

EL CONTROL EFECTIVO Y EFICAZ DEL FOSFATO SÉRICO PARA UNA OSIFICACIÓN ÓPTIMA

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5

La presente solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. de serie 62/009.474, presentada el 9 de junio de 2014, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad a todos los efectos.

10

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a composiciones que comprenden un ingrediente activo que regula la osificación y métodos para utilizar las composiciones.

15

DESCRIPCIÓN DEL ARCHIVO DE TEXTO PRESENTADO ELECTRÓNICAMENTE

El contenido del archivo de texto presentado electrónicamente con la presente se incorpora a la presente por referencia en su totalidad: Un copia en formto legible en computadora del Listado de Secuencias (nombre del archivo: ULPI_022_01W0_SeqList_ST25.txt, fecha de registro: 15 de mayo de 2015, tamaño del archivo: 31 kilobytes).

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23 o FGF-23) es una hormona que regula el nivel del fosfato a través de una acción sobre la reabsorción del fosfato desde los riñones. El FGF23 se clonó inicialmente a partir de ratones utilizando métodos de PCR basados en secuencias derivadas de búsquedas en bases de datos utilizando homología secuencial con FGF15. El FGF23 humano se clonó utilizando homología secuencial con FGF23 de ratón. (Yamashita, T. et al., 10 Biochem. Biophys. Res. Commun., 277: 494-498, 2000).

Estudios recientes han arrojado nueva luz sobre la comprensión del metabolismo del fosfato. El fosfato tiene funciones importantes en el cuerpo y diversos mecanismos han evolucionado para regular el equilibrio del fosfato incluida la vitamina D, la paratirina y las fosfatoninas tales como 15 FGF23. Los trastornos de la homeostasis del fosfato que conducen a la hipo e hiperfosfatemia son comunes y tienen consecuencias clínicas y bioquímicas.

A pesar de los hallazgos anteriores, permanece la necesidad 20 de métodos más efectivos para tratar trastornos relacionados con el metabolismo anormal del fosfato, tales como trastornos relacionados con la señalización anormal de FGF23, y métodos para evaluar la eficacia del tratamiento. La presente invención satisface esta necesidad y proporciona

composiciones y métodos para el tratamiento efectivo de dichos trastornos.

COMPENDIO DE LA INVENCION

5 La presente invención se basa en parte en el descubrimiento de que un régimen de dosificación de ligandos anti-FGF23 se puede determinar en función de una comprensión de la relación entre los niveles de fosfato y los niveles regulados de FGF23 en un ciclo de dosificación durante la administración
10 crónica. Por consiguiente, la presente invención proporciona métodos para determinar el régimen de dosificación de ligandos anti-FGF23. La presente invención también proporciona métodos para tratar afecciones o trastornos asociados con FGF23. Los ligandos anti-FGF23 pueden
15 utilizarse para tratar diversos trastornos. En algunas realizaciones distintas, los trastornos se asocian con la señalización anormal de FGF23 en el sujeto que necesita dicho tratamiento. En algunas realizaciones distintas, los trastornos se asocian con la actividad anormal de FGF23 en el
20 sujeto que necesita dicho tratamiento. En algunas realizaciones distintas, los trastornos se asocian con la actividad anormalmente alta de FGF23 en el sujeto que necesita dicho tratamiento. En algunas realizaciones distintas, el trastorno se selecciona del grupo que consta de

raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante/osteomalacia (ADHR, por sus siglas inglés), hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH, por sus siglas en inglés), raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo (ARHR, por sus siglas en inglés), displasia fibrosa (FD, por sus siglas en inglés), síndrome McCune-Albright complicado por displasia fibrosa (MAS/FD, por sus siglas en inglés), condrodisplasia metafisaria tipo Jansen (síndrome de Jansen), enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD, por sus siglas en inglés), osteomalacia inducida por tumor (TIO, por sus siglas en inglés), acidosis metabólica crónica y calcificación ectópica. En algunas realizaciones, el trastorno es XLH. En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar un ligando anti-FGF23 a un sujeto que necesita dicho tratamiento. En algunas realizaciones, una cantidad efectiva de un ligando anti-FGF23 se administra al sujeto.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el régimen de dosificación del ligando anti-FGF23 puede determinarse en función de uno o más parámetros PD del ligando anti-FGF23 en el sujeto.

Los parámetros PD del ligando anti-FGF23 incluyen, a modo no taxativo, fósforo sérico (por ejemplo, AUC de fósforo sérico, tal como AUC de fósforo sérico en un intervalo entre dosis, o

concentración máxima y residual de fósforo sérico), Tmp/GFR, 1,25-dihidroxi-vitamina D sérica y 25-hidroxi-vitamina D sérica.

En algunas realizaciones, el ligando anti-FGF23 se selecciona del grupo que consta de anticuerpos anti-FGF23, oligonucleótidos no codificantes de FGF23, inhibidores de molécula pequeña de FGF23, antagonistas de FGF23 y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el ligando anti-FGF23 es un anticuerpo anti-FGF23.

En algunas realizaciones, el ligando anti-FGF23 comprende una o más secuencias CDR seleccionadas de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones, el régimen de dosificación del ligando anti-FGF23 proporciona un aumento adecuado o producción predeterminada de fosfato durante un ciclo de dosificación. En algunas realizaciones, el régimen de dosificación proporciona un aumento estable de fosfato dentro de un rango predeterminado de fosfato. En algunas realizaciones, el régimen de dosificación proporciona un aumento estable en el fósforo sérico de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 mg/dL por encima del nivel de fosfato inicial.

En algunas realizaciones, el régimen de dosificación del

ligando anti-FGF23 proporciona suficiente agente de unión para un aumento del nivel de FGF23 unido durante terapia con ligando anti-FGF23 crónica.

En algunas realizaciones, el régimen de dosificación
5 comprende una frecuencia de dosificación que proporciona un efecto sostenido sobre el transportador NaPi, *es decir*, sin una disminución de la actividad del transportador NaPi durante un ciclo de dosificación.

En algunas realizaciones, el régimen de dosificación
10 comprende administrar un ligando anti-FGF23 con mayor frecuencia que en un régimen de dosificación mensual, tal como administrar un ligando anti-FGF23 cada dos semanas (*es decir*, Q2W).

En algunas realizaciones, el régimen de dosificación
15 proporciona un aumento en la remodelación ósea.

En algunas realizaciones distintas, la presente invención proporciona métodos para tratar y/o prevenir un trastorno mediante la administración aproximadamente cada dos semanas de una cantidad efectiva de un ligando anti-FGF23 a un sujeto
20 que necesita dicho tratamiento. En algunas realizaciones, la administración proporciona un efecto terapéutico estadísticamente significativo para tratar el trastorno. En algunas realizaciones, el sujeto padece un trastorno seleccionado del grupo que consta de raquitismo

hipofosfatémico autosómico dominante/osteomalacia (ADHR, por sus siglas inglés), hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH, por sus siglas en inglés), raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo (ARHR, por sus siglas en inglés),
5 displasia fibrosa (FD, por sus siglas en inglés), síndrome McCune-Albright complicado por displasia fibrosa (MAS/FD, por sus siglas en inglés), condrodisplasia metafisaria tipo Jansen (síndrome de Jansen), enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD, por sus siglas en inglés),
10 osteomalacia inducida por tumor (TIO, por sus siglas en inglés), acidosis metabólica crónica y calcificación ectópica. En algunas realizaciones, el trastorno es calcificación ectópica.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporcionan
15 métodos para tratar afecciones o trastornos asociados con FGF23. En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar uno o más ligandos anti-FGF23 de acuerdo con un régimen de dosificación determinado en base a uno o más parámetros PD de los ligandos anti-FGF23.

20 De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporcionan métodos para aumentar la remodelación ósea. En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad efectiva de un ligando anti-FGF23. En algunas realizaciones,

el ligando anti-FGF23 provoca un aumento de un marcador. En algunas realizaciones, el marcador se selecciona del grupo que consta de propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 sérico (P1NP, por sus siglas en inglés), telopéptido
5 reticulado carboxiterminal del colágeno (CTX, por sus siglas en inglés), Osteocalcina, BALP (siglas en inglés para Fosfatasa alcalina ósea) y CTX sérico y relación entre NTX/creatina en orina. En algunas realizaciones, el sujeto padece un trastorno seleccionado del grupo que consta de
10 raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante/osteomalacia (ADHR, por sus siglas en inglés), hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH, por sus siglas en inglés), raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo (ARHR, por sus siglas en inglés), displasia fibrosa (FD, por sus siglas en inglés),
15 síndrome McCune-Albright complicado por displasia fibrosa (MAS/FD, por sus siglas en inglés), condrodisplasia metafisaria tipo Jansen (síndrome de Jansen), enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD, por sus siglas en inglés), osteomalacia inducida por tumor (TIO, por
20 sus siglas en inglés), acidosis metabólica crónica y calcificación ectópica. En algunas realizaciones, el sujeto padece XLH. En algunas realizaciones distintas, el método aumenta la remodelación ósea asociada con una o más afecciones provocadas por FGF23 anormal, por ejemplo,

actividad y/o nivel de FGF23 alto.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 representa los valores medios ($\pm$ DT) de fósforo
5 sérico por día de estudio para todos los sujetos tratados con
KRN23 en el análisis de eficacia durante el primer ensayo
clínico en Fase I/II.

La Figura 2 representa los niveles medios ($\pm$ DT) de TmP/GFR
por día de estudio para todos los sujetos tratados con KRN23
10 en el análisis de eficacia durante el primer ensayo clínico
en Fase I/II.

La Figura 3 representa un diagrama de dispersión de $AUC_{\text{último}}$
(Panel izquierdo) y AUC_n (Panel derecho) para fósforo sérico
con respecto a $AUC_{\text{último}}$ (Panel izquierdo) y AUC_n (Panel
15 derecho) para TmP/GFR en pacientes tratados con KRN23 en el
análisis de eficacia durante el primer ensayo clínico en Fase
I/II.

La Figura 4 representa un diagrama de dispersión de TmP/GFR
calculada con respecto a TmP/GFR leída manualmente a partir
20 de Nomograma para todos los sujetos tratados con KRN23 en el
análisis de eficacia durante el primer ensayo clínico en Fase
I/II.

La Figura 5 representa los niveles medios ($\pm$ DT) de
1,25(OH)₂D (pg/mL) en el tiempo para los 4 intervalos de

dosificación para todos los sujetos tratados con KRN23 en el análisis de eficacia durante el primer ensayo clínico en Fase I/II.

La Figura 6 representa los valores medios ($\pm$ DT) de FGF23 total y FGF23 sin unir en el tiempo en el análisis de
5 eficacia durante el primer ensayo clínico en Fase I/II.

La Figura 7 representa la concentración media ($\pm$ DT) de KRN23 en el tiempo (durante los 4 intervalos de dosificación) para el análisis farmacocinético durante el primer ensayo clínico
10 en Fase I/II.

La Figura 8 represente un diagrama de dispersión de AUC para cambios en el fósforo sérico con respecto a los valores iniciales con respecto a la AUC de KRN23 sérica en el análisis de eficacia durante el primer ensayo clínico en Fase
15 I/II.

La Figura 9 represente un diagrama de dispersión de AUC para el cambio en TMP/GFR con respecto a los valores iniciales con respecto a la AUC de KRN23 sérica en el análisis farmacocinético durante el primer ensayo clínico en Fase
20 I/II.

La Figura 10 represente un diagrama de dispersión de AUC para el cambio en 1,25-Dihidroxivitamina D sérica con respecto a los valores iniciales con respecto a la AUC de KRN23 sérica en el análisis farmacocinético durante el primer ensayo

clínico en Fase I/II.

La Figura 11 representa la relación entre la concentración de KRN23 y el cambio con respecto a los valores iniciales en el fósforo sérico en sujeto adultos con XLH tratados con KRN23 a
5 partir de las predicciones del modelo PK-PD de población en el análisis farmacocinético durante el primer ensayo clínico en Fase I/II.

La Figura 12 representa los valores medios ($\pm$ DT) de fósforo sérico en el tiempo para todos los sujetos tratados con KRN23
10 para el análisis de eficacia durante el segundo ensayo clínico en Fase I/II.

La Figura 13 representa los niveles medios ($\pm$ DT) de TmP/GFR en el tiempo para todos los sujetos tratados con KRN23 para el análisis de eficacia durante el segundo ensayo clínico en
15 Fase I/II.

La Figura 14 representa los niveles medios ($\pm$ DT) de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en el tiempo para todos los sujetos tratados con KRN23 para el análisis de eficacia durante el segundo ensayo clínico en Fase I/II.

20 La Figura 15 representa los valores medios ($\pm$ DT) de FGF23 intacto totales en el tiempo en el análisis de eficacia durante el segundo ensayo clínico en Fase I/II.

La Figura 16 representa el modelo propuesto de patofisiología de hipofosfatemia ligada al cromosoma X y el tratamiento

mediante el anticuerpo anti-FGF23 KRN23.

La Figura 17 representa un esuqmea del diseño del estudio en Fase 2 propuesto.

La Figura 18 representa los niveles de fósforo sérico en
5 pacientes pediátricos tratados con un régimen de dosificación Q2W del anticuerpo anti-FGF23 KRN23.

La Figura 19 representa los niveles de fósforo sérico en pacientes pediátricos tratados con un régimen de dosificación Q4W del anticuerpo anti-FGF23 KRN23.

10 La Figura 20 representa una comparación en paralelo de los niveles de fósforo sérico en pacientes pediátricos tratados con el anticuerpo anti-FGF23KRN23 en un régimen de dosificación Q2W o un régimen de dosificación Q4W.

La Figura 21 representa los niveles de TmP/GRF en pacientes
15 pediátricos tratados con un régimen de dosificación Q2W del anticuerpo anti-FGF23KRN23.

La Figura 22 representa los niveles de TmP/GRF en pacientes pediátricos tratados con un régimen de dosificación Q4W del anticuerpo anti-FGF23 KRN23.

20 La Figura 23 representa una comparación en paralelo de los niveles de TmP/GRF en pacientes pediátricos tratados con el anticuerpo anti-FGF23 KRN23 en un régimen de dosificación Q2W o un régimen de dosificación Q4W.

La Figura 24 representa una comparación en paralelo de los

niveles de fosfatasa alcalina sérica (ALP) en pacientes pediátricos tratados con el anticuerpo anti-FGF23 KRN23 en un régimen de dosificación Q2W o un régimen de dosificación Q4W.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5 Definiciones

El verbo "comprender" tal como se usa en la presente descripción y en las reivindicaciones y sus conjugaciones se utilizan en su sentido no limitante para significar que los elementos que siguen a la palabra están incluidos, pero que
10 los elementos no mencionados específicamente no están excluidos.

El término "un" o "una" se refiere a uno o más de dicha entidad; por ejemplo, "un gen" se refiere a uno o más genes o al menos un gen. Como tal, los términos "un" (o "una"), "uno
15 o más" y "al menos uno" se utilizan de forma intercambiable en la presente. Además, la referencia a "un elemento" mediante el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que más de uno de los elementos estén presentes, a menos que el contexto indique claramente que hay
20 uno y solo uno de los elementos.

La invención proporciona secuencias polinucleotídicas aisladas, quiméricas, recombinantes o sintéticas. Tal como se usa en la presente, los términos "polinucleótido", "secuencia polinucleotídica", "secuencia de ácido nucleico", "fragmento

de ácido nucleico" y "fragmento de ácido nucleico aislado" se utilizan de forma intercambiable en la presente y abarcan ADN, ARN, ADNc, ya sea monocatenario o bicatenario, así como las modificaciones químicas de los mismos. Estos términos

5 abarcan secuencias nucleotídicas y similares. Un polinucleótido puede ser un polímero de ARN o ADN que es monocatenario o bicatenario, que contiene opcionalmente bases nucleotídicas sintéticas, no naturales o alteradas. Un polinucleótido en forma de un polímero de ADN puede

10 comprender uno o más segmentos de ADNc, ADN genómico, ADN sintético o mezclas de los mismos. Los nucleótidos (que generalmente se encuentran en su forma de 5'-monofosfato) se mencionan mediante una designación de una única letra, a saber: "A" para adenilato o desoxiadenilato (par ARN o ADN,

15 respectivamente), "C" para citidilato o desoxicitidilato, "G" para guanilato o desoxiguanilato, "U" para uridilato, "T" para desoxitimidilato, "R" para purinas (A o G), "Y" para pirimidinas (C o T), "K" para G o T, "H" para A o C o T, "I" para inosina y "N" para cualquier nucleótido. En algunas

20 realizaciones, las secuencias polinucleotídicas aisladas, quiméricas, recombinantes o sintéticas derivan de marcadores génicos de la presente invención.

La invención también proporciona proteínas o polipéptidos. En algunas realizaciones, las proteínas o polipéptidos son

aislados, purificados, quiméricos, recombinantes o sintéticos. Tal como se usa en la presente, el término "polipéptido" o "proteína" se refiere a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser
5 lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados, y puede estar interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que ha sido modificado naturalmente o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlace disulfuro, glicosilación,
10 lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente de etiquetado. También se incluyen, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluidos, por ejemplo, aminoácidos no naturales,
15 etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Los polipéptidos pueden presentarse como cadenas simples o cadenas asociadas. Los polipéptidos de la invención pueden tomar diversas formas (por ejemplo, natural, fusiones, glicosilada, no glicosilada, lipidada, no lipidada,
20 fosforilada, no fosforilada, miristoilada, no miristoilada, monomérica, multimérica, particulada, desnaturalizada, etc.). En algunas realizaciones, las secuencias de las proteínas o polipéptidos derivan de marcadores génicos de la presente invención.

Las abreviaturas de una sola letra para los aminoácidos usadas en la presente tienen su significado habitual en la técnica, y todas las secuencias peptídicas descritas en la presente se escriben de acuerdo la convención, estando el extremo N terminal a la izquierda y el extremo C terminal a la derecha.

Tal como se usa en la presente, la expresión “un componente en la vía de señalización de FGF23”, se refiere a FGF23, u otros componentes que pueden modular la actividad de FGF23, directa o indirectamente, o componentes que pueden ser modulados por FGF23, directa o indirectamente. Dichos elementos incluyen, a modo no taxativo, aquellos descritos por Sapir-Koren and Livshits (Bone mineralization and regulation of phosphate homeostasis, IBMS BoneKEy, 8:286-300, (2011)), Quarles (FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization, American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism Publicado el 1° de julio de 2003, Tomo 285, no.E1-E9) y Martin and Quarles (Evidence for Fgf23 Involvement in a Bone-Kidney Axis Regulating Bone Mineralization and Systemic Phosphate and Vitamin D Homeostasis, Endocrine FGFs and Klothos, Springer Science and Business Media, LLC, landers Bioscience), incorporándose cada uno a la presente por referencia en su totalidad a todos los efectos.

Tal como se usa en la presente, el término "receptor de factor de crecimiento de fibroblastos" o "FGFR" se refiere a un receptor específico para FGF que es necesario para transducir la señal ejercida por FGF hacia el interior celular, que comprende típicamente un dominio de unión a ligando extracelular, una hélice transmembrana simple y un dominio citoplasmático que tiene actividad de tirosina cinasa. El dominio extracelular de FGFR consta de tres dominios (D1, D2 y D3) similares a inmunoglobulina (similar a Ig), un dominio de unión a heparina y una secuencia ácida.

El término "antígeno", tal como se usa en la presente, se refiere a una molécula capaz de ser reconocida por un anticuerpo. Un antígeno puede ser, por ejemplo, un péptido o una forma modificada del mismo. Un antígeno puede comprender uno o más epítopos.

El término "epítipo", tal como se usa en la presente, es una porción de un antígeno que es reconocido específicamente por un anticuerpo. Un epítipo, por ejemplo, puede comprender o constar de una porción de un péptido (*por ejemplo*, un péptido de la invención). Un epítipo puede ser un epítipo lineal, un epítipo secuencial o un epítipo conformacional.

