombia
M: +57 315 7901662
T: +571 8123335
F: +571 8123335
www.tobos.com.co

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-036036- -00000-0000

Fecha: 2012-03-01 09:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ **MODELO DE UTILIDAD** ☐ **Art 33 Decisión 486/00**

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCIÓN PCT ☑ **MODELO DE UTILIDAD PCT** ☐ **Art.33 Decisión 486/00, Circular Única**

- ☑ Indicación que se solicita una PCT
- ☑ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☑ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☑ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☑ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ **(Art. 119 Decisión 486/00)**

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ **(Art. 92 Decisión 486/00)**

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