Tal como se usa en la presente, la expresión "ligando anti-FGF23" se refiere a moléculas que inhiben la actividad de FGF23 directa o indirectamente. La inhibición puede

producirse a nivel de ADN, a nivel transcripcional, a nivel postranscripcional, a nivel translacional y/o a nivel postranslacional. Dichas moléculas incluyen, a modo no taxativo, anticuerpos anti-FGF23, oligonucleótidos no
5 codificantes de FGF23, inhibidores de molécula pequeña de FGF23, antagonistas de FGF23, así como cualquier molécula que interactúe con uno o más componentes de la vía de señalización de FGF23 inhibiendo así indirectamente a FGF23.

Los términos "anticuerpo" e "inmunoglobulina", tales como se
10 usan en la presente, se refieren ampliamente a cualquier agente o molécula de unión inmunológica que comprende un dominio de unión a antígeno humano, incluidos anticuerpos monoclonales y policlonales. Dependiendo del tipo de dominio constante en las cadenas pesadas, los anticuerpos enteros se
15 asignan a una de cinco clases principales: IgA, IgD, IgE, IgG y IgM y los anticuerpos de la invención pueden estar en cualquier de estas clases. Varias de estas se dividen adicionalmente en subclases o isotipos, tales como IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 y similares. Los dominios constantes de
20 cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , μ y respectivamente. Las estructuras de subunidad y configuraciones tridimensionales de la diferentes clases de inmunoglobulinas se conocen bien. En algunas realizaciones, se utilizan IgG

y/o IgM. Se entenderá que cuando se usan los términos "anticuerpo" o "anticuerpos", se pretende que incluyan anticuerpos intactos, tales como anticuerpos policlonales o anticuerpos monoclonales (mAbs), así como fragmentos proteolíticos de los mismos tales como los fragmentos Fab o F(ab')₂. Además se incluyen dentro del alcance de la invención anticuerpos quiméricos; anticuerpos humanos y humanizados; anticuerpos recombinantes y manipulados u fragmentos de los mismos. Adicionalmente, el ADN que codifica la región variable del anticuerpo puede insertarse en el ADN que codifica otros anticuerpos para producir anticuerpos quiméricos (véase, por ejemplo, la Pat. estadounidense No. 4.816.567). Los anticuerpos de cadena simple están dentro del alcance de la presente invención.

La expresión "fragmento variable de cadena simple (scFv)" significa una fusión de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina, conectadas entre con un conector corto (generalmente serina, glicina). Los anticuerpos de cadena simple pueden ser polipéptidos compuestos de cadena simple que tienen capacidades de unión a antígeno y que comprenden secuencias de aminoácidos homólogas o análogas a las regiones variables de una cadena pesada y ligera de inmunoglobulina (VH-VL conectadas o Fv de cadena simple (scFv)). Ambas VH y VL pueden copiar secuencias de

anticuerpo monoclonal naturales o una o ambas de las cadenas puede comprender una construcción CDR-FR del tipo descrito en la Pat. estadounidense No. 5.091.513, cuyo contenido total se incorpora a la presente por referencia. Los polipéptidos

5 separados análogos a las regiones variables de las cadenas ligera y pesada se mantienen juntos mediante un conector polipeptídico. Los métodos de producción de dichos anticuerpos de cadena simple, particularmente cuando se conoce el ADN que codifica las estructuras polipeptídicas de

10 las cadenas VH y VL, pueden aplicarse de acuerdo con los métodos descritos, por ejemplo, en las Patentes estadounidenses Nos. 4.946.778, 5.091.513 y 5.096.815, cuyos contenidos totales se incorporan a la presente por referencia.

15 La expresión "cadena ligera" incluye una cadena ligera de longitud completa y fragmentos de la misma que tienen una secuencia de región variable suficiente para conferir especificidad de unión. Una cadena ligera de longitud completa incluye un dominio de región variable, V_L y un

20 dominio de región constante, C_L . El dominio de región variable de la cadena ligera está en el extremo amínico del polipéptido. Las cadenas ligeras incluyen cadenas kappa y cadenas lambda.

La expresión "cadena pesada" incluye una cadena pesada de

longitud completa y fragmentos de la misma que tienen una
secuencia de región variable suficiente para conferir
especificidad de unión. Una cadena pesada de longitud
completa incluye un dominio de región variable, V_H y tres
5 dominios de región constante, C_{H1} , C_{H2} y C_{H3} . El dominio V_H está
en el extremo amínico del polipéptido, y los dominios C_H están
en el extremo carboxílico, siendo C_{H3} el más cercano al
extremo carboxílico del polipéptido. Las cadenas pesadas
puede ser de cualquier isotipo, incluido IgG (incluidos los
10 subtipos IgG1, IgG2, IgG3 y IgG4), IgA (incluidos los
subtipos IgA1 y IgA2), IgM y IgE.

Hay tres regiones de determinación de complementariedad
presentes en la región variable de cadena pesada, que son una
primera región de determinación de complementariedad (CDR1),
15 una segunda región de determinación de complementariedad
(CDR2) y una tercera región de determinación de
complementariedad (CDR3). Las tres regiones de determinación
de complementariedad en la región variable de cadena pesada
se denominan colectivamente como la región de determinación
20 de complementariedad de cadena pesada. De forma similar, hay
tres regiones de determinación de complementariedad presentes
en la región variable de cadena ligera, que son una primera
región de determinación de complementariedad (CDR1), una
segunda región de determinación de complementariedad (CDR2) y

una tercera región de determinación de complementariedad (CDR3). Las tres regiones de determinación de complementariedad en la región variable de cadena ligera se denominan colectivamente como la región de determinación de complementariedad de cadena ligera. Las secuencias de estas CDR pueden determinarse utilizando los métodos descritos en Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991) y similares.

La expresión "fragmento inmunológicamente funcional" (o simplemente "fragmento") de una proteína de unión a antígeno, por ejemplo, un anticuerpo o cadena de inmunoglobulina (cadena pesada o ligera), tal como se usa en la presente, es una proteína de unión a antígeno que comprende una porción (independientemente de cómo se obtiene o sintetiza dicha porción) de un anticuerpo que carece de al menos algunos aminoácidos presentes en una cadena de longitud completa pero que es capaz de unirse específicamente a un antígeno. Dichos fragmentos son biológicamente activos porque se unen específicamente al antígeno objetivo y pueden competir con otras proteínas de unión a antígeno, incluidos anticuerpos intactos, por la unión específica a un epítipo dado. En un aspecto, dicho fragmento mantendrá al menos una CDR presente en la cadena ligera o pesada de longitud completa, y en algunas realizaciones comprenderá una cadena pesada y/o

cadena ligera simple o porción de la misma. Estos fragmentos biológicamente activos pueden producirse mediante técnicas de ADN recombinante, o pueden producirse mediante escisión enzimático o química de proteínas de unión a antígeno, incluidos anticuerpos intactos. Los fragmentos de inmunoglobulina inmunológicamente funcionales incluyen, a modo no taxativo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio y anticuerpos de cadena simple, y pueden derivar de cualquier fuente mamífera, incluidos, a modo no taxativo, humano, ratón, rata, camélido o conejo. Se contempla además que una porción funcional de las proteínas de unión a antígeno divulgadas en la presente, por ejemplo, una o más CDR, podrían unirse covalentemente con una segunda proteína o con una molécula pequeña para crear un agente terapéutico dirigido a un objetivo específico en el cuerpo, que posee propiedades terapéuticas bifuncionales, o que tiene una semivida en suero prolongada.

Una "Fc" o "región Fc" comprende uno o dos fragmentos de cadena pesada, y puede comprender los dominios C_H2 y/o C_H3 de un anticuerpo. Cuando están presentes dos fragmentos de cadena pesada, los dos fragmentos de cadena pesada se mantienen juntos mediante dos o más enlaces disulfuro y mediante interacciones hidrófobas de los dominios C_H3. Una región Fc puede ser de origen natural (por ejemplo, una

región Fc derivada de una IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgE, IgA, etc.) o puede ser una secuencia manipulada que comprende una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, etc.) mutaciones, supresiones o inserciones introducidas en un fragmento o fragmentos de cadena pesada de origen natural que constituyen una secuencia Fc.

Un "fragmento Fab'" contiene una cadena ligera y una porción de una cadena pesada que contiene el dominio V_H y el dominio C_{H1} y también la región entre los dominios C_{H1} y C_{H2} , de forma que pueda formarse un enlace disulfuro intercadena entre las dos cadenas pesadas de dos fragmentos Fab' para formar una molécula $F(ab')_2$.

Un "fragmento $F(ab')_2$ " contiene dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que contienen una porción de la región constante entre los dominios C_{H1} y C_{H2} , de forma que se forma un enlace disulfuro intercadena entre las dos cadenas pesadas. Por consiguiente, un fragmento $F(ab')_2$ está compuesto por dos fragmentos Fab' que se mantienen juntos mediante un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas.

La "región Fv" comprende las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, pero carece de las regiones constantes.

Tal como lo entenderán los expertos en la técnica, los

reactivos de unión inmunológica abarcados por el término "anticuerpo" se extienden a todos los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluidos anticuerpos enteros, anticuerpos diméricos, triméricos y 5 multiméricos; anticuerpos biespecíficos; anticuerpos quiméricos; anticuerpos recombinantes y manipulados y fragmentos de los mismos. Por consiguiente, el término "anticuerpo" se usa para hacer referencia a cualquier molécula similar a un anticuerpo que tiene un región de unión 10 a antígeno, y este término incluye fragmentos de anticuerpo que comprenden un dominio de unión a antígeno tal como Fab', Fab, F(ab')₂, anticuerpos de dominio simple (DAB), dímero TandAbs, Fv, scFv (Fv de cadena simple), dsFv, ds-scFv, Fd, anticuerpos lineales, minicuerpos, diacuerpos, fragmentos de 15 anticuerpo biespecíficos, bicuerpo, tricuerpo (fusiones scFv-Fab, biespecíficas o triespecíficas, respectivamente); sc-diacuerpo; cuerpos kappa (lamda) (fusiones scFv-CL); Captador de células T biespecífico (BiTE) (tándems scFv-scFv para atraer células T); dominio variable doble (DVD)-Ig (formato 20 biespecífico); inmunoproteína pequeña (SIP) (tipo de minicuerpo); SMIP ("producto inmunofarmacéutico modular pequeño" dímero scFv-Fc; DART (ds-diacuerpo estabilizado "Redireccionamiento de afinidad doble"); miméticos de anticuerpo pequeño que comprenden una o más CDR y similares.

Las técnicas para preparar y utilizar diversas construcciones y fragmentos basados en anticuerpos se conocen en la técnica (véase Kabat et al., 1991, incorporado específicamente a la presente por referencia). Los diacuerpos, en particular, se describen adicionalmente en EP 404, 097 y WO 93/11161; mientras que los anticuerpos lineales se describen adicionalmente en Zapata et al. (1995).

Los anticuerpos pueden fragmentarse utilizando técnicas convencionales. Por ejemplo, se pueden generar fragmentos $F(ab')_2$ tratando al anticuerpo con pepsina. El fragmento $F(ab')_2$ resultante puede tratarse para reducir los puentes disulfuro para producir fragmento Fab' . La digestión de papaína puede conducir a la formación de fragmentos Fab . También se pueden sintetizar Fab , Fab' y $F(ab')_2$, $scFv$, Fv , $dsFv$, Fd , $dAbs$, T y Abs , $ds-scFv$, dímeros, minicuerpos, diacuerpos, fragmentos de anticuerpo biespecíficos y otros fragmentos mediante técnicas recombinantes o pueden sintetizarse químicamente. Las técnicas para producir fragmentos de anticuerpos se conocen y están descritas en la técnica. Por ejemplo, cada uno de Beckman et al., 2006; Holliger & Hudson, 2005; Le Gall et al., 2004; Reff & Heard, 2001; Reiter et al., 1996; y Young et al., 1995 describe adicionalmente y posibilita la producción de fragmentos de anticuerpo efectivos.

Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo se pueden producir naturalmente o pueden producirse sintéticamente de forma completa o parcial. Por consiguiente, el anticuerpo puede ser de cualquier fuente apropiada, por ejemplo, fuentes
5 recombinantes y/o producidas en animales transgénicos o plantas transgénicas, o en huevos utilizando tecnología IgY. Por consiguiente, las moléculas del anticuerpo pueden producirse in vitro o in vivo. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo comprende una región
10 variable de cadena ligera de anticuerpo (VL) que comprende tres dominios CDR y una región variable de cadena pesada de anticuerpo (VH) que comprende tres dominios CDR. Dichas VL y VH generalmente forman el sitio de unión a antígeno.

Tal como se usa en la presente, un fragmento "Fv" es el
15 fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio de reconocimiento y unión a antígeno completo. Esta región tiene un dímero de una cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera en asociación estrecha, no covalente. Es en esta configuración que las tres regiones hipervariables (CDR)
20 de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a antígeno sobre la superficie del dímero VH-VL. Colectivamente, las seis regiones hipervariables (CDR) confieren especificidad de unión a antígeno al anticuerpo. Sin embargo, está bien documentado en la técnica que la

presencia de tres CDR del dominio variable de cadena ligera y tres CDR del dominio variable de cadena pesada de un anticuerpo no es necesaria para la unión a antígeno. Por consiguiente, se sabe que las construcciones más pequeñas que el fragmento de anticuerpo clásico mencionado anteriormente son efectivas. Por ejemplo, los anticuerpos de camélidos (Hamers-Casterman et al., 1993; Arbabi Ghahroudi et al., 1997) tienen un extenso repertorio de unión a antígeno pero carecen de cadenas ligeras. Además, los resultados con anticuerpos de dominio simple que comprenden solo dominios VH (Ward et al., 1989; Davies and Riechmann, 1995) o solo dominios VL (van den Beucken et al., 2001) muestran que estos dominios se pueden unir a antígeno con afinidades aceptablemente altas. Por consiguiente, tres CDR pueden unirse a antígeno eficazmente.

También se sabe que una única CDR o dos CDR pueden unirse a antígeno eficazmente. Como primer ejemplo, una única CDR puede insertarse en una proteína heteróloga y conferir capacidad de unión a antígeno a la proteína heteróloga, tal como se ejemplifica al mostrar que una región CDR3 de VH insertada en una proteína heteróloga, tal como GFP, confiere capacidad de unión a antígeno a la proteína heteróloga (Kiss et al., 2006; Nicaise et al., 2004). Además se sabe que dos CDR pueden unirse eficazmente a antígeno e incluso conferir

propiedades superiores a las que posee el anticuerpo genitor. Por ejemplo, se ha demostrado (Qiu et al., 2007) que dos CDR de un anticuerpo genitor (una región CDR1 de VH y una región CDR3 de VL) conservan las propiedades de reconocimiento de antígeno de la molécula genitora pero tienen una capacidad superior para penetrar tumores. La unión de estos dominios de CDR con una secuencia conectora adecuada (por ejemplo, de FR2 de VH) para orientar a las CDR de forma que se asemejen al anticuerpo genitor natural produjo un reconocimiento de antígeno incluso mejor. Por lo tanto, se sabe en la técnica que es posible construir miméticos de anticuerpo de unión a antígeno que comprenden dos dominios CDR (por ejemplo, uno de un dominio VH y uno de un dominio VL, por ejemplo, siendo uno de los dos dominios CDR un dominio CDR3) orientados por medio de un región marco adecuada para mantener la conformación encontrada en el anticuerpo genitor. Por consiguiente, aunque algunos anticuerpos de la invención pueden comprender seis regiones CDR (tres de una cadena ligera y tres de una cadena pesada), los anticuerpos con menos de seis regiones CDR y con tan solo una o dos regiones CDR son abarcados por la invención. Además, también se contemplan los anticuerpos con CDR solo de cadena pesada o cadena ligera.

Las regiones CDR de cadena ligera para uso conjuntamente con las regiones CDR de cadena pesada especificadas se describen

en otra parte de la presente. Sin embargo, también se contemplan otras regiones variables de cadena ligera que comprenden tres CDR para uso conjuntamente con las regiones variables de cadena pesada de la invención. Las regiones variables de cadena ligera adecuadas que pueden utilizarse en combinación con las regiones variables de cadena pesada y que dan lugar a un anticuerpo que se une a FGF23 pueden ser identificadas fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, una región variable de cadena pesada de la invención puede combinarse con una región variable de cadena ligera simple o un repertorio de regiones variables de cadena ligera y se pueden evaluar los anticuerpos resultantes para determinar su unión a FGF23. Cabría esperar que una cantidad razonable de dichas combinaciones de regiones variables de cadena pesada de la invención con diferentes regiones variables de cadena ligera conserve la capacidad para unirse a FGF23.

Se podrían utilizar métodos similares para identificar regiones variables de cadena pesada alternativas para uso en combinación con las regiones variables de cadena ligera de la invención. En ciertas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo comprende toda o una porción de una región constante de cadena pesada, tal como una región constante de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgE, IgM o

IgD. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada de IgG1 o una porción de la misma. Además, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo puede comprender toda o una porción de una región constante de cadena ligera kappa o una región constante de cadena ligera lambda, o una porción de la misma. Todas o parte de dichas regiones constantes pueden producirse naturalmente o pueden ser sintéticas total o parcialmente. Las secuencias adecuadas para dichas regiones constantes se conocen y están documentadas en la técnica. Cuando se incluye un complemento completo de regiones constantes de las cadenas pesada y ligera en los anticuerpos de la invención, dichos anticuerpos se denominan típicamente anticuerpos de "longitud completa" o anticuerpos "enteros".

"Fragmento funcional" es una porción de un anticuerpo (fragmento parcial) y tiene una o más de las acciones del anticuerpo con el antígeno. En otras palabras, se refiere a un fragmento que conserva la capacidad de unión a antígeno, la reactividad con el antígeno o la capacidad de reconocimiento del antígeno. Los ejemplos incluyen Fv, Fv estabilizado con disulfuro (dsFv), Fv de cadena simple (scFv) y polímeros de estos y similares. Dichos de forma más específica, los ejemplos incluyen péptidos que contienen Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, diacuerpo, dsFv y CDR (D. J. King.,

Applications and Engineering of Monoclonal Antibodies., 1998
T. J. International Ltd).

Los anticuerpos de la presente invención también incluyen
derivados de anticuerpo, tales como aquellos derivados en los
5 que se unen químicamente o a través de manipulación genética
radioisótopos, fármacos de bajo peso molecular, fármacos
macromoleculares, proteínas y similares con el anticuerpo
contra FGF23 de la presente invención o fragmentos
funcionales del anticuerpo. Los derivados del anticuerpo de
10 la presente invención pueden producirse uniendo
radioisótopos, fármacos de bajo peso molecular, fármacos
macromoleculares, proteínas y similares con el lado amino
terminal o el lado carboxi terminal de la cadena H (cadena
pesada) o la cadena L (cadena ligera) del anticuerpo contra
15 FGF23 de la presente invención o el fragmento funcional del
anticuerpo, con un grupo o cadena lateral sustituido de forma
adecuada en el anticuerpo o fragmento funcional del
anticuerpo, y también, con una cadena de azúcar en el
anticuerpo o fragmento funcional del anticuerpo y similares
20 mediante métodos químicos (Koutai Kogaku Nyuumon, Osamu
Kanamitsu, Chijin Shokan, 1994) y similares. Además, el
derivado del anticuerpo unido con la proteína se produce al
ligar el ADN que codifica el anticuerpo contra FGF23 de la
presente invención y el fragmento funcional del anticuerpo y

el ADN que codifica la proteína a la que se va a unir, insertar este ADN en un vector de expresión e introducir y expresar el vector de expresión en una célula huésped adecuada.

5 En la presente invención, "anticuerpo humano" se define como un anticuerpo que es un producto de expresión de un gen de anticuerpo derivado de humanos. Un anticuerpo humano, tal como se describirá más adelante, puede obtenerse introduciendo el locus del gen de anticuerpo humano y
10 administrando el antígeno a animales transgénicos que tienen la capacidad de producir un anticuerpo humano. Los ejemplos de estos animales transgénicos incluyen ratones. El método de creación de ratones que pueden producir un anticuerpo humano se describe, por ejemplo, en la Publicación Internacional
15 Número WO 2002/43478.

Una "variante" de un polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos donde uno o más residuos de aminoácidos se insertan, suprimen y/o sustituyen en la secuencia de aminoácidos con respecto a otra secuencia polipeptídica. Las
20 variantes incluyen proteínas de fusión.

Un "derivado" de un polipéptido es un polipéptido que ha sido modificado químicamente de alguna forma distinta de inserción, supresión o variantes de sustitución, por ejemplo, a través de conjugación con otro resto químico.

La expresión “de origen natural” tal como se usa en la memoria descriptiva en conexión con materiales biológicos tales como polipéptidos, ácidos nucleicos, células huésped y similares, se refiere a materiales que se encuentran en la naturaleza.

El término “identidad” se refiere a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas polipeptídicas o dos o más moléculas de ácido nucleico, tal como se determina alineando y comparando las secuencias. “Identidad porcentual” significa el porcentaje de residuos idénticos entre los aminoácidos o nucleótidos en las moléculas comparadas y se calcula en función del tamaño de la más pequeña de las moléculas que se está comparando. Para estos cálculos, los espacios en las alineaciones (si los hay) deben abordarse mediante un modelo matemático específico o programa informático (es decir, un “algoritmo”). Los métodos que pueden utilizarse para calcular la identidad de los ácidos nucleicos o polipéptidos alineados incluyen aquellos descritos en *Computational Molecular Biology*, (Lesk, A. M., ed.), (1988) Nueva York: Oxford University Press; *Biocomputing Informatics and Genome Projects*, (Smith, D. W., ed.), 1993, Nueva York: Academic Press; *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, Nueva Jersey: Humana Press; von Heinje, G., (1987) *Sequence Analysis in Molecular*

Biology, Nueva York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, Nueva York: M. Stockton Press; y Carillo et al., (1988) *SIAM I Applied Math.* 48:1073.

- 5 Al calcular la identidad porcentual, las secuencias que se comparan se alinean de una forma que proporciona la mayor coincidencia entre las secuencias. El programa informático utilizado para determinar la identidad porcentual puede ser, por ejemplo, el paquete de programas GCG, que incluye GAP
- 10 (Devereux et al., (1984) *Nucl. Acid Res.* 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.). El algoritmo informático GAP se utiliza para alinear los dos polipéptidos o polinucleótidos para los cuales se determinará la identidad secuencial porcentual. Las secuencias se alinean
- 15 para obtener una coincidencia óptima de sus respectivos aminoácidos o nucleótidos (el "rango de coincidencias", tal como se determina mediante el algoritmo). Se utilizan una penalización de abertura de espacio (que se calcula como $3 \times$ la diagonal promedio, donde la "diagonal promedio" es el
- 20 promedio de la diagonal de la matriz de comparación que se está utilizando; la "diagonal" es el puntaje o cantidad asignada a cada coincidencia de aminoácidos perfecta por la matriz de comparación específica) y una penalización de extensión de espacio (que generalmente es $1/10$ veces la

penalización de abertura de espacio), así como una matriz de comparación tal como PAM 250 o BLOSUM 62, conjuntamente con el algoritmo. En ciertas realizaciones, el algoritmo también utiliza una matriz de comparación estándar (véase, Dayhoff et al., (1978) *Atlas of Protein Sequence and Structure* 5:345-352 para la matriz de comparación PAM 250; Henikoff et al., (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:10915-10919 para la matriz de comparación de BLOSUM 62).

Los parámetros recomendados para determinar la identidad porcentual para secuencias de polipéptidos o nucleótidos utilizando el programa GAP son los siguientes:

Algoritmo: Needleman et al., 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443-453;

Matriz de comparación: BLOSUM 62 de Henikoff et al., 1992, supra;

Penalización por espacio: 12 (pero sin penalización para espacios terminales)

Penalización por longitud de espacio: 4

Umbral de similitud: 0

Ciertos esquemas de alineación para alinear dos secuencias de aminoácidos pueden resultar en la coincidencia de solo una región corta de las dos secuencias, y esta pequeña región alineada puede tener una identidad secuencial muy alta aunque no hay relación significativa entre las dos secuencias de longitud completa. Por consiguiente, el método de alineación

seleccionado (por ejemplo, el programa GAP) puede ajustarse si se desea un resultado en una alineación que abarca al menos al menos 50 aminoácidos contiguos del polipéptido objetivo.

5 Los términos "tratar" y "tratamiento" tales como se usan en la presente se refieren a un abordaje para obtener resultados beneficiosos o deseados incluidos resultados clínicos, y puede incluir incluso cambios o mejoras mínimos en uno o más marcadores medibles de la enfermedad o afección que se está
10 tratando. Un tratamiento es generalmente efectivo para reducir al menos un síntoma de una afección, enfermedad, trastorno, lesión o daño. Los marcadores ejemplares de mejora clínica serán evidentes para los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen, a modo no taxativo, uno o más de los
15 siguientes: disminuir la gravedad y/o frecuencia de uno o más síntomas que resultan de la enfermedad, disminuir el alcance de la enfermedad, estabilizar la enfermedad (por ejemplo, prevenir o retardar el empeoramiento de la enfermedad), retardar o demorar la evolución de la enfermedad, mejorar el
20 estado de la enfermedad, disminuir la dosis de uno o más medicamentos distintos necesarios para tratar la enfermedad y/o aumentar la calidad de vida, etc.

"Profilaxis," "tratamiento profiláctico" o "tratamiento preventivo" se refieren a prevenir o reducir la aparición o

gravedad de uno o más síntomas y/o su causa subyacente, por ejemplo, prevención de una enfermedad o afección en un sujeto susceptible de desarrollar una enfermedad o afección (por ejemplo, con mayor riesgo, como resultado de una predisposición genética, factores medioambientales, predisposición a enfermedades o trastornos, o similares).

El término "trastorno" o "enfermedad" utilizados de forma intercambiable en la presente, se refiere a cualquier alteración en el estado del cuerpo o en uno de sus órganos y/o tejidos, que interrumpe o altera el desempeño de una función orgánica y/o función tisular (por ejemplo, provoca disfunción orgánica) y/o provoca un síntoma tal como incomodidad, disfunción, insuficiencia o incluso la muerte a un sujeto afectado por la enfermedad.

"Farmacéuticamente aceptable" significa un material que no es biológicamente o de otra forma indeseable, es decir, el material puede incorporarse a una composición farmacéutica administrada a un paciente sin provocar ningún efecto biológico indeseable significativo ni interactuar de forma nociva con cualquier otro componente de la composición en la que está contenido. Cuando se utiliza la frase "farmacéuticamente aceptable" para hacer referencia a un portador o excipiente farmacéutico, significa que el portador o excipiente ha cumplido con las normas necesarias de

evaluación toxicológica y de fabricación o que está incluido en la Guía de Ingredientes Inactivos preparada por la Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos.

La expresión "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad de uno o más compuestos que proporcionan un resultado de tratamiento deseado. Una cantidad efectiva puede estar comprendida en una o más dosis, es decir, puede ser necesaria una única dosis o múltiples dosis para lograr el efecto final de tratamiento deseado.

La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" tal como se usa en la presente, se refiere al nivel o cantidad de uno o más agentes necesarios para tratar una afección, o reducir o prevenir una lesión o daño, opcionalmente sin causar efectos secundarios negativos o adversos significativos.

Una "cantidad efectiva profiláctica" se refiere a una cantidad de un agente suficiente para prevenir o reducir la gravedad de una futura enfermedad o afección cuando se administra a un sujeto que es susceptible y/o que puede desarrollar una enfermedad o afección.

De acuerdo con los métodos de la presente invención, el término "sujeto" y las variantes del mismo tales como se usan en la presente, incluyen cualquier sujeto que padece, se sospecha que padece o está en riesgo de padecer una enfermedad o afección. Los sujetos adecuados (o pacientes)

incluyen mamíferos, tales como animales de laboratorio (por ejemplo, ratón, rata, conejo, cobaya), animales de granja y animales domésticos o mascotas (por ejemplo, gato, perro). Se incluyen primates no humanos y preferiblemente, pacientes humanos. Un sujeto "en riesgo" puede o no padecer una enfermedad detectable, y puede o no haber exhibido una enfermedad detectable antes de los métodos de diagnóstico o tratamiento descritos en la presente. "En riesgo" denota que un sujeto presente uno o más de los denominados factores de riesgo, que son parámetros medibles que se correlacionan con el desarrollo de una afección descrita en la presente, que se describen en la presente. Un sujeto que presenta una o más de estos factores de riesgo tiene una probabilidad más alta de desarrollar una afección descrita en la presente que un sujeto sin estos factores de riesgo. Un ejemplo de dicho factor de riesgo es un aumento o disminución en un biomarcador de la presente invención en comparación con una muestra clínicamente normal.

En ciertas realizaciones, cuando se miden parámetros u otros indicadores de tratamiento, una cantidad o nivel "aumentado" o "reducido" puede incluir una cantidad "estadísticamente significativa". Un resultado típicamente se denomina estadísticamente significativo si es improbable que se haya producido por casualidad. El nivel de significación de una

prueba o resultado se refiere tradicionalmente a la cantidad de evidencia necesaria para aceptar que es improbable que un evento se haya producido por casualidad. En ciertos casos, la significación estadística puede definirse como la probabilidad de tomar una decisión para rechazar la hipótesis nula cuando la hipótesis nula es en realidad verdadera (una decisión conocida como un error Tipo I, o “determinación falso positiva”). Esta decisión a menudo se toma utilizando el valor p : si el valor p es menor que un nivel de significación, entonces la hipótesis nula se rechaza. Cuanto más pequeño es el valor p , más significativo es el resultado. También se pueden utilizar los factores de Bayes para determinar la significación estadística (véase, *por ejemplo*, Goodman S., *Ann Intern Med.* 130:1005-13, 1999). En algunas realizaciones, una cantidad o nivel “aumentado” o “reducido” es aproximadamente 1,1 veces, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces o 50 veces mayor o menor que la cantidad de un punto de tiempo determinado con respecto a una punto de tiempo previo o anterior relativo.

El sujeto humano tratado con una composición de la presente invención puede exhibir una respuesta completa o una

respuesta parcial. Respuesta completa (CR, por sus siglas en inglés), tal como se usa en la presente, a menos que se indique de otra forma, se refiere a la desaparición de todos los síntomas medibles y no medibles y la no aparición de nuevos síntomas en un paciente en tratamiento. Respuesta parcial (PR, por sus siglas en inglés), tal como se usa en la presente, a menos que se indique de otra forma, se refiere a que al menos un síntoma medibles y no medible se reduce considerablemente, y la no aparición de nuevos síntomas en un paciente en tratamiento.

El “fosfato” se distribuye en el tejido blando del cuerpo en forma inorgánica o en forma orgánica. Los fosfatos no óseos comprenden menos del 20% del contenido total del cuerpo. El resto está almacenado en la matriz ósea. Por lo tanto, el esqueleto es el principal reservorio de fosfato. El rango normal de fósforo sérico en adultos es de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,5 mg/dL, y en niños es mayor y varía con la edad, por ejemplo, el rango normal de fósforo sérico en niños de 5 a 12 años es de aproximadamente 2,9 a aproximadamente 5,7 mg/dL (Greenberg et al., The normal range of serum inorganic phosphorus and its utility as a discriminant in the diagnosis of congenital hypophosphatemia. J Clin Endocrinol Metab 1960;20:364-379; Burritt et al., Pediatric reference intervals for 19 biologic variables in

healthy children. Mayo Clin Proc 1990;65:329-336, incorporados por referencia en su totalidad). Cuando el fosfato sérico disminuye, se reabsorbe a partir de los huesos a través de la actividad de PTH (siglas en inglés para paratirina) y la vitamina D. El riñón es el principal órgano que regula la homeostasis del fosfato. El fosfato filtrado se reabsorbe en el riñón y se transporta a través de las células tubulares proximales renales con la ayuda de NaPi-2A y NaPi-2C.

10 La "paratirina" (PTH) es un regulador de la concentración de calcio en suero y la concentración de fosfato en suero. La hipocalcemia estimula la producción de PTH, que puede aumentar la expresión de la 25(OH) vitamina D 1- α -Hidroxilasa proximal tubular, una enzima que sintetiza la forma activa de
15 la vitamina D, 1,25(OH)₂ vitamina D. La 1,25(OH)₂ vitamina D aumenta la reabsorción de calcio en el túbulo contorneado distal renal. La liberación de calcio de los huesos hacia el fluido extracelular también se estimula mediante la PTH a través de la resorción ósea osteoclástica aumentada. La
20 1,25(OH)₂ vitamina D aumenta la absorción de calcio y fosfato intestinal, y aumenta la movilización de fosfato desde los huesos al aumentar la actividad osteoclástica. La producción de PTH y de vitamina D está influenciada por el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) 23 en bucles de

retroalimentación negativos.

El "FGF23" es un regulador endócrino de la homeostasis del fósforo y se identificó originalmente como el gen mutado en pacientes con el trastorno de desperdicio de fósforo

5 "raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante" (ADHR) (Anonymous., "Autosomal Dominant Hypophosphataemic Rickets is Associated with Mutations in FGF23," Nat Genet 26(3):345-348 (2000)). El FGF23 inhibe la reabsorción del fósforo en el

10 túbulo proximal renal disminuyendo la abundancia de los transportadores de fósforo dependientes de sodio tipo II NaPi-2A y NaPi-2C en la membrana de borde ciliado apical (Baum et al., "Effect of Fibroblast Growth Factor-23 on Phosphate Transport in Proximal Tubules," Kidney Int 68(3):1148-1153 (2005); Perwad et al., "Fibroblast Growth

15 Factor 23 Impairs Phosphorus and Vitamin D Metabolism In Vivo and Suppresses 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase Expression In Vitro," Am J Physiol Renal Physiol 293(5):F1577-1583 (2007); Larsson et al., "Transgenic mice expressing fibroblast growth factor 23 under the control of

20 the alpha1(I) collagen promoter exhibit growth retardation, osteomalacia, and disturbed phosphate homeostasis," Endocrinology 145(7):3087-3094 (2004)). La actividad fosfatúrica de FGF23 se reduce mediante la escisión proteolítica en el motivo 176RXXR179 (SEQ ID NO: 11), donde

"XX" se define como "HT", que corresponde a las posiciones 177 y 178, respectivamente, de la secuencia de aminoácidos de FGF23, que produce un fragmento inactivo en el extremo N (Y25 a R179) y un fragmento en el extremo C (S180 a I251) (Goetz et al., "Molecular Insights into the Klotho-dependent, Endocrine Mode of Action of Fibroblast Growth Factor 19 Subfamily Members," *Mol Cell Biol* 27(9):3417-3428 (2007)). El receptor de FGF (FGFR) 1 es el mediador principal de la acción fosfatúrica de FGF23 (Liu et al., "FGFR3 and FGFR4 do not Mediate Renal Effects of FGF23," *J Am Soc Nephrol* 19(12):2342-2350 (2008)); Gattineni et al., "FGF23 Decreases Renal NaPi-2a and NaPi-2c Expression and Induces Hypophosphatemia in vivo Predominantly via FGF Receptor 1," *Am J Physiol* 297(2):F282-F291 (2009)). Además, Klotho, una proteína descrita primero como un supresor de envejecimiento (Kuro-o et al., "Mutation of the Mouse Klotho Gene Leads to a Syndrome Resembling Aging," *Nature* 390(6655):45-51 (1997)), se necesita como correceptor por FGF23 en su tejido objetivo a efectos de ejercer su actividad fosfatúrica (Kurosu et al., "Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho," *J Biol Chem* 281(10):6120-6123 (2006)); Urakawa et al., "Klotho Converts Canonical FGF Receptor into a Specific Receptor for FGF23," *Nature* 444(7120):770-774 (2006); y Goetz R, et al. (Isolated C-terminal tail of FGF23 alleviates

hypophosphatemia by inhibiting FGF23-FGFR-Klotho complex formation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009.). La Klotho se une constitutivamente con los FGFR específicos de FGF23, y los complejos FGFR-Klotho binarios exhiben afinidad de unión

5 potenciada para FGF23 ((Kurosu et al., "Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho," J Biol Chem 281(10):6120-6123 (2006); Urakawa et al., "Klotho Converts Canonical FGF Receptor into a Specific Receptor for FGF23," Nature 444(7120):770-774 (2006)). En estudios de

10 coinmunoprecipitación, se demostró que la forma madura, de longitud completa de FGF23 (Y25 a I251) pero no el fragmento inactivo en el extremo N de la escisión proteolítica (Y25 a R179) se une a los complejos FGFR-Klotho binarios (Goetz et al., "Molecular Insights into the Klotho-dependent, Endocrine

15 Mode of Action of Fibroblast Growth Factor 19 Subfamily Members," Mol Cell Biol 27(9):3417-3428 (2007)). Los altos niveles de señalización de FGF23 in vitro se producen cuando KL y FGFR1c se coexpresan, y esta actividad puede bloquearse mediante anticuerpos anti-FGF23 que interrumpen las

20 asociaciones FGFR-FGF23-KL (Urakawa I, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. Nature 2006;444:770-774; Aono Y, et al. Therapeutic Effects of Anti-FGF23 Antibodies in Hypophosphatemic Rickets/Osteomalacia. J Bone Miner Res. 2009).

El FGF23 tiene la función de reducir la reabsorción de fosfato en el túbulo proximal, al reducir la expresión de la vitamina D1- α -hidroxilasa renal y aumentar la expresión de la 25(OH)D-24-hidroxilasa catabólica, disminuyendo así las concentraciones de 1,25(OH) $_2$ D en circulación. La sobreexpresión de FGF23 in vivo conduce a hipofosfatemia, raquitismo/osteomalacia, de forma similar a pacientes con ADHR, hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH) y osteomalacia inducida por tumor (TIO) (Larsson T, et al. Transgenic mice expressing fibroblast growth factor 23 under the control of the α 1(I) collagen promoter exhibit growth retardation, osteomalacia, and disturbed phosphate homeostasis. *Endocrinology* 2004;145:3087-3094; Shimada T, et al. FGF-23 transgenic mice demonstrate hypophosphatemic rickets with reduced expression of sodium phosphate cotransporter type IIa. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:409-414.). Por otro lado, la 1,25(OH) $_2$ D stimula la actividad promotora de FGF23 in vitro y la producción in vivo (Kolek OI, et al. 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D3 upregulates FGF23 gene expression in bone: the final link in a renal-gastrointestinal-skeletal axis that controls phosphate transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;289:G1036-G1042; Liu S, et al. Novel regulators of Fgf23 expression and mineralization in Hyp bone. *Mol Endocrinol*

2009;23:1505–1508; Shimada T, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429–435), lo cual sugiere que existe un proceso de retroalimentación negativa entre el riñón y los
5 huesos.

La proteína “Klotho” es una proteína transmembrana de 130 kDa de paso simple expresada predominantemente en el riñón (Matsumura et al., “Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho
10 protein,” *Biochem Biophys Res Commun* 242(3):626-630 (1998), que se incorpora por la presente por referencia en su totalidad). Además de la isoforma unida a la membrana de Klotho, el empalme alternativo y la escisión proteolítica dan lugar a dos isoformas solubles de Klotho que se encuentran en
15 la circulación (Imura et al., “Secreted Klotho protein in sera and CSF: implication for post-translational cleavage in release of Klotho protein from cell membrane,” *FEBS Lett* 565(1-3):143-147 (2004); Kurosu et al., “Suppression of aging in mice by the hormone Klotho,” *Science* 309(5742):1829-1833
20 (2005); Matsumura et al., “Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho protein,” *Biochem Biophys Res Commun* 242(3):626-630 (1998); Shiraki-Iida et al., “Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted

protein," *FEBS Lett* 424(1-2):6-10 (1998), que se incorporan por la presente por referencia en su totalidad). Las observaciones sugieren que el gen de Klotho funciona como un gen supresor del envejecimiento.

5 El FGFR1, la variante 1 del transcripto es un miembro de la familia de receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) que está altamente conservado entre los miembros y a lo largo de la evolución. Un proteína representativa de longitud completa consta de una región
10 extracelular, compuesta por tres dominios similares a inmunoglobulina, un segmento de expansión de membrana hidrófobo simple y un dominio de tirosina cinasa citoplasmático. La porción extracelular de la proteína interactúa con los factores de crecimiento de fibroblastos,
15 poniendo en movimiento una cascada de señales posteriores, que finalmente influyen en la mitogénesis y diferenciación. Este miembro de la familia específico se une con los factores de crecimiento de fibroblastos ácidos y básicos y participa en la inducción de las extremidades. Las mutaciones en este
20 gen se han asociado con el síndrome de Pfeiffer, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome de Antley-Bixler, displasia osteoglofónica y síndrome de Kallmann autosómico dominante. Véase Itoh et al., "The Complete Amino Acid Sequence of the Shorter Form of Human Basic Fibroblast Growth Factor Receptor

Deduced from its cDNA," *Biochem Biophys Res Commun* 169(2): 680-685 (1990); Dode et al., "Kallmann Syndrome: Fibroblast Growth Factor Signaling Insufficiency?" *J Mol Med* 82(11):725-34 (2004); Coumoul et al., "Roles of FGF Receptors in Mammalian Development and Congenital Diseases," *Birth Defects Res C Embryo Today* 69(4):286-304 (2003), que se incorporan por la presente por referencia en su totalidad. Alternativamente, se han descrito variantes empalmadas que codifican diferente isoformas proteicas; sin embargo, no todas las variantes han sido caracterizadas completamente.

El "FGF23 humano" tiene la secuencia de SEQ ID NO: 12, y el FGF23 de ratón tiene la secuencia de SEQ ID NO: 13. El FGF23 se desactiva a través de proteólisis intracelular en el sitio de la proproteína convertasa (SPC) similar a subtilisina R176HTR179/S180 (SEQ ID NO: 14). Algunos mutantes de FGF23, tales como R176Q, R179Q y R179W, destruyen este sitio y estabilizan la forma activa de longitud completa de la proteína, que conduce a los síntomas de ADHR. La Klotho humana tiene la secuencia de SEQ ID NO: 15.

En los mamíferos, los FGF median su activación a través de un conjunto de cuatro receptores de FGF, FGFR1-4, que a su vez son expresados en múltiples variantes empalmadas, por ejemplo, FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c y FGFR4. Cada receptor de FGF contiene un dominio intracelular de tirosina cinasa que se

activa tras la unión con el ligando, lo cual conduce a vías de señalización posteriores en las que participan MAPKs (Erk1/2), RAF1, AKT1 y STATs. (Kharitononkov et al., (2008) *BioDrugs* 22:37-44). Varios informes sugieren que las

5 variantes de empalme de reportero "c" de FGFR1-3 exhiben afinidad específica para β -Klotho y podrían actuar como receptor endógeno para FGF21 (Kurosu et al., (2007) *J. Biol. Chem.* 282:26687-26695); Ogawa et al., (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:7432-7437); Kharitononkov et al., (2008)

10 *J. Cell Physiol.* 215:1-7). En el hígado, donde se expresan de forma abundante β -Klotho y FGFR4, el FGF21 no induce la fosforilación de MAPK no obstante la fuerte unión de FGF21 con el complejo β -Klotho-FGFR4. En las células 3T3-L1 y el tejido adiposo blanco, el FGFR1 es por lejos el receptor más

15 abundante, y, por lo tanto, es más probable que los principales receptores funcionales de FGF21 en este tejido sean los complejos β -Klotho-FGFR1c. El empalme alternativo del gen de FGFR produce múltiples isoformas de FGFR.

La "hiperfosfatemia" es un trastorno electrolítico en el que

20 hay un nivel anormalmente elevado de fosfato en la sangre. A menudo, los niveles de calcio se reducen (hipocalcemia) debido a la precipitación de fosfato con el calcio en los tejidos. Los niveles de fósforo promedio deberían estar entre aproximadamente 0,81 mmol/L a aproximadamente 1,45 mmol/L.

Los signos y síntomas incluyen, a modo no taxativo, calcificación ectópoica, hiperparatiroidismo secundario y osteodistrofia renal. La hiperfosfatemia puede ser provocada por la excreción renal alterada del fosfato y/o por cargas masivas de fosfato fluido extracelular. La excreción renal del fosfato alterada puede deberse a hipoparatiroidismo (por ejemplo, del desarrollo, autoinmunitario, después de cirugía o radiación, o mutaciones activadas del receptor sensible a calcio), supresión paratiroidea (por ejemplo, hipercalcemia independiente de paratiroide, intoxicación con vitamina D o vitamina A, sarcoidosis, otras enfermedades granulomatosas, inmovilización, metástasis osteolítica, síndrome de leche y alcalinos o hipermagnesemia o hipomagnesemia grave), pseudohiporatiroidismo, acromegalia, calcinosis tumoral o terapia con heparina. Las cargas masivas de fosfato fluido extracelular pueden deberse a la administración rápida de fosfato exógeno, lesión o necrosis celular extensa (por ejemplo, lesiones por aplastamiento, radbomiolisis, hipertermia, hepatitis fulminante, terapia citotóxica o anemia hemolítica grave) o cambios en el fosfato transcelular.

En cambio, la hipofosfatemia se refiere a una concentración de fosfato en suero por debajo del rango normal de 2,2 a 4,9 mg/dl (Dwyer et al., "Severe hypophosphatemia in

postoperative patients," *Nutr Clin Pract* 7(6):279-283 (1992); Alon et al., "Calcimimetics as an adjuvant treatment for familial hypophosphatemic rickets," *Clin J Am Soc Nephrol* 3(3):658-664 (2008), que se incorporan por la presente por
5 referencia en su totalidad).

La hipofosfatemia puede deberse a pérdida de fosfato renal (tal como, raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante (ADHR), hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH), raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo (ARHR),
10 displasia fibrosa (FD), síndrome McCune-Albright complicado por displasia fibrosa (MAS/FD), condrodisplasia metafisaria tipo Jansen (Jansen's Syndrome), enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD), osteomalacia inducida por tumor (TIO) y acidosis metabólica crónica),
15 otros trastornos de pérdida de fosfato renal heredados o adquiridos, cetoacidosis alcohólica y diabética, asma aguda, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), tratamiento de EPOC con fármacos, septicemia, recuperación tras trasplante de órgano (en particular, riñón), administración
20 de hierro parenteral, intoxicación por salicilato, traumatismo grave, tratamiento crónico con sucralfato y/o antiácidos, ventilación mecánica, trastorno de la alimentación (tal como, anorexia nerviosa y bulimia nerviosa) o síndrome de realimentación.

“Pérdida de fosfato renal” se refiere a una afección heredada o adquirida en la que está alterada la reabsorción tubular renal del fosfato. Se produce en aproximadamente 50% de los pacientes con síndrome McCune-Albright (MAS) y displasia fibrosa ósea (FD). Se informó que los niveles séricos de FGF23 aumentaron en pacientes con FD/MAS en comparación con testigos normales de la misma edad y estaban significativamente más altos en pacientes con FD/MAS y con pérdida de fosfato renal en comparación con aquellos sin, y correlacionados con marcadores de recambio óseo de carga de enfermedad usados comúnmente para evaluar la actividad de la enfermedad (Riminucci et al., FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting, *J. Clin. Invest.* 112:683-692 (2003)).

15

Métodos

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan métodos para utilizar ligandos anti-FGF23, especialmente métodos para determinar el régimen de dosificación de los ligandos anti-FGF23, en función de uno o más parámetros PD de los ligandos anti-FGF23 en sujetos que reciben tratamientos. En algunas realizaciones, se utilizan uno o más ligandos anti-FGF23 para el tratamiento de afecciones asociadas con FGF23, por ejemplo, un nivel de FGF23 más alto que el normal. Por

ejemplo, en algunas realizaciones, los ligandos anti-FGF23 se utilizan para tratar el raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante/osteomalacia (ADHR), hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH), raquitismo hipofosfatémico autosómico 5 recesivo (ARHR), displasia fibrosa (FD), síndrome McCune-Albright complicado por displasia fibrosa (MAS/FD), condrodisplasia metafisaria tipo Jansen (síndrome de Jansen), enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD), osteomalacia inducida por tumor (TIO), acidosis metabólica 10 crónica y calcificación ectópica.

En algunas realizaciones destinadas, los ligandos anti-FGF23 se utilizan para tratar trastornos o afecciones asociadas con hipofosfatemia o pérdida de fosfato renal.

De acuerdo con la presente invención, los ligandos anti-FGF23 15 pueden incluir cualquier ingrediente o agente activo que puede modular, por ejemplo, reducir la actividad de FGF23 y/o uno o más componentes en la vía de señalización de FGF23 reduciendo así la actividad de FGF23. En algunas realizaciones el agente activo es una molécula pequeña. En 20 algunas realizaciones, el agente activo es un polipéptido, tal como un anticuerpo. En algunas realizaciones, el agente activo es un polinucleótido, tal como ARNip. Tal como se usa en la presente, el término actividad se refiere a la actividad de un objetivo dado a nivel de ADN genómico, a

nivel transcripcional, a nivel postranscripcional, a nivel translacional, a nivel postranslacional, incluido a modo no taxativo, la cantidad de copias génicas, la tasa de transcripción de ARNm, la abundancia de ARNm, la estabilidad de ARNm, tasa de traducción de proteína, estabilidad de proteína, modificación de proteína, actividad de proteína, actividad de complejo proteico, etc.

En algunas realizaciones, el agente activo modula la actividad de FGF23. En algunas realizaciones, el agente activo modula la cantidad de copias génicas de un componente en la vía de señalización de FGF23. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir la cantidad copias génicas en 0,5 veces, 1,0 vez, 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 100 veces, 1000 veces, 10000 veces o más en comparación con la cantidad de copias génicas antes del tratamiento.

En algunas realizaciones, el agente activo modula la abundancia de ARNm de un componente en la vía de señalización de FGF23. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir la abundancia de ARNm en 0,5 veces, 1,0 vez, 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 100 veces, 1000 veces, 10000 veces o más en comparación con la abundancia de ARNm

antes del tratamiento.

En algunas realizaciones, el agente activo modula el nivel de proteína de un componente en la vía de señalización de FGF23. En algunas realizaciones, el agente activo puede
5 aumentar o disminuir el nivel de proteína en 0,5 veces, 1,0 vez, 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 100 veces, 1000 veces, 10000 veces o más en comparación con el nivel de proteína antes del tratamiento.

10 En algunas realizaciones, el agente activo modula la actividad o estabilidad del ARNm y/o proteína de un componente en la vía de señalización de FGF23. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir la actividad o estabilidad en comparación con la estabilidad
15 antes del tratamiento.

En algunas realizaciones, el agente activo modula la actividad enzimática de un componente en la vía de señalización de FGF23. En algunas realizaciones, el agente activo puede aumentar o disminuir la actividad enzimática en
20 comparación con la estabilidad antes del tratamiento.

La actividad de un componente de la vía de señalización de FGF23 puede determinarse mediante métodos adecuados conocidos por los expertos en la técnica. En algunas realizaciones, se toma una muestra biológica de un sujeto y se analiza. En

algunas realizaciones, la muestra biológica a continuación se evalúa para determinar la actividad de un componente en la vía de señalización de FGF23, tal como la cantidad de amplificación génica, ARN, ARNm, ADNc, ARNc, proteína, etc.

- 5 En algunas realizaciones, el ARNm de una muestra biológica se utiliza directamente para determinar el nivel de actividad. En algunas realizaciones, el nivel se determina mediante hibridación. En algunas realizaciones, el ARN se transforma en una copia de ADNc (ADN complementario) utilizando métodos
- 10 conocidos en la técnica. En algunas realizaciones específicas, el ADNc se etiqueta con una etiqueta fluorescente u otra etiqueta detectable. El ADNc a continuación se hibrida con un sustrato que contiene una pluralidad de sondas de interés. Una sonda de interés
- 15 típicamente se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con al menos una secuencia de ADN de un gen distintivo. En ciertas realizaciones, la pluralidad de sondas es capaz de hibridar con las secuencias derivadas de los biomarcadores génicos en condiciones de hibridación. En
- 20 algunas realizaciones, las condiciones comprenden utilizar 6×SSC (0,9 M de NaCl, 0,09 M de citrato de sodio, pH 7,4) a 65° C. Las sondas pueden comprender ácidos nucleicos. El término "ácido nucleico" abarca análogos nucleotídicos conocidos o residuos o ligaduras de esqueleto modificados,

que son sintéticos, de origen natural y de origen no natural, que tienen propiedades de unión similares a las del ácido nucleico de referencia, y que se metabolizan de forma similar a la de los nucleótidos de referencia. Los ejemplos de dichos
5 análogos incluyen, a modo no taxativo, fosforotioatos, fosforamidatos, metilfosfonatos, quirales-metilfosfonatos, ácidos nucleicos peptídicos (PNA, por sus siglas en inglés). Los métodos para detectar pueden incluir, a modo no taxativo, RT-PCR, análisis de transferencia northern, análisis de
10 expresión génica, análisis de micromatrices, análisis de chip de expresión génica, técnicas de hibridación (incluida FISH), matrices de expresión beadchip y cromatografía así como cualquiera otra técnica conocida en la técnica. Los métodos para detectar el ADN pueden incluir, a modo no taxativo, PCR,
15 PCR en tiempo real, PCR digital, hibridación (incluida FISH), análisis de micromatrices, análisis de detección de SNP, ensayos de genotificación de SNP y cromatografía así como cualquier otra técnica conocida en la técnica.

En algunas realizaciones, se utiliza el nivel de expresión
20 proteica para determinar el nivel de actividad. El nivel de expresión proteica un componente de la vía de señalización de FGF23 puede determinarse mediante métodos adecuados conocidos por los expertos en la técnica. Se puede utilizar cualquier método para detección, cuantificación y comparación de

proteínas, tales como aquellos descritos en Tschesche (Methods in Protein Biochemistry, ISBN Walter de Gruyter, 2011, ISBN 3110252368, 9783110252361), Goluch et al. (Chip-based detection of protein cancer markers, ProQuest, 2007, ISBN 0549463453, 9780549463450), Speicher (Proteome Analysis: Interpreting the Genome, Elsevier, 2004, ISBN 0080515304, 9780080515304), Albala et al. (Protein Arrays, Biochips and Proteomics, CRC Press, 2003, ISBN 0203911121, 9780203911129), Walker (The Protein Protocols Handbook, Springer, 2002, ISBN 0896039404, 9780896039407), Fung (Protein Arrays: Methods and Protocols, Springer, 2004, ISBN 1592597599, 9781592597598) y Bienvenut (Acceleration and Improvement of Protein Identification by Mass Spectrometry, Springer, 2005, ISBN 1402033184, 9781402033186), incorporándose cada uno por referencia en su totalidad a todos los efectos. En algunas realizaciones, el nivel de expresión proteica de los biomarcadores se detecta y mide mediante inmunohistoquímica (IHC, por sus siglas en inglés), transferencia western, inmunotinción de proteína, inmunoprecipitación de proteína, inmunoelectroforesis, inmunotransferencia, ensayo BCA, espectrofotometría, espectrometría de masas o ensayo enzimático o combinaciones de los mismos. Para ver métodos adicionales de detección, cuantificación y comparación de niveles de biomarcadores véase, por ejemplo, Current

Protocols in Molecular Biology, Ed. Ausubel, Frederick M. (2010); Current Protocols in Protein Science Last, Ed. Coligan, John E., et al. (2010); Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, Ed. Egli, Martin (2010); Current Protocols in
5 Bioinformatics, Ed. Baxevanis, Andreas D. (2010); and Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition, Sambrook, Joseph (2001), incorporándose todos a la presente por referencia en su totalidad.

En algunas realizaciones, se puede utilizar un anticuerpo
10 dirigido a un componente de la vía de señalización de FGF23 como agente activo. En algunas realizaciones, se puede utilizar un anticuerpo dirigido a un componente de la vía de señalización de FGF23 que controlan positivamente a FGF23, o un anticuerpo dirigido a un componente de la vía de
15 señalización de FGF23 que es controlado positivamente por FGF23 como agente activo.

En algunas realizaciones, el agente activo puede reducir directamente la actividad de FGF23 en un sujeto humano. En algunas realizaciones, el agente activo puede modular la
20 actividad de uno o más componentes posteriores o anteriores en la vía de señalización reduciendo así la actividad de FGF23 en un sujeto humano indirectamente. En algunas realizaciones, el agente activo puede reducir la actividad de uno o más componentes anteriores que regulan positivamente a

FGF23, o aumentar la actividad de uno o más componentes anteriores en la vía de señalización que regulan negativamente a FGF23. En algunas realizaciones, el agente activo puede reducir la actividad de uno o más componentes
5 posteriores que son regulados positivamente o FGF23, o aumentar la actividad de uno o más componentes posteriores en la vía de señalización que son regulados negativamente por FGF23.

Sin ánimo de ceñirnos a ninguna teoría específica, los
10 agentes de la presente invención pueden actuar a través de uno o más mecanismos. Dichos mecanismos incluyen, a modo no taxativo: (1) inhibición de la actividad de FGF23; (2) inhibición de la actividad del complejo FGF23-Klotho-receptor de FGF; (3) aumento de la reabsorción de fosfato en el túbulo
15 proximal; (4) aumento de la actividad de la vitamina D1- α -hidroxilasa renal; (5) reducción de la actividad de 25(OH)D-24-hidroxilasa catabólica; y/o (6) aumento de las concentraciones de 1,25(OH) $_2$ D.

Los agentes activos pueden ser compuestos o composiciones
20 químicos, moléculas biológicas o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, los agentes activos son moléculas pequeñas. Tal como se usa en la presente, la expresión “molécula pequeña” se refiere a una molécula que tiene un peso molecular menor que 500 MW, donde el fármaco es un

agente no peptidilo o peptídico. En algunas realizaciones, los agentes activos son anticuerpos. En algunas realizaciones, los agentes activos son anticuerpos. En algunas realizaciones, los agentes activos son polinucleótidos, tales como ARNip.

En algunas realizaciones, los agentes activos contienen uno o más anticuerpos que pueden reducir, inhibir o retardar la actividad de un componente en la vía de señalización de FGF23 que regula positivamente a FGF23 o es regulado positivamente por FGF23. En algunas realizaciones, el componente puede ser un miembro de un complejo FGF23-Klotho-receptor de FGF. En algunas realizaciones, el componente es FGF23. En algunas realizaciones, el agente es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo descrito en la presente. En algunas realizaciones, un ligando anti-FGF23 es un agente activo que comprende una o más CDR anti-FGF23, tales como aquellos de SEQ ID NOs. 1-6.

En algunas realizaciones, el agente activo es un anticuerpo contra FGF23 humano o un fragmento funcional del mismo, que comprende una región variable de cadena pesada que tiene cualquiera de la región de determinación de complementariedad (CDR) 1 que muestra la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, CDR2 que muestra la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y CDR3 que muestra la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 3, o una región variable de cadena pesada que tiene al menos dos o todas de las tres CDR de cadena pesada.

En algunas realizaciones, el anticuerpo contra FGF23 humano o un fragmento funcional del mismo comprende una región variable de cadena ligera que tiene cualquiera de CDR1 que muestra la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, CDR2 que muestra la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y CDR3 que muestra la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, o una región variable de cadena ligera que tiene al menos dos o todas de las tres CDR de cadena ligera.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de FGF23 contiene CDR con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 y/o 6. En algunas realizaciones, el anticuerpo de FGF23 comprende la región variable de cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 16 y la región variable de cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 17. En algunas realizaciones, el anticuerpo de FGF23 es KRN23 que tiene la cadena pesada de SEQ ID NO: 7 y la cadena ligera de SEQ ID NO: 8. En algunas realizaciones, el anticuerpo de FGF23 es C10 que tiene la cadena pesada de SEQ ID NO: 9 y la cadena ligera de SEQ ID NO: 10.

La secuencia CDR del anticuerpo de la presente invención no está limitado específicamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo que

comprende cualquier una o más CDR, más preferiblemente tres CDR de la cadena pesada, e incluso más preferiblemente seis CDR de las secuencias CDR representadas por SEQ ID NOs: 1 a 6 La secuencia de aminoácidos distinta de la CDR no está
5 específicamente limitada. En algunas realizaciones distintas, los anticuerpos anti-FGF23 incluyen los denominados anticuerpos de trasplante de CDR, donde la secuencia de aminoácidos distinta de CDR deriva de otros anticuerpos, y particularmente anticuerpos en otras especies. Entre estos,
10 se prefiere un anticuerpo humanizado o anticuerpo humano, donde la secuencia de aminoácidos distinta de CDR deriva de un humano. Se puede introducir una adición, supresión y/o inserción de 1 residuo de aminoácidos o más en el FR según la necesidad. Se puede aplicar un método conocido públicamente
15 como método para producir un anticuerpo humanizado o anticuerpo humano.

En algunas realizaciones, el anticuerpo contra FGF23 es cualquiera de los descritos en las Patentes estadounidenses Nos.: 7314618, 7223563, 7745406, 7947810, 7223563, 7745406 o
20 7947810 o en las Publicaciones de Solicitud de Patente estadounidenses Nos. 20120064544 o 20110182913, incorporándose cada una por referencia en su totalidad a todos los efectos.

En algunas realizaciones, los agentes activos son ARNip. Por

ejemplo, se pueden utilizar tecnologías de ARN no codificante, ribozima, ARN_{bci}, interferencia por ARN (iARN) en la presente invención para dirigirse a transcritos de ARN de una o más componentes en la vía de señalización de FGF23.

5 La tecnología de ARN no codificante implica expresar en, o introducir en, una célula una molécula de ARN (o derivado de ARN) que es complementaria, o no codificante, para secuencias encontradas en un ARNm específico en una célula. Al asociarse con el ARNm, el ARN no codificante puede inhibir la
10 traducción del producto génico codificado.

La interferencia por ARN (iARN) es el proceso de silenciamiento génico postranscripcional o silenciamiento génico transcripcional específico de secuencia en animales y plantas, iniciado por ARN bicatenario (ARN_{bc}) que es homólogo
15 en secuencia al gen silenciado. La técnica de iARN se trata, por ejemplo, en Elbashir, et al., *Methods Enzymol.* 26:199 (2002); McManus & Sharp, *Nature Rev. Genetics* 3:737 (2002); Solicitud PCT WO 01/75164; Martinez et al., *Cell* 110:563 (2002); Elbashir et al., *supra*; Lagos-Quintana et al., *Curr.*
20 *Biol.* 12:735 (2002); Tuschl et al., *Nature Biotechnol.* 20:446 (2002); Tuschl, *Chembiochem.* 2:239 (2001); Harborth et al., *J. Cell Sci.* 114:4557 (2001); et al., *EMBO J.* 20:6877 (2001); Lagos-Quintana et al., *Science* 294:8538 (2001); Hutvagner et al., *loc cit*, 834; Elbashir et al., *Nature* 411:494 (2001).

El término "ARNbc" o "molécula de ARNbc" o "ARN bicatenario" se refiere a una molécula de ácido ribonucleico al menos parcialmente bicatenaria que contiene una región de al menos aproximadamente 19 o más nucleótidos que están en una conformación bicatenaria. La molécula efectora de ARN bicatenario puede ser un ARN bicatenario doble formado a partir de dos cadenas de ARN separadas o puede ser una cadena de ARN simple con regiones de autocomplementariedad capaz de asumir una conformación de horquilla al menos parcialmente bicatenaria (es decir, un ARNbc horquillado o ARNbc en tallo y bucle). En varias realizaciones, el ARNbc consta enteramente de ribonucleótidos o consta de una mezcla de ribonucleótidos y desoxinucleótidos, tales como híbridos de ARN/ADN. El ARNbc puede ser una molécula simple con regiones de autocomplementariedad de forma que los nucleótidos en un segmento de la molécula se aparee con nucleótidos en otro segmento de la molécula. En un aspecto, las regiones de autocomplementariedad están conectadas mediante una región de al menos aproximadamente 3-4 nucleótidos, o aproximadamente 5, 6, 7, 9 a 15 nucleótidos o más, que carece de complementariedad con otra parte de la molécula y, por consiguiente, permanece monocatenaria (es decir, la "región bucle"). Dicha molécula asumirá una estructura en tallo y bucle parcialmente bicatenaria, opcionalmente, con extremos

5' y/o 3' monocatenarios cortos. En un aspecto, las regiones de autocomplementariedad del ARNbc en horquilla o la región bicatenaria de un ARNbc doble comprenderá una Secuencia Efectora y un Complemento Efector (por ejemplo, conectados mediante un región de bucle monocatenario en un ARNbc en horquilla). La Secuencia Efectora o Cadena Efectora es dicha cadena de la región bicatenaria o doble que se incorpora o asocia con RISC. En un aspecto, la molécula efectora de ARN bicatenario comprenderá una secuencia efectora de al menos 19 nucleótidos contiguos, preferiblemente 19 a 29, 19 a 27, o 19 a 21 nucleótidos, que es in complemento inverso para el ARN de un gen objetivo, o un intermediario de replicación de cadena opuesta o las secuencias de cadena positiva antígenómica o cadena positiva no ARNm del gen objetivo.

En algunas realizaciones, la molécula efectora de ARNbc de la invención es un "ARNbc horquillado", una "horquilla de ARNbc", "ARN horquillado corto" o "ARNhc", es decir, una molécula de ARN de menos de aproximadamente 400 a 500 nucleótidos (nt), o menos de 100 a 200 nt, en los que al menos una extensión de al menos 15 a 100 nucleótidos (por ejemplo, 17 a 50 nt, 19 a 29 nt) está apareada con una secuencia complementaria ubicada en la misma molécula de ARN (cadena de ARN simple), y donde dicha secuencia y secuencia complementaria están separadas por una región no apareada de

al menos aproximadamente 4 a 7 nucleótidos (o aproximadamente 9 a aproximadamente 15 nt, aproximadamente 15 a aproximadamente 100 nt, aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 nt) que forma un bucle monocatenario encima de la estructura de tallo creada por las dos regiones de complementariedad de base. Las moléculas de ARN_{hc} comprenden al menos una estructura en tallo y bucle que comprende una región en tallo bicatenaria de aproximadamente 17 a aproximadamente 100 bp; aproximadamente 17 a aproximadamente 50 bp; aproximadamente 40 a aproximadamente 100 bp; aproximadamente 18 a aproximadamente 40 bp; o de aproximadamente 19 a aproximadamente 29 bp; homóloga y complementaria a una secuencia objetivo que será inhibida; y una región en bucle sin aparear de al menos aproximadamente 4 a 7 nucleótidos, o aproximadamente 9 a aproximadamente 15 nucleótidos, aproximadamente 15 a aproximadamente 100 nt, aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 nt, que forma un bucle monocatenario encima de la estructura en tallo creada por las dos regiones de complementariedad de base. Sin embargo, se reconocerá que no es estrictamente necesario incluir una "región en bucle" o "secuencia en bucle" porque una molécula de ARN que comprende una secuencia seguida inmediatamente por su complemento inverso tenderá a asumir una conformación en tallo y bucle incluso cuando no está

separada por una secuencia "de relleno" irrelevante.

En otras realizaciones, los ligandos anti-FGF23 utilizados en la presente invención se pueden proporcionarse en composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los
5 agentes activos utilizados en la presente invención y un vehículo, tal como una vesícula de membrana artificial (incluido un liposoma, micela lipídica y similares), micropartícula o microcápsula.

Las composiciones previstas para uso oral pueden prepararse
10 en forma de dosificación unitarias sólidas o fluidas. La forma de dosificación unitaria fluida puede prepararse de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados
15 del grupo que consta de agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes a efectos de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Un elixir se prepara utilizando un vehículo hidroalcohólico (por ejemplo, etanol) con
20 edulcorantes adecuados tales como azúcar y sacarina, junto con un agente saborizante aromático. Se pueden preparar suspensiones con un vehículo acuoso con la ayuda de un agente de suspensión tal como acacia, tragacanto, metilcelulosa y similares.

Dichas formulaciones tales como comprimidos contiene el ingrediente activo en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes puede ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio: agentes de granulación y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico: agentes de aglutinamiento, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco y otros ingredientes convencionales tales como fosfato de dicalcio, silicato de magnesio y aluminio, sulfato de calcio, almidón, lactosa, metilcelulosa y materiales funcionalmente similares. Los comprimidos pueden estar no recubiertos o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retardar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo del tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina duras donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como

cápsulas de gelatina blandas donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio aceitoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva. Las cápsulas de gelatina blandas se preparan mediante encapsulación en
5 máquina de una suspensión del compuesto con un aceite vegetal aceptable, petrolato líquido ligero u otro aceite inerte.

Las suspensiones acuosas contienen materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de
10 suspensión, por ejemplo, carboxilmetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia: agentes dispersantes o humectantes que pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo, lecitina, o productos de
15 condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, hepta-decaetilenooxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres
20 parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de sorbitol polioxietilenado, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán polietilenado. Las

suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, bezoato de etilo o n-propil-p-hidroxí, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes o uno o más agentes edulcorantes, tales como

5 sacarosa o sacarina.

Las suspensiones aceitosas pueden formularse suspendiendo los ingredientes activos en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de maní, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las

10 suspensiones aceitosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes edulcorantes tales como aquellos indicados anteriormente, y los agentes saborizantes pueden agregarse para proporcionar preparaciones orales sabrosas.

15 Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente de

20 dispersión o humectación, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes de dispersión o humectación adecuados y los agentes de suspensión son ejemplificados por aquellos mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes

edulcorantes, saborizantes y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite
5 de oliva o aceite de maní, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo, goma acacia o goma tragacanto, fosfatidos de origen natural, por ejemplo, soja, lecitina y ésteres o ésteres
10 parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, anhídridos, por ejemplo, monooleato de sorbitán y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de sorbitán polioxietilenado. Las emulsiones también puede contener
15 agentes edulcorantes y saborizantes.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida utilizados aquellos agentes de dispersión o
20 humectación adecuados y los agentes de suspensión que se mencionaron anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-

butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como disolvente o
5 medio de suspensión. A estos efectos, cualquier aceite fijo suave puede emplearse, incluidos mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico se utilizan en la preparación de inyectables. También se pueden incluir adyuvantes tales como anestésicos locales,
10 conservantes y agentes amortiguadores en la solución o suspensión inyectable.

En algunas realizaciones, los sistemas de administración adecuados incluyen sistemas de administración de liberación lenta, liberación retardada, liberación sostenida o
15 liberación controlada. En algunas realizaciones, una composición de la presente invención puede administrarse en un sistema de liberación controlada, tal como matrices de liberación sostenida. Los ejemplos no taxativos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por
20 ejemplo, poli(2-hidroxietil-metacrilato) tal como se describe en Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res., 15:167-277 y Langer, 1982, Chem. Tech., 12:98-105), o poli(vinilalcohol)], poliláctidos (Patente estadounidense No. 3.773.919; EP 58,481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma etil-L-

glutamato (Sidman et al., 1983, Biopolymers, 22:547-556), acetato de etileno-vinilo no degradable (Langer et al., supra), copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables tales como LUPRON DEPOT™ (microesferas
5 inyectables compuestas por copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprólido) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxi-
butírico (EP 133.988). En algunas realizaciones, la composición puede administrarse utilizando infusión
intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche
10 transdérmico, liposomas u otros modos de administración. En una realización, se puede utilizar una bomba (véase Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989). En otra realización, se pueden
15 utilizar materiales poliméricos. En otra realización adicional, se puede colocar un sistema de liberación controlada próximo al objetivo terapéutico, por ejemplo, el hígado, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, in Medical
20 Applications of Controlled Release, supra, tomo 2, pp.115-138 (1984). Otros sistemas de liberación controlada se describen en el informe de Langer (Science 249:1527-1533 (1990). En algunas realizaciones, la composición puede administrarse a través de inyección subcutánea.

En algunas realizaciones, la liberación de la composición se produce en ráfagas. Los ejemplos de sistemas en los que la liberación se produce en ráfagas incluyen, por ejemplo, sistemas en los que la composición está atrapada en liposomas que se encapsulan en una matriz polimérica, siendo los liposomas sensibles a estímulos específicos, por ejemplo, temperatura, pH, luz o una enzima de degradación y sistemas en los que la composición se encapsula mediante una microcápsula recubierta iónicamente con una enzima de degradación en el núcleo de la microcápsula.

En algunas realizaciones, la liberación de la composición es gradual/continua. Los ejemplos de sistemas en los que la liberación del inhibidor es gradual y continua incluyen, por ejemplo, sistemas erosionales en los que la composición está contenida en una forma dentro de una matriz y sistemas efusionales en los que la composición se libera a una tasa controlada, por ejemplo, a través de un polímero. Dichos sistemas de liberación sostenida pueden ser, por ejemplo, en forma de gránulos o cápsulas.

Otras realizaciones de las composiciones administradas de acuerdo con la invención incorporan formas particuladas, recubrimientos protectores, inhibidores de proteasa o potenciadores de permeación para diversas rutas de administración, tales como parenteral, pulmonar, nasal y

oral.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden utilizarse solas o en combinación con otras composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse, juntas o separadas, en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura normal pero líquido a temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao y polietilenglicoles. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse a un sujeto junto con la adición de una composición farmacéutica adecuada para tratar trastornos adecuados con un estado anormal de fósforo, señalización de FGF23 o osificación.

Otras composiciones farmacéuticas y métodos para preparar composiciones farmacéuticas se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en *"Remington: The Science and Practice of Pharmacy"* (anteriormente *"Remingtons Pharmaceutical Sciences"*); Gennaro, A., Lippincott, Williams & Wilkins, Filadelfia, Pa. (2000).

En algunas realizaciones, la administración de una

composición de la presente invención puede llevarse a cabo oralmente, parenteralmente, subcutáneamente, intravenosamente, intramuscularmente, intraperitonealmente, mediante instilación intranasal, mediante implante, mediante
5 instilación intracavitario o intravesical, intraocularmente, intraarterialmente, intralesionalmente, transdérmicamente, o mediante aplicación sobre las membranas mucosas. El inhibidor puede administrarse con un portador farmacéuticamente aceptable.

10 La dosificación que se administrará no está sujeta a límites definidos, pero generalmente será una cantidad efectiva. En general, será equivalente, sobre la base molar de la forma libre farmacológicamente activa producida a partir de una formulación de dosificación tras la liberación metabólica del
15 fármaco libre activo para alcanzar sus efectos farmacológicos y fisiológicos deseados. La composiciones puede formularse en una forma de dosificación unitaria. La expresión "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades diferenciadas físicamente adecuadas como dosificaciones unitarias para
20 sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

De acuerdo con la presente invención, el régimen de

dosificación del ligando anti-FGF23 puede determinarse en función de uno o más parámetros PD del ligando anti-FGF23. En algunas realizaciones, el régimen de dosificación de un ligando anti-FGF23 incluye, a modo no taxativo, la cantidad
5 por dosis, la frecuencia de dosificación, por ejemplo, por día, semana o mes, cantidad total por ciclo de dosificación, intervalo de dosificación, variación de dosificación, patrón o modificación por ciclo de dosificación, dosificación máxima acumulada o dosificación de calentamiento o cualquier
10 combinación de estos. En algunas realizaciones distintas, el régimen de dosificación de un ligando anti-FGF23 incluye frecuencia de dosificación, por ejemplo, por mes.

En algunas realizaciones adicionales distintas, el régimen de dosificación incluye una cantidad predeterminada o fija por
15 dosis en combinación con una frecuencia de dicha dosis. Por ejemplo, el régimen de dosificación de un anticuerpo anti-FGF23 incluye una cantidad fija de anticuerpo anti-FGF23 por dosis en combinación con la frecuencia de dicha dosis de anticuerpo que se está administrando a un sujeto. En algunas
20 realizaciones, la cantidad fija de anticuerpo anti-FGF23 por dosis incluyen, sin ninguna limitación, aproximadamente 0,001 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,002 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,003 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,004 mg/kg de peso corporal, aproximadamente

0,005 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,006 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,007 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,008 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,009 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,02 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,03 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,04 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,05 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,06 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,07 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,08 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,09 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,2 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,3 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,4 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,6 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,8 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,9 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 2 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 6 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 7 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 8 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 9 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10

mg/kg de peso corporal, aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 35 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 45 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 70 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 90 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 400 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal o más.

En algunas realizaciones diferentes, la cantidad fija de anticuerpo anti-FGF23 por dosis incluye, sin ninguna limitación, aproximadamente 0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg o 1,0 mg/kg o 2,0 mg/kg, por ejemplo, administrados SC.

De acuerdo con la presente invención, el régimen de dosificación del ligando anti-FGF23 puede determinarse en función de uno o más parámetros PD del ligando anti-FGF23. En algunas realizaciones, el régimen de dosificación de un ligando anti-FGF23 se determina en función de uno o más parámetros PD del ligando anti-FGF23 en una población de

sujetos tratados con el ligando anti-FGF23. En algunas realizaciones distintas, el tamaño de la población incluyen al menos 20, 30, 40, 50 o más sujetos. En algunas realizaciones distintas, el tamaño de la población proporciona significación estadística para el análisis de uno o más parámetros PD. En algunas realizaciones, el régimen de dosificación de un ligando anti-FGF23 se determina en función de uno o más parámetros PD del ligando anti-FGF23 en el único sujeto tratado con el ligando anti-FGF23. Por ejemplo, se pueden medir uno o más parámetros PD en un sujeto tratado con un ligando anti-FGF23 durante un período de tiempo, a continuación se puede modificar el régimen de dosificación del sujeto en función de los parámetros PD del sujeto medidos. En otras palabras, se pueden utilizar uno o más parámetros PD para “personalizar” el régimen de dosificación de un sujeto en tratamiento con un ligando anti-FGF23.

En otras realizaciones distintas, el régimen de dosificación de un ligando anti-FGF23 se determina en función de un nivel o actividad predeterminado de uno o más parámetros PD. Por ejemplo, dicho nivel o actividad predeterminado puede obtenerse tratando a una población de pacientes con un ligando anti-FGF23 y determinando el nivel o actividad deseado o estándar para uno o más parámetros PD.

En general, la farmacodinamia (PD) es el estudio de los

efectos bioquímicos y fisiológicos de fármacos en el cuerpo o en microorganismos o parásitos dentro o sobre el cuerpo y los mecanismos de acción del fármacos y la relación entre la concentración del fármaco y el efecto. La farmacodinamia a menudo se resume como el estudio de qué le hace un fármaco al cuerpo. El efecto de un agente activo de la presente invención puede determinarse monitoreando los cambios en uno o más parámetros PD asociados con el tratamiento, a fin de poder determinar un régimen de dosificación efectivo del agente activo. En algunas realizaciones, el régimen de dosificación se determina sin incluir uno o más parámetros PK o sin tener en cuenta uno o más parámetros PK. En otras realizaciones distintas, el régimen de dosificación se modifica incluso aunque uno o más parámetros PK indiquen que el régimen de dosificación ya es suficiente o adecuado.

Los parámetros PD que pueden utilizarse en la presente invención a efectos de determinar el régimen de dosificación de un agente activo de la presente invención, incluyen, a modo no taxativo, fósforo sérico, TmP/GFR (tasa de reabsorción máxima tubular renal de fosfato con respecto a tasa de filtración glomerular), TmP/GFR máxima, 1,25-dihidroxi vitamina D en suero y 25-hidroxi vitamina D en suero. En algunas realizaciones, el fósforo sérico incluye AUC de fósforo sérico, por ejemplo, $AUC_{último}$, AUC_{inf} o AUC_n

dentro de un intervalo de dosis o concentración máxima y residual de fósforo sérico.

En algunas realizaciones, el régimen de dosificación de un agente activo de la presente invención se determina en función de uno o más parámetros PD para proporcionar un agente de unión suficiente para cualquier cambio en los niveles de FGF23 durante una terapia con ligando anti-FGF23 crónica. En algunas realizaciones distintas, el régimen de dosificación de un agente activo de la presente invención se determina en función de uno o más parámetros PD para proporcionar un nivel o actividad de FGF23 dentro de al menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90% o 95%, 98%, 100%, 105%, 110%, 115% o 120% del nivel o actividad normal de FGF23, por ejemplo, de un adulto o niño. En algunas realizaciones distintas, el régimen de dosificación de un agente activo de la presente invención se determina en función de uno o más parámetros PD para mantener un nivel o actividad constante de FGF23, por ejemplo, que no se desvíe del nivel o actividad normal de FGF23 más de 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20% o 30% del nivel o actividad normal de FGF23.

En algunas realizaciones, el régimen de dosificación se determina en función de uno o más parámetros PD para lograr una normalización o estabilización de uno o más parámetros PD. En algunas realizaciones, se determina el régimen de

dosificación para mantener uno o más parámetros PD tan por encima del nivel inicial como sea posible, el mayor tiempo posible y/o tan estable como sea posible, sin dar lugar a problemas de toxicidad. Por ejemplo, se determina el régimen

5 de dosificación para mantener el fósforo sérico a un nivel estable por encima del nivel inicial, por ejemplo, con variabilidad mínimo o aceptable. En algunas realizaciones adicionales, se determina el régimen de dosificación para mantener uno o más parámetros PD alrededor de un nivel

10 predeterminado, por ejemplo, un nivel estándar predeterminado. Por ejemplo, en una realización, se determina el régimen de dosificación para mantener al fósforo sérico en un nivel estándar predeterminado, por ejemplo, un aumento estable de aproximadamente 0,5 a 1,5 mg/dL por encima del

15 valor inicial. En otra realización, se determina el régimen de dosificación para mantener el fósforo sérico a un nivel estándar predeterminado, por ejemplo, un aumento estable de aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1,

20 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 o 3 mg/dL por encima del valor inicial.

En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para proporcionar un efecto sostenido sobre un transportador NaPi, por ejemplo, sin una disminución de la

actividad del transportador NaPi durante un ciclo de dosificación. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para proporcionar un nivel o actividad constante del transportador NaPi, por ejemplo, un nivel o actividad del transportador NaPi que no se desvíe del nivel o actividad normal del transportador NaPi más de, por ejemplo, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20% o 30% del nivel o actividad normal del transportador NaPi. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para proporcionar un aumento en la remodelación ósea.

Tal como se usa en la presente, cuando el nivel de un parámetro PD va hacia el nivel de un nivel estándar predeterminado, se denomina normalización. Tal como se usa en la presente, cuando el nivel de un parámetro PD reduce su variación del nivel de un nivel estándar predeterminado, se denomina estabilización.

Tal como se usa en la presente, la expresión “nivel estándar predeterminado” se refiere a niveles obtenidos de datos o un conjunto de datos estandarizado que representa las características o rasgos promedio representativos de uno o más parámetros PD que proporcionan un régimen de dosificación efectivo para una terapia con ligando anti-FGF23 específica en una población de sujetos específica. Dichas

características o rasgos incluyen, a modo no taxativo, abundancia de transcrito, estabilidad de transcrito, tas de transcripción, tasa de traducción, modificación postraducción, abundancia de proteína, estabilidad de proteína y/o actividad enzimática de proteína, etc. En algunas realizaciones, la población de sujetos específica consta de aproximadamente 5, aproximadamente 10, aproximadamente 20, aproximadamente 50, aproximadamente 100, aproximadamente 200, aproximadamente 300, aproximadamente 400, aproximadamente 500, aproximadamente 1000, aproximadamente 5000, aproximadamente 10K o más sujetos individuales. El perfil de actividad predeterminado puede ser un conjunto de datos estandarizados o un conjunto de datos recogidos antes, durante o después de que la población de sujetos específica ha sido expuesta en su totalidad a un fármaco. En algunas realizaciones, la población específica consta de sujetos bajo un régimen de dosificación efectivo de un ligando anti-FGF23.

En algunas realizaciones, el parámetro PD es fósforo sérico. En algunas realizaciones, el régimen de dosificación se determina en función del Área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) del fósforo sérico. En algunas realizaciones, el AUC es $AUC_{\text{último}}$, AUC_{inf} o AUC_n . En algunas realizaciones, el parámetro PD es el AUC del fósforo sérico

dentro de un intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, el parámetro PD es la concentración máxima y residual de fósforo sérico. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para mantener el nivel

5 de fósforo sérico durante el tratamiento cuando está próximo o por encima de una nivel de fósforo sérico predeterminado. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para proporcionar un aumento adecuado, estable de fósforo en el paciente durante un ciclo de dosificación

10 cuando se compara con el nivel inicial en el paciente. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para mantener un nivel de fósforo sérico relativamente estable por encima del nivel inicial del paciente. Por ejemplo, en algunas realizaciones, es probable

15 que un aumento estable del fósforo sérico de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 mg/dL sea suficiente.

En algunas realizaciones, cuando el paciente es un adulto, el nivel de fósforo sérico inicial es de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,5 mg/dL. En algunas realizaciones, cuando

20 el paciente es un niño de 5 a 12 años, el nivel de fósforo sérico inicial es de aproximadamente 2,9 a aproximadamente 5,7 mg/dL. En algunas realizaciones, cuando el paciente es un adulto, el nivel de fósforo sérico predeterminado es aproximadamente 0,5 mg a 1,5 mg/dL más alto que el inicial,

por ejemplo, de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 4,5 mg/dL. En algunas realizaciones, cuando el paciente es un niño de 5 a 12 años, el nivel de fósforo sérico predeterminado es aproximadamente 0,5 mg a 1,5 mg/dL más alto que el inicial, de aproximadamente 2,9 a aproximadamente 5,7 mg/dL. En algunas realizaciones, dependiendo de la edad del paciente, el nivel de fósforo sérico predeterminado es

	aproximadamente	2,5	mg/dL,	aproximadamente	2,6	mg/dL,
	aproximadamente	2,7	mg/dL,	aproximadamente	2,8	mg/dL,
10	aproximadamente	2,9	mg/dL,	aproximadamente	3,0	mg/dL,
	aproximadamente	3,1	mg/dL,	aproximadamente	3,2	mg/dL,
	aproximadamente	3,3	mg/dL,	aproximadamente	3,4	mg/dL,
	aproximadamente	3,5	mg/dL,	aproximadamente	3,6	mg/dL,
	aproximadamente	3,7	mg/dL,	aproximadamente	3,8	mg/dL,
15	aproximadamente	3,9	mg/dL,	aproximadamente	4,0	mg/dL,
	aproximadamente	4,1	mg/dL,	aproximadamente	4,2	mg/dL,
	aproximadamente	4,3	mg/dL,	aproximadamente	4,4	mg/dL,
	aproximadamente	4,5	mg/dL,	aproximadamente	4,6	mg/dL,
	aproximadamente	4,7	mg/dL,	aproximadamente	4,8	mg/dL,
20	aproximadamente	4,9	mg/dL,	aproximadamente	5,0	mg/dL,
	aproximadamente	5,1	mg/dL,	aproximadamente	5,2	mg/dL,
	aproximadamente	5,3	mg/dL,	aproximadamente	5,4	mg/dL,
	aproximadamente	5,5	mg/dL,	aproximadamente	5,6	mg/dL,
	aproximadamente	5,7	mg/dL,	aproximadamente	5,8	mg/dL,

aproximadamente 5,9 mg/dL, aproximadamente 6,0 mg/dL,
 aproximadamente 6,1 mg/dL, aproximadamente 6,2 mg/dL,
 aproximadamente 6,3 mg/dL, aproximadamente 6,4 mg/dL,
 aproximadamente 6,5 mg/dL, aproximadamente 6,6 mg/dL,
 5 aproximadamente 6,7 mg/dL, aproximadamente 6,8 mg/dL,
 aproximadamente 6,9 mg/dL, aproximadamente 7,0 mg/dL,
 aproximadamente 7,1 mg/dL, aproximadamente 7,2 mg/dL,
 aproximadamente 7,3 mg/dL, aproximadamente 7,4 mg/dL,
 aproximadamente 7,5 mg/dL, aproximadamente 7,6 mg/dL,
 10 aproximadamente 7,7 mg/dL, aproximadamente 7,8 mg/dL,
 aproximadamente 7,9 mg/dL o más. En algunas realizaciones
 distintas, el régimen de dosificación de un agente activo de
 la presente invención se determina en función de uno o más
 parámetros PD para proporcionar un nivel de fósforo sérico
 15 dentro de al menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90% o 95%, 98%, 100%,
 105%, 110%, 115%, 120% o más del nivel o actividad normal de
 fósforo sérico, por ejemplo, de un adulto o niño. En algunas
 realizaciones distintas, el régimen de dosificación de un
 agente activo de la presente invención se determina en
 20 función de uno o más parámetros PD para mantener un nivel o
 actividad constante de fósforo sérico, por ejemplo, que no se
 desvíe del nivel o actividad normal de fósforo sérico más de
 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 30% o más del
 nivel o actividad normal de fósforo sérico.

En algunas realizaciones, el parámetro PD es Tmp/GFR (la relación entre la tasa máxima de reabsorción tubular renal de fosfato y la tasa de filtración glomerular, véase Barth et al., Ann Clin Biochem 2000; 37: 79-81). En algunas

5 realizaciones, el parámetro PD es la concentración máxima y residual de Tmp/GFR. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para mantener una Tmp/GFR durante el tratamiento cuando está próxima o por encima de una Tmp/GFR predeterminada. En algunas realizaciones, se

10 determina el régimen de dosificación para proporcionar un aumento adecuado de Tmp/GFR en el paciente durante un ciclo de dosificación cuando se compara con el nivel inicial en el paciente. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para mantener una Tmp/GFR relativamente

15 estable por encima del nivel inicial del paciente. En algunas realizaciones, la Tmp/GFR predeterminada es aproximadamente 2,0, aproximadamente 2,1, aproximadamente 2,2, aproximadamente 2,3, aproximadamente 2,4, aproximadamente 2,5, aproximadamente 2,6, aproximadamente 2,7,

20 aproximadamente 2,8, aproximadamente 2,9, aproximadamente 3,0, aproximadamente 3,1, aproximadamente 3,2, aproximadamente 3,3, aproximadamente 3,4, aproximadamente 3,5, aproximadamente 3,6, aproximadamente 3,7, aproximadamente 3,8, aproximadamente 3,9, aproximadamente

4,0, aproximadamente 4,1, aproximadamente 4,2, aproximadamente 4,3, aproximadamente 4,4, aproximadamente 4,5, aproximadamente 4,6, aproximadamente 4,7, aproximadamente 4,8, aproximadamente 4,9 o más.

- 5 En algunas realizaciones, el parámetro PD es 1,25-dihidroxi vitamina D en suero. En algunas realizaciones, el parámetro PD es la concentración máxima y residual de 1,25-dihidroxi vitamina D en suero. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación con el objetivo de mantener a una
- 10 1,25-dihidroxi vitamina D en suero durante el tratamiento que está próxima, similar o por encima de una 1,25-dihidroxi vitamina D en suero predeterminada. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para proporcionar un aumento adecuado de 1,25-dihidroxi vitamina D en suero en el
- 15 paciente durante un ciclo de dosificación cuando se compara con el nivel inicial en el paciente. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para mantener un nivel de 1,25-dihidroxi vitamina D en suero relativamente estable por encima del nivel inicial del
- 20 paciente. En algunas realizaciones, la 1,25-dihidroxi vitamina D en suero predeterminada es aproximadamente 40 pg/ML, aproximadamente 45 pg/ML, aproximadamente 50 pg/ML, aproximadamente 55 pg/ML, aproximadamente 60 pg/ML, aproximadamente 65 pg/ML, aproximadamente 70 pg/ML,

	aproximadamente	75	pg/ML,	aproximadamente	80	pg/ML,
	aproximadamente	85	pg/ML,	aproximadamente	90	pg/ML,
	aproximadamente	95	pg/ML,	aproximadamente	100	pg/ML,
	aproximadamente	105	pg/ML,	aproximadamente	110	pg/ML,
5	aproximadamente	115	pg/ML,	aproximadamente	120	pg/ML,
	aproximadamente	125	pg/ML,	aproximadamente	130	pg/ML,
	aproximadamente	135	pg/ML,	aproximadamente	140	pg/ML,
	aproximadamente	145	pg/ML,	aproximadamente	150	pg/ML,
	aproximadamente	155	pg/ML,	aproximadamente	160	pg/ML,
10	aproximadamente	165	pg/ML,	aproximadamente	170	pg/ML,
	aproximadamente	175	pg/ML,	aproximadamente	180	pg/ML,
	aproximadamente	185	pg/ML,	aproximadamente	190	pg/ML,
	aproximadamente 195 pg/ML, aproximadamente 200 pg/ML o más.					

En algunas realizaciones, el parámetro PD es 25-hidroxi
15 vitamina D en suero. En algunas realizaciones, el parámetro
PD es la concentración máxima y residual de 25-hidroxi
vitamina D en suero. En algunas realizaciones, se determina
el régimen de dosificación con el objetivo de mantener una
25-hidroxi vitamina D en suero durante el tratamiento que
20 está próxima, similar o por encima de una 25-hidroxi vitamina
D en suero predeterminada. En algunas realizaciones, se
determina el régimen de dosificación para proporcionar un
aumento adecuado de 25-hidroxi vitamina D en suero en el
paciente durante un ciclo de dosificación cuando se compara

con el nivel inicial en el paciente. En algunas realizaciones, se determina el régimen de dosificación para mantener un nivel de 25-hidroxi vitamina D en suero relativamente estable por encima del nivel inicial del

5 paciente. En algunas realizaciones, la 25-hidroxi vitamina D en suero es aproximadamente 25 nmol/L, aproximadamente 26 nmol/L, aproximadamente 27 nmol/L, aproximadamente 28 nmol/L, aproximadamente 29 nmol/L, aproximadamente 30 nmol/L, aproximadamente 31 nmol/L, aproximadamente 32 nmol/L,

10 aproximadamente 33 nmol/L, aproximadamente 34 nmol/L, aproximadamente 35 nmol/L, aproximadamente 36 nmol/L, aproximadamente 37 nmol/L, aproximadamente 38 nmol/L, aproximadamente 39 nmol/L, aproximadamente 40 nmol/L, aproximadamente 41 nmol/L, aproximadamente 42 nmol/L,

15 aproximadamente 43 nmol/L, aproximadamente 44 nmol/L, aproximadamente 45 nmol/L, aproximadamente 46 nmol/L, aproximadamente 47 nmol/L, aproximadamente 48 nmol/L, aproximadamente 49 nmol/L, aproximadamente 50 nmol/L, aproximadamente 51 nmol/L, aproximadamente 42 nmol/L,

20 aproximadamente 53 nmol/L, aproximadamente 54 nmol/L, aproximadamente 55 nmol/L, aproximadamente 56 nmol/L, aproximadamente 57 nmol/L, aproximadamente 58 nmol/L, aproximadamente 59 nmol/L, aproximadamente 60 nmol/L, aproximadamente 61 nmol/L, aproximadamente 62 nmol/L,

aproximadamente 63 nmol/L, aproximadamente 64 nmol/L,
aproximadamente 65 nmol/L, aproximadamente 66 nmol/L,
aproximadamente 67 nmol/L, aproximadamente 68 nmol/L,
aproximadamente 69 nmol/L, aproximadamente 70 nmol/L,
5 aproximadamente 71 nmol/L, aproximadamente 72 nmol/L,
aproximadamente 73 nmol/L, aproximadamente 74 nmol/L,
aproximadamente 45 nmol/L, aproximadamente 76 nmol/L,
aproximadamente 77 nmol/L, aproximadamente 78 nmol/L,
aproximadamente 79 nmol/L, aproximadamente 80 nmol/L o más.

10 En algunas realizaciones, el régimen de dosificación
comprende administrar un ligando anti-FGF23 con mayor
frecuencia que en un régimen de dosificación determinado en
función de uno o más parámetros PK. En algunas realizaciones,
el régimen de dosificación comprende administrar un ligando
15 anti-FGF23, por ejemplo, un anticuerpo anti-FGF23 con mayor
frecuencia que un régimen de dosificación mensual. Por
ejemplo, el régimen de dosificación comprende administrar un
ligando anti-FGF23, por ejemplo, un anticuerpo anti-FGF23
aproximadamente cada 3 días, aproximadamente cada 5 días,
20 aproximadamente cada semana, aproximadamente cada 10 días,
aproximadamente cada 2 semanas, aproximadamente cada 17 días,
aproximadamente cada tres semanas, aproximadamente cada 25
días o más.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se

proporcionan métodos para tratar trastornos relacionados con FGF23 a través de la administración de uno o más ligandos anti-FGF23 de acuerdo con un régimen de dosificación determinado en función de uno o más parámetros PD. En algunas realizaciones, los trastornos relacionados con FGF23 incluyen cualquier afección o trastorno directa o indirectamente relacionado con FGF23 o uno o más componentes de la vía de señalización de FGF23. Por ejemplo, en una realización, el trastorno relacionado con FGF23 es XLH o TIO. En algunas realizaciones distintas, el régimen de dosificación incluye utilizar un anticuerpo anti-FGF23 dos veces al mes, por ejemplo, a una dosis fija.

La presente invención también proporciona métodos para tratar trastornos relacionados con FGF23, por ejemplo, a través del aumento de la remodelación ósea. En algunas realizaciones, los trastornos son trastornos óseos. En algunas realizaciones, los métodos comprenden inducir la remodelación ósea en un paciente que necesita el tratamiento. En algunas realizaciones, la remodelación ósea se induce mediante un ligando anti-FGF23, tal como un anticuerpo anti-FGF23. En algunas realizaciones, la administración proporciona un efecto terapéutico estadísticamente significativo para tratar el trastorno. En algunas realizaciones, el ligando anti-FGF23 provoca un aumento de un marcador en el paciente en

comparación con nivel inicial del marcador. En algunas realizaciones, el marcador se selecciona del grupo que consta de propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 sérico/extremo N (P1NP), telopéptido reticulado carboxiterminal del colágeno (CTX), Osteocalcina, BALP, CTX sérico y relación entre NTX/creatina en orina.

En general, la remodelación ósea implica una serie de etapas altamente reguladas que dependen de interacciones del linaje osteoblástico mesenquimal y el linaje osteoclástico hematopoyético. La etapa de "activación" inicial implica la interacción de células precursoras osteoclásticas y osteoblásticas que conducen a la diferenciación, migración y fusión de grandes osteoclastos multinucleados. La remodelación ósea se regula sistemáticamente mediante hormonas, incluidas PTH, 1,25-dihidroxi vitamina D y calcitonina, y varias otras hormonas sistémicas tales como hormona de crecimiento, glucocorticoides y estrógeno. Los reguladores locales de la remodelación ósea incluyen, a modo no taxativo, citocinas (IL-1, TNF, IL-6, IL-11, ODF, IL-4, IL-13, IL-18, IFN, OPG y IL-1ra), prostaglandinas, factor de diferenciación de osteoclastos, factores estimuladores de formación de colonias (por ejemplo, M-CSF y GM-CSF), leucotrienos, óxido nítrico y factores de crecimiento (por ejemplo, IGF, TGF β , FGF, PDGF y PTHrP).

La presente invención también proporciona métodos para tratar y/o prevenir un trastorno relacionado con FGF23 mediante la administración de una cantidad efectiva de un ligando anti-FGF23 a un sujeto que necesita dicho tratamiento con un

5 régimen de dosificación más frecuente que un régimen de dosificación mensual, tal como un régimen de dosificación de cada dos semanas. En algunas realizaciones, el ligando anti-FGF23 se administra a un sujeto aproximadamente cada 1, 1,5, 2, 2,5, 3 o 3,5 semanas. En algunas realizaciones, el sujeto

10 padece un trastorno asociado con una señalización anormal de FGF23, tal como trastornos seleccionados del grupo que consta de raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante/osteomalacia (ADHR), hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH), raquitismo hipofosfatémico autosómico

15 recesivo (ARHR), displasia fibrosa (FD), síndrome McCune-Albright complicado por displasia fibrosa (MAS/FD), condrodisplasia metafisaria tipo Jansen (síndrome de Jansen), enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD), osteomalacia inducida por tumor (TIO), acidosis metabólica

20 crónica y calcificación ectópica. En algunas realizaciones, el trastorno es calcificación ectópica.

La presente invención también proporciona métodos para controlar el nivel de fosfato sérico. En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar un ligando

anti-FGF23 a un sujeto que necesita dicho tratamiento. En algunas realizaciones, los métodos comprenden administrar un ligando anti-FGF23 a un sujeto con un régimen de dosificación más frecuente que un régimen de dosificación mensual, tal como un régimen de dosificación de cada dos semanas. En algunas realizaciones, el ligando anti-FGF23 se administra a un sujeto aproximadamente cada 1, 1,5, 2, 2,5, 3 o 3,5 semanas. En algunas realizaciones, los métodos estabilizan o normalizan el nivel de fosfato sérico en el sujeto. En algunas realizaciones, los métodos minimizan la oscilación del nivel de fosfato sérico, por ejemplo, para mantener el nivel de fosfato sérico próximo a un nivel predeterminado. Los siguientes ejemplos ilustran diversos aspectos de la invención. Los ejemplos deberán, por supuesto, entenderse como meramente ilustrativos de solo ciertas realizaciones de la invención y que no constituyen limitaciones para el alcance de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Estudio en Primera Fase I/II, sin enmascaramiento, con repetición de dosis, con escalamiento de dosis de KRN23 en sujetos adultos con hipofosfatemia ligada al cromosoma X

Sinopsis:

Investigadores y centros de estudio: Participaron un total de 32 sujetos en 6 sitios en Estados Unidos y Canadá.

Fase clínica de desarrollo: Fase 1/2.

Objetivo primario: El objetivo primario de este estudio fue
5 evaluar la seguridad y eficacia de dosis repetidas de administración subcutánea (SC) de KRN23 en sujetos adultos con hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH).

Objetivo secundario: Los objetivos secundarios de este estudio fueron evaluar los efectos de dosis repetidas de
10 administración SC de KRN23 sobre la farmacodinamia (PD, por sus siglas en inglés), farmacocinética (PK, por sus siglas en inglés), inmunogenicidad y calidad de vida (QoL, por sus siglas en inglés).

Objetivo del subestudio en huesos: Para evaluar los efectos
15 de dosis repetidas de administración SC de KRN23 en comparación con placebo sobre la densidad mineral y la calidad ósea.

Diseño del estudio y Metodología: Este fue un estudio en Fase I/II, sin enmascaramiento, con escalamiento de dosis y
20 múltiples centros de KRN23 en sujetos adultos con XLH. El diseño del estudio consistió en 3 períodos: Selección, En tratamiento y Seguimiento. Durante el período de Selección, todos los sujetos tuvieron una visita de Selección (la duración máxima del período de Selección fue de 30

días).Luego de la visita de Selección (Visita 1), todos los sujetos que reunían las condiciones para participar se registraron al Inicio (Día 0) para el período En tratamiento y se administró la dosis inicial de KRN23 de 0,05 mg/kg SC.

5 Se trató a los sujetos con hasta 4 dosis (1 dosis cada 28 días) de KRN23 utilizando un escalamiento de dosis escalonado de 0,05 mg/kg →0,1 mg/kg → 0,3 mg/kg →0,6 mg/kg. El escalamiento de dosis intrasujeto se basó en los niveles de fósforo sérico guiado por un algoritmo de escalamiento de
10 dosis y otras observaciones de seguridad (es decir, monitoreo de evento adverso [AE, por sus siglas en inglés], parámetros de seguridad de laboratorio, inmunogenicidad y hallazgos del examen físico). Tras finalizar el período de terminación, los sujetos se sometieron a una evaluación final en la clínica
15 durante el período de Seguimiento (máximo de 10 días).

El subestudio de los huesos se planificó en un subconjunto de sujetos para evaluar los efectos de enmascaramiento único de KRN23 con respecto a placebo sobre diversos parámetros óseos. Los sujetos se sometieron a una evaluación de los criterios
20 de participación adicionales para participación en este subestudio y evaluaciones clínicas adicionales, incluidas tomografía computarizada cuantitativa periférica (pQCT, por sus siglas en inglés) y absorciometría de rayos X de energía dual (DXA, por sus siglas en inglés) al inicio y al final del

estudio (Día 120). Se lleva a cabo una biopsia de la cresta ilíaca para sujetos en este subestudio que ingresaron al estudio de extensión (segundo ensayo clínico Fase I/II). El Patrocinador suspendió el subestudio en huesos debido a
5 devengo lento.

Diagnóstico: Sujetos masculinos y femeninos con al menos 18 años con diagnóstico clínico documentado de XLH y nivel de factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23) intacto > 30 pg/mL, relación entre tasa de reabsorción máxima tubular
10 renal de fosfato y tasa de filtración glomerular (TmP/GFR) < 2,0 mg/dL, eGFR $\geq$ 60 mL/min (utilizando la fórmula Cockcroft-Gault) y nivel de calcio sérico corregido < 10,8 mg/dL (si la seroalbúmina es < 4,0 g/dL).

Cantidad de sujetos (planificada y analizada): Se
15 planificaron aproximadamente 42 sujetos; se seleccionaron 33 sujetos para participar (30 en la porción sin enmascaramiento del estudio ; 3 en el subestudio de huesos); 1 de los 3 sujetos seleccionados en el subestudio de huesos no cumplió con los criterios de participación y se suspendió su
20 participación en el estudio antes de la asignación del tratamiento.

Tabla 1. Disposición del sujeto

		Sin enmascaramiento KRN23 N=30	Subestudio en huesos		Total KRN23 N=31
			KRN23 N=1	Placebo N= 1	
5	Participantes	30	1	1	31
10	Conjunto de análisis de seguridad ^a	27 (90,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	28 (90,3)
	Conjunto de análisis de eficacia ^b	26 (86,7)	1 (100,0)	1 (100,0)	27 (87,1)
15					
	Finalización de la terapia	25 (83,3)	1 (100,0)	1 (100,0)	26 (83,9)
20	Motivo primario para el retiro				
	Retiro de consentimiento del sujeto ^c	2 (6,7)	0	0	2 (6,5)
	Evento adverso 2 (6,7)d 0 0 2 (6,5)	2 (6,7) ^d	0	0	2 (6,5)

5
10
15

20

20

20

20

mL (Número de lote: YU008E).

Agente de comparación, Dosis y modo de administración, Número de lote:

Porción sin enmascaramiento: Ninguno

- 5 Subestudio de huesos: placebo de KRN23 para administración SC en el abdomen (Número de lote: PYU120413A).

Duración del tratamiento: La duración del tratamiento fue de hasta 110 días. La duración total del estudio fue de aproximadamente 150 días para sujetos que ingresaron al estudio de extensión, y se planificó que fuera de 195 días para los sujetos que no ingresaron al estudio de extensión.

Criterios de valoración:

Eficacia: El criterio de valoración de eficacia primaria fue la cantidad y porcentaje de sujetos con niveles de fósforo sérico posdosis $\leq 2,5$ mg/dL; $> 2,5$ mg/dL pero $\leq 3,5$ mg/dL, $> 3,5$ mg/dL pero $\leq 4,5$ mg/dL; y $> 4,5$ mg/dL.

Farmacodinamia: Los criterios de valoración PD secundarios incluyeron cambios con respecto al Inicio en:

- Fósforo sérico; el área bajo la curva de tiempo de concentración (AUC) con respecto al Inicio; el intervalo de tiempo de los niveles de fósforo sérico $> 2,5$ mg/dL.
- TmP/GFR y 1,25-dihidroxi vitamina D en suero [1,25(OH)₂D].
- 25-hidroxi vitamina D en suero [25(OH)D], calcio total, calcio ionizado, calcitonina, paratirina intacta (iPTH, por

sus siglas en inglés); mediciones en orina cada 2 horas de la reabsorción tubular de fosfato (TRP, por sus siglas en inglés), relación calcio/creatinina, excreción fraccional de calcio (FECa, por sus siglas en inglés); y mediciones en
 5 orina cada 24 horas de fósforo, calcio, creatinina y relación calcio/creatinina.

- Hormonas sexuales: estradiol, testosterona, testosterona libre y globulina de unión a hormona sexual (SHBG, por sus siglas en inglés).
- 10 • Biomarcadores de osificación (Fosfatasa alcalina ósea [BALP], propéptido-N del procolágeno tipo 1 [P1NP] y osteocalcina) y biomarcadores de resorción ósea (telopéptido reticulado carboxiterminal del colágeno tipo 1 [CTx]) y osteocalcina y telopéptido reticulado aminoterminal del
 15 colágeno tipo 1 (NTx urinaria).

Farmacocinética:

- Caracterizar los parámetros PK para KRN23 luego de múltiples dosis de administración SC.
- Caracterizar la población PK de los niveles de dosis de
 20 KRN23 de la dosificación acumulada.

Calidad de vida:

- Cambios con respecto al Inicio en los resultados informados por el paciente (PRO, por sus siglas en inglés) basados en el Formulario corto de 36 puntos del estudio (en inglés Study

36-item Short Form), Versión 2 (SF-36v2) y el Índice Western Ontario y McMaster de osteoartritis (WOMAC, por sus siglas en inglés).

Seguridad:

5 La seguridad incluyó la cantidad y porcentaje de sujetos con eventos adversos, por gravedad y relación con el fármaco del estudio y los cambios clínicamente significativos con respecto al Inicio en evaluaciones en laboratorio clínico (hematología, química y análisis de orina), signos clínicos,
10 exámenes físicos y neurológicos, tomografía computarizada cardíaca (CT, por sus siglas en inglés)/puntaje de calcio coronario y puntaje de calcio aórtico, ecografía renal, electrocardiograma (ECG,); y evaluación de anticuerpo anti-KRN23. Además, se evaluaron los cambios en los parámetros
15 óseos en el antebrazo y tibia, tales como se miden por pQCT, y cambios en la densidad mineral ósea y otros parámetros óseos en la columna lumbar y el fémur proximal, tales como se miden por DXA, en el subestudio de huesos.

Métodos estadísticos: Los valores absolutos y cambio con
20 respecto al Inicio para datos continuos se resumieron descriptivamente incluyendo la cantidad de observaciones, la media, la desviación típica, la mediana, el mínimo y máximo. La variable categórica se resumió utilizando recuentos de frecuencia y porcentajes. Todos los resúmenes de datos se

presentaron para los siguientes grupos de tratamiento: tratamiento sin enmascaramiento (KRN23), tratamiento de enmascaramiento único en el subestudio de huesos (KRN23 y placebo) y KRN23 total. Los parámetros de farmacodinamia medidos incluyeron niveles de fósforo sérico, TmP/GFR y $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero junto con otros parámetros bioquímicos. El área bajo la curva para el cambio con respecto al inicio en estos parámetros de farmacodinamia se calculó para los 120 días de tratamiento o hasta el último punto de tiempo medido antes del retiro ($\text{AUC}_{\text{último}}$) y para cada uno de los 4 intervalos de dosificación (AUC_1 , AUC_2 , AUC_3 y AUC_4), donde AUC_n fue el AUC desde el inicio (es decir, antes de la primera dosis) para el intervalo de dosificación “n”. La cantidad y porcentaje de sujetos que informaron eventos adversos emergentes del tratamiento (TEAE, por sus siglas en inglés) se evaluaron a lo largo de los grupos de estudio del tratamiento.

Métodos farmacocinéticos y PK-PD: Se utilizó estadística descriptiva para los datos de concentración de KRN23 en suero y los parámetros PK. Las muestras de KRN23 en suero se analizaron utilizando métodos no compartimentales. Se estimaron los parámetros PK (área debajo de la curva de tiempo de concentración en suero de cero hasta la última concentración medida [$\text{AUC}_{\text{último}}$], área bajo la curva de

tiempo de concentración en suero de cero al infinito [AUCinf], volumen aparente de distribución [V/F], aclaramiento aparente [CL/F] y semivida de eliminación terminal después del 4° intervalo de dosificación [t_{1/2}])
5 utilizando concentraciones en suero del sujeto para todas las dosis acumuladas desde los Días 1 a 120. Además, durante cada intervalo de dosificación n se estimaron el área bajo la curva de tiempo de concentración en suero para intervalo de dosificación n-th [AUC_n], concentración máxima en suero
10 [C_{max,n}], concentración predosis en suero (C_{min,n}) y tiempo hasta concentración máxima en plasma [t_{max, n}]. Se generaron diagramas de dispersión para explorar la correlación PK-PD utilizando AUC_n y AUC_{último} para las mediciones PK y PD. La relación de la concentración (KRN23 en suero) y el efecto
15 (aumento de fósforo sérico con respecto al inicio) se describió mediante un modelo E_{max} empírico.

Diseño y planificación del estudio global: Este estudio de Fase I/II, sin enmascaramiento, con escalamiento de dosis planificado para que participen aproximadamente 42 sujetos
20 adultos femeninos y masculinos con XLH. De los 42 sujetos, se planificó que 18 participaran en el subestudio de huesos. Los sujetos que participaron en la porción sin enmascaramiento del estudio recibieron hasta cuatro dosis de KRN23 (0,05, 0,1, 0,3 y 0.6 mg/kg) administradas subcutáneamente (SC) cada

28 días durante un período de 120 días. Todos los sujetos recibieron la dosis inicial de KRN23 de 0,05 mg/kg SC. El escalamiento escalonado intrasujeto de KRN23 se basó en los niveles de fósforo sérico guiado por un algoritmo de escalamiento de dosis y evaluaciones de seguridad (es decir, monitoreo de AE, parámetros de seguridad de laboratorio, inmunogenicidad y hallazgos del examen físico). Los sujetos que participaron en el subestudio de huesos se aleatorizaron para KRN23 o Placebo con enmascaramiento único y recibieron hasta cuatro dosis de KRN23 (0,05, 0,1, 0,3 y 0,6 mg/kg) administradas SC cada 28 días durante un período de 120 días.

Medicamentos del estudio: Los sujetos recibieron KRN23 a través de inyección(es) SC en el abdomen (evitando un radio de 1 pulgada alrededor del ombligo) los días de dosificación: Días 0, 28, 56 y 84, utilizando escalamiento de dosis escalonada de 0,05 mg/kg → 0,1 mg/kg → 0,3 mg/kg → 0,6 mg/kg. Los sujetos volvieron los Días 3, 7, 12, 18 y 26 de cada ciclo de dosificación (4 ciclos de dosificación) para evaluaciones clínicas, de laboratorio, de PK y PD programadas. Todas las visitas se llevaron a cabo en estado de ayuno (es decir, abstención de comer y beber, excepto agua) durante al menos 8 horas antes de la visita del estudio.

Características de la enfermedad al inicio: Para los sujetos

en el análisis de eficacia las características de la enfermedad al inicio incluidos los niveles de fósforo sérico, TmP/GFR, 1,25(OH)₂D y FGF23 intacto para todos los sujetos en el Conjunto de Análisis de Eficacia se presentan en la tabla a continuación. En general, los niveles de fósforo sérico y TmP/GFR medios al Inicio estuvieron por debajo de límite inferior del rango de referencia normal. Al Inicio, el nivel medio general de 1,25(OH)₂D estuvo dentro del rango de referencia normal para todos los sujetos. Los niveles de FGF23 al Inicio variaron de 52,8 a 4620 pg/mL.

Tabla 2. Características de la enfermedad al Inicio (Conjunto de Análisis de Eficacia)

		Tratamiento con		Total
		KRN23 sin enmascaramiento N=26	KRN23 N=1 Placebo N=1	
5	FGF23(pg/mL)			
	n	26	1	27
	Media (DT)	291,2(886,24)	52,8(NA)	282,4(870,24)
	Min, Max	(56,4,4620,0)	(52,8,52,8)	(86,6,86,6)
	Fósforo sérico(mg/dL)			
10	n	26	1	27
	Media (DT)	1,89(0,34)	2,0(NA)	1,89(0,33)
	Min, Max	(1,2,2,8)	(2,0,2,0)	(1,6,1,6)
	TmP/GFR(mg/dL) ^a			
	n	26	1	27
	Media (DT)	1,61(0,37)	1,45(NA)	1,60(0,36)
	Min, Max	(0,84,2,26)	(1,45,1,45)	(1,25,1,25)
15	1,25(OH) ₂ D en suero (pg/mL)			
	n	23	1	24
	Media (DT)	36,3(14,52)	42,0(NA)	36,6(14,25)
	Min, Max	(10, 62)	(42, 42)	(67, 67)
	Calcio total sérico(mg/dL)			
20	n	26	1	27
	Media (DT)	9,10(0,38)	9,30(NA)	9,30(NA)
	Min, Max	(8,5,10,2)	(9,3,9,3)	(9,30,9,30)
	iPTH sérica(pg/mL)			
	n	26	1	27
	Media (DT)	82,2(32,74)	74,0(NA)	77,0(NA)
	Min, Max	(38, 143)	(74, 74)	(77, 77)
	BALP (µg/L)			
	n	26	1	27

5	Media (DT)	28,1 (12,96)	34,4 (NA)	20,7 (NA)	28,3 (12,77)
	Min, Max	(8,2, 52,4)	(34,4, 34,4)	(20,7, 20,7)	(8,2, 52,4)
	Calcio en orina cada 24 hrs (mg/24 hr)				
	n	26	1	1	27
	Media (DT)	91,4 (65,66)	30,0 (NA)	54,0 (NA)	89,1 (65,46)
10	Min, Max	(11, 253)	(30, 30)	(54, 54)	(11, 253)
	Creatinina en orina cada 24 hrs (g/24 hr)				
	n	26	1	1	27
	Media (DT)	1,31 (0,62)	1,23 (NA)	1,04 (NA)	1,31 (0,61)
	Min, Max	(0,54, 3,01)	(1,23, 1,23)	(1,04, 1,04)	(0,54, 3,01)
15	Relación calcio/creatinina cada 2 hrs, (mg/g creatinina)				
	n	26	1	1	27
	Media (DT)	49,4 (38,59)	7,0 (NA)	36,0 (NA)	47,8 (38,71)
	Min, Max	(11, 192)	(7,7)	36, 36)	(7, 192)

1,25(OH)₂D =1,25-dihidroxi vitamina D; BALP= fosfatasa

alcalina ósea;FGF23=factor de crecimiento de fibroblastos 23;

20 hrs= horas; iPTH= paratirina intacta; Max= máxima;

Min=mínimo; NA=no aplicable;

SD= desviación típica; TmP/GFR= la relación entre la tasa máxima de reabsorción tubular renal de fosfato y la tasa de filtración glomerular. a: Rango normal: 2,5-4,3 para TmP/GFR

Muestreo farmacocinético/farmacodinámico: Las muestras de sangre para las evaluaciones de PK de KRN23 se recogieron para todos los sujetos de acuerdo con el programa que se muestra en la Tabla 3 a continuación. Las muestras de suero se analizaron para determinar las concentraciones de KRN23 utilizando métodos bioanalíticos validados.

Tabla 3. Programa de muestreo farmacocinético

10	Ciclo de dosificación	Día con respecto a dosis*	Tiempo de muestra PK
	1	0	Predosis
		3	Visita en clínica
		7	Visita en clínica
		12	Visita en clínica
		18	Visita en clínica
		26	Visita en clínica
	2	28 o Día 0 para 2do ciclo de dosificación	Predosis
		3	Visita en clínica
		7	Visita en clínica
		12	Visita en clínica
		18	Visita en clínica
		26	Visita en clínica
15	3	56 o Día 0 para 3er ciclo de dosificación	Predosis
		3	Visita en clínica
		7	Visita en clínica
		12	Visita en clínica
		18	Visita en clínica
		26	Visita en clínica
	4	84 o Día 0 para 4to ciclo de dosificación	Predosis
		3	Visita en clínica
		7	Visita en clínica
		12	Visita en clínica
		18	Visita en clínica
		26	Visita en clínica
20	Visita de seguimiento/Retiro temprano	120 o Día 36 para 4to ciclo de dosificación/Retiro temprano	Visita en clínica
*ventana de ± 3 días para cada visita			

Las muestras para la evaluación de los parámetros PD se recogieron los días de dosificación (Días 0, 28, 56 y 84),

los Días 3, 7, 12, 18 y 26 de cada ciclo de dosificación y Día 120 (visita de seguimiento/retiro temprano). Además, las muestras de sangre para mediciones de biomarcadores óseos se recogieron al inicio (Día 0), en el tiempo predosis en cada ciclo de dosificación (Días 28, 56 y 84) y en la visita de seguimiento (Día 120).

Mediciones de concentración de fármaco: Las muestras de suero se analizaron para determinar KRN23 en KyowaHakko Kirin California, Inc. (KKC) anteriormente Kirin Pharma USA, Inc., utilizando un método de enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA, por sus siglas en inglés) intercalado. El límite inferior de cuantificación (LLOQ, por sus siglas en inglés) para el ensayo de KRN23 fue 50 ng/mL. La curva estándar tuvo un rango de 50-3000 ng/mL para KRN23. Todas las muestras de sangre y orina para los parámetros PD se analizaron en el laboratorio central utilizando kits de ensayo disponibles en el mercado y/o métodos de ensayo validados.

20 RESUMEN DE RESULTADOS

Exposición: Se trató a un total de 28 sujetos con KRN23 (27 en la porción sin enmascaramiento del estudio y 1 en el subestudio de huesos) y 1 sujeto se trató con placebo en el subestudio de huesos. La dosis media total de KRN23

administrada fue $0,05 \pm 0,00$ mg/kg, $0,10 \pm 0,01$ mg/kg, $0,28 \pm 0,06$ mg/kg y $0,48 \pm 0,16$ mg/kg durante los intervalos de dosificación 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Un sujeto en el grupo placebo en el subestudio de huesos recibió las 4 dosis de placebo.

Población del estudio: Entre los 28 sujetos tratados con KRN23, la mediana de la edad fue de 41,9 años (rango: 19 a 66 años); la mayoría (67,9%; 19/28) eran mujeres y casi todos (96,4%; 27/28) eran blancos/caucásicos y 1 era negro/Afroamericano/Afrocaribeño. La mediana de altura de los sujetos tratados con KRN23 fue 149,7 cm (rango: 121,9 a 170,2 cm) y la mediana de peso fue 70,1 kg (rango: 46,4 a 121,9 kg). La mediana de índice de masa corporal de los sujetos tratados con KRN23 fue 30,7 kg/m² (rango de 19,7 a 67,6 kg/m²). Los niveles de fósforo sérico y TmP/GFR medios generales al Inicio estuvieron por debajo de límite inferior del rango de referencia normal. Al Inicio, el nivel medio general de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ estuvo dentro del rango de referencia normal para los sujetos tratados con KRN23. Los niveles de FGF23 al Inicio variaban de 52,8 a 4620,0 pg/mL para los sujetos tratados con KRN23.

Resultados de eficacia: La proporción de sujetos tratados con KRN23 con niveles de fósforo sérico $> 2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL aumentó de 3,7% al Inicio (Día 0 en el primer intervalo de

dosificación) hasta 14,8%, 37,0%, 74,1% y 70,4% el Día 7 (el momento de efecto máximo) en el primero, segundo, tercero y cuarto intervalo de dosificación, respectivamente. Los niveles de fósforo sérico no superaron los 4,5 mg/dL en
 5 ningún sujeto en ningún punto de tiempo.

Análisis farmacodinámicos:

Se utilizaron los tiempos de muestreo reales para el cálculo de los parámetros PK. Los parámetros PK para cada ciclo de dosificación se estimaron en función del perfil PK observado
 10 en cada ciclo y los parámetros PK para todas las dosis se estimaron en función de la dosis total recibida durante los 4 ciclos de dosificación. Los siguientes parámetros PK se determinaron para KRN23 a partir de los datos de tiempo de concentración en suero mediante método de análisis no
 15 compartimental:

Parámetro Definición

$AUC_{\text{último}}$ Área bajo la curva de tiempo de concentración en suero de tiempo 0 a tiempo de última concentración medible en
 20 todos los ciclos de dosificación (Día 120 o retiro temprano) determinada utilizando la regla trapezoidal lineal.

AUC_{inf} Área bajo la curva de tiempo de concentración en suero de tiempo 0 a infinito en todos los ciclos de

dosificación determinada utilizando la regla trapezoidal lineal.

AUC_n Área bajo la curva de tiempo de concentración en suero durante el ciclo de dosificación n-th

$AUC_{\%Extrap}$ Porcentaje de AUC_{inf} basado en extrapolación

10 $C_{max, n}$ Concentración máxima en suero observada durante el ciclo de dosificación n-th

$C_{min, n}$ Concentración en suero observada predosis al
15 finalizar el ciclo de dosificación n-th

$t_{max, n}$ Tiempo de concentración máxima en suero observada durante el ciclo de dosificación n-th

20

$t_{1/2}$ Semivida de eliminación terminal después del 4to ciclo de dosificación calculada como $\ln 2 / \lambda_z$ donde λ_z es la constante de tasa asociada con la fase de eliminación

CL/F Aclaramiento de suero aparente calculado como la dosis total durante 120 días de tratamiento/AUC_{inf}

5

$V_z//F$ Volumen de distribución aparente basado en la fase de eliminación terminal calculado como $CL/F/\lambda_z$ después del 4to ciclo de dosificación

10 A los efectos de calcular las AUC, no niveles de suero faltantes no se imputaron mediante interpolación entre puntos adyacentes. Todas las concentraciones en suero por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo se trataron como cero.

15

La AUC₁, AUC₂, AUC₃ y AUC₄ se estimaron en el Ciclo de Dosificación 1 (Día 0 a Día 28), Ciclo de Dosificación 2 (Día 28 a Día 56), Ciclo de Dosificación 3 (Día 56 a Día 84) y Ciclo de Dosificación 4 (Día 84 a Día 120), respectivamente.

20

Los análisis PK para la concentraciones de KRN23 en suero se llevaron a cabo utilizando un método de análisis no compartimental con PhoenixTM Win Nonlin[®] (Versión 6.3, Pharsight-A CertaraTM Company, Mountain View, CA). Las

representaciones gráficas se produjeron mediante SigmaPlot®(Systat Software, Inc., Point Richmond, CA).

Resultados de farmacodinamia:

- 5 • La dosis media de KRN23 aumentada con cada dosis sucesiva de 0,05 mg/kg SC para la primera dosis (dosis inicial según el protocolo) hasta $0,48 \pm 0,16$ mg/kg para la cuarta dosis.
- Fósforo sérico medio alcanzó los niveles máximos el Día 7 después de cada dosis, luego disminuyó y no alcanzó los
10 niveles predosis antes de las dosis posteriores. Los aumentos en el fósforo sérico fueron clínicamente significativos en magnitud, particularmente después de tercera y cuarta dosis.
- Los niveles de fósforo sérico medios máximos y residuales (predosis) así como AUCn aumentaron con dosis sucesivas. Los
15 niveles de fósforo sérico máximos medios aumentaron de $2,21 \pm 0,33$ mg/dL después de la primera dosis hasta $3,03 \pm 0,42$ mg/dL después que la cuarta dosis.
- Los resultados de TmP/GFR siguieron el mismo patrón que el observado para el fósforo sérico. La TmP/GFR máxima media
20 después de la primera dosis fue $1,93 \pm 0,45$ mg/dL; esta aumentó hasta $2,97 \pm 0,67$ mg/dL después de la cuarta dosis. La magnitud del aumento en TmP/GFR fue similar a la del fósforo sérico y fue clínicamente significativa.
- Los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero medios aumentaron hasta

niveles máximos entre los Días 3 y 7 después de cada dosis y volvieron casi al nivel inicial antes de la siguiente dosis. De otra forma, los patrones observados fueron iguales a aquellos vistos con fósforo sérico y TmP/GFR.

- 5 • No hubo correlación entre los niveles iniciales de FGF23 y fósforo sérico. De forma similar, los aumentos en el fósforo sérico no estuvieron correlacionados con los niveles iniciales de FGF23.
- No se observó ningún efecto significativo del tratamiento con KRN23 en los cambios medios con respecto al Inicio para los otros parámetros PD en suero y orina. Los valores medios para otros parámetros PD en suero y orina se mantuvieron iguales después de la dosificación con KRN23 en comparación con el Inicio. Los parámetros en suero incluían 25(OH)D, calcio total, calcio ionizado, calcitonina, iPTH, estradiol, testosterona libre, testosterona total y SHBG. Los marcadores de orina incluían mediciones cada 2 horas de TRP, relación calcio/creatinina y FECa, y mediciones cada 24 horas de fósforo, calcio, creatinina y relación calcio/creatinina.
- 20 • Los marcadores en suero de osificación (BALP, P1NP y osteocalcina) y resorción ósea (CTx y NTx/creatinina) tendiendo a aumentar después de la dosificación con KRN23.

Análisis farmacodinámicos: Brevemente, el área bajo la curva (AUC) para el cambio con el respecto al inicio se calculó

durante los 120 días de tratamiento o hasta el último punto de tiempo medido antes del retiro ($AUC_{\text{último}}$) y en cada uno de los 4 ciclos de dosificación (AUC_1 , AUC_2 , AUC_3 y AUC_4) para cada uno de los siguientes parámetros PD:

- 5 • Homeostasis de calcio: albúmina, calcio ionizado, calcio corregido
- Parámetros PD: calcitonina, PTH intacto, creatinina sérica, fósforo sérico, calcio total en suero
- Vitamina D: 1,25-dihidroxi Vitamina D ($1,25(OH)_2D$), 25-hidroxi
- 10 Vitamina D ($25(OH)D$)
- Biomarcadores óseos: fosfatasa alcalina ósea, c-telopéptido (CTX), n-telopéptido (NTX), relación NTX/creatinina, osteocalcina, procolágeno 1(P1NP)
- Hormonas sexuales: estradiol, testosterona,
- 15 testosterona libre y globulina de unión a hormona sexual (SHBG)
- Orina en 24 horas: calcio, relación calcio/creatinina, creatinina, fosfato
- Orina en 2 horas: creatinina, calcio aleatorio, relación
- 20 calcio/creatinina, excreción fraccional de calcio (FECa), fósforo, reabsorción tubular de fosfato (TRP), Tmp/GFR calculada

Para los parámetros PD, se estimaron AUC_1 , AUC_2 , AUC_3 y AUC_4 en el Ciclo de Dosificación 1 (Día 0 a Día 28), Ciclo de

Dosificación 2 (Día 28 a Día 56), Ciclo de Dosificación 3 (Día 56 a Día 84) y Ciclo de Dosificación 4 (Día 84 a Día 120), respectivamente. PD $AUC_{\text{último}}$ en suero se estimó del Día 0 al Día

5 120 o hasta el retiro temprano. Si no se tomaron muestras predosis para el intervalo de dosificación n-th, se utilizó la última muestra antes del intervalo de dosificación como la muestra predosis.

10 **Farmacocinética y relaciones PK-PD:**

• Las exposiciones PK (valores $C_{\text{max},n}$, $C_{\text{min},n}$, AUC_n) aumentaron de forma proporcional a la dosis con valores t_{max} medios similares en los 4 intervalos de dosificación. El $t_{1/2}$ terminal estimado después del cuarto intervalo de
15 dosificación fue de $16,4 \pm 5,8$ días.

• Las concentraciones de KRN23 y fósforo en suero alcanzaron niveles máximos aproximadamente en el mismo punto de tiempo (aproximadamente Día 7) después de cada dosis y sus concentraciones aumentaron y disminuyeron en paralelo,
20 respaldando un relación PK-PD directa descrita en un modelo E_{max} empírico. El efecto máximo de KRN23 en el aumento en los niveles de fósforo sérico (E_{max}) fue de 1,788 mg/dL y la concentración de KRN23 que alcanzó 50% de E_{max} (CE_{50}) fue 2742 ng/mL.

- La AUC_n o AUC_{último} para el cambio con respecto al Inicio en el fósforo sérico, TmP/GFR y 1,25(OH)₂D aumentaron linealmente con exposición PK a KRN23 PK en aumento (AUC_n o AUC_{último}).
- 5 • No se observó ningún efecto significativo del tratamiento con KRN23 en AUC_n o AUC_{último} para el cambio con respecto al Inicio para los otros parámetros PD (seroalbúmina, calcio ionizado, calcio corregido, calcitonina, iPTH, creatinina, calcio total, 25(OH)₂D, estradiol, testosterona libre,
- 10 testosterona total, SHBG; y TRP en orina a 2 horas, relación calcio/creatinina y FECa; y calcio en orina en 24 horas, relación calcio/creatinina, creatinina y fosfato.
- El AUC para los marcadores de osificación (BALP, P1NP y osteocalcina) y el cambio de los marcadores de resorción ósea
- 15 (CTX y relación NTx/creatinina) con respecto al Inicio con respecto al AUC de KRN23 exhibieron tendencias positivas de aumento luego del tratamiento con KRN23.

Calidad de vida: Utilizando 2 instrumentos PRO (SF-36v2 y WOMAC), el tratamiento con KRN23 resultó en mejoras significativas en el estado de salud de los sujetos con XLH:

- Todas las 10 mediciones con SF-36v2 exhibieron mejoras al final del tratamiento en comparación con el Inicio con mejoras estadísticamente significativas observadas para 3

mediciones (Limitaciones del rol debido a Salud física [RP], Dolor corporal [BP] y Resumen de componente físico [PCS]; $p < 0,05$). Cuando se corrigieron para multiplicidad, solo RP fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

- 5 • Todas las 3 mediciones con WOMAC exhibieron mejoras al final del tratamiento en comparación con el Inicio con mejoras estadísticamente significativas observadas para 2 mediciones (Funcionamiento físico y Rigidez; $p < 0,05$).

• En comparación con la población estadounidense general, la
10 población del estudio exhibió mayores deficiencias en los puntajes de BP, Funcionamiento físico (PF), RP y PCS iniciales. Al finalizar el estudio, los déficits en RP se eliminaron ($p < 0,05$) y los déficits en PF, BP y PCS disminuyeron. Todos los otros puntajes exhibieron mejoras
15 hacia una salud mejor (Funcionamiento social [SF], Limitaciones al rol debido a problemas emocionales [RE], Vitalidad [VT], Salud Mental [MH], Resumen de Componente Mental [MCS] y Salud General [GH]).

• En comparación con los pacientes con osteoartritis, los
20 mediciones de carga de la enfermedad iniciales para la población de estudio fueron similares para 8 escalas (RP, RE, BP, PF, PCS, VT, MH y MCS) y fueron significativamente mejores para GH y SF. Al final de estudio, todos los puntajes mejoraron con mejoras estadísticamente significativa ($p <$

0,05 y $p < 0,05$) observadas para RP para la población de estudio en comparación con los pacientes con osteoartritis.

- El cambio en los puntajes de QoL se correlacionó moderadamente (umbral de 0,3 para la correlación) con las siguientes mediciones clínicas:

- El cambio con respecto al Inicio en los puntajes de BP, GH y Rigidez se correlacionó moderadamente con la exposición PK a KRN23 (AUC_{último});

- El cambio con respecto al Inicio en los puntajes BP y RE se correlacionó moderadamente con el cambio de fósforo sérico y TmP/GFR con respecto al Inicio (AUC_{último});

- El cambio con respecto al Inicio en los puntajes de Dolor se correlacionó moderadamente con el cambio de 1,25(OH)₂D con respecto al Inicio (AUC_{último}).

15 **Resultados de seguridad:**

- El KRN23 se toleró bien tras la administración SC de 4 dosis escalonadas en esta población de sujetos.

- No hubo muertes ni SAE. Un sujeto se retiró del estudio debido a un TEAE (urticaria en el sitio de la inyección).

20 Este evento se observó el Día 57 después de la tercera dosis de KRN23, se consideró de intensidad moderada, y probablemente relacionada con el fármaco del estudio. Se trató al sujeto con prednisona y difenhidramina.

- Casi todos los sujetos (25 sujetos, 89,3% tratados con

KRN23 y 1 sujeto tratado con placebo) presentaron al menos 1 TEAE durante el estudio. Los TEAE más comunes (informados por al menos 5 sujetos) para sujetos tratados con KRN23 fueron nasofaringitis (8 sujetos, 28,6%, cada uno), artralgia (7
5 sujetos, 25,0%) y diarrea, dolor de espalda y síndrome de piernas inquietas (5 sujetos, 17,9%, cada uno).

• Se informaron TEAE relacionados con el tratamiento para 10 sujetos (35,7%) tratados con KRN23; se informaron TEAE no relacionados con el tratamiento para el 1 sujeto en el grupo
10 placebo. La diarrea fue el único TEAE relacionado con el tratamiento informado para más de 1 sujeto tratado con KRN23 (2 sujetos, 7,1%). Todos los TEAE se consideraron de intensidad suave o moderada, excepto para los 2 sujetos tratados con KRN23 (1 con mialgia grave y 1 con dolor
15 postraumatismo grave). Se informaron TEAE con peligro para la vida o fatales.

• No hubo un patrón observable de anomalías en el laboratorio durante el estudio. Tres sujetos presentaron anomalías en el laboratorio consideradas por el Investigador como TEAE
20 (disminución de recuento de neutrófilos, anemia ferropénica, aumento de creatina fosfocinasa en sangre); sin embargo, no se consideraron clínicamente significativos, no requirieron tratamiento y no resultaron en la suspensión de la participación de los sujetos en el estudio.

- No se observaron cambios en patrones de otros parámetros de seguridad obtenidos (signos vitales, hallazgos en exámenes físicos y neurológicos, tomografías computarizadas cardíacas, ecografías renales y electrocardiogramas) que sugirieran que
5 fueran efecto de tratamiento.
- Ningún sujeto desarrolló anticuerpos anti-KRN23 después de la dosificación. No se detectó ningún anticuerpo anti-KRN23 positivo para el 1 sujeto que sufrió una reacción en el sitio de la inyección (urticaria). Ningún otro sujeto sufrió
10 reacciones de hipersensibilidad.
- No hubo evidencia de concentración de calcio en suero aumentadas, puntajes de excreción urinaria de calcio, nefrocalcinosis o calcio en las arterias coronarias luego del tratamiento con KRN23.

15

Conclusiones: En general, los efectos sostenidos de KRN23 sobre los niveles de fósforo sérico, TmP/GFR y $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero durante un intervalo de dosis; mejora en los puntajes de QoL después de 4 dosis; relación PK-PD directa para la
20 concentración de KRN23 en suero y aumento en los niveles de fósforo sérico; y el perfil de seguridad favorable en los sujetos adultos con XLH en este estudio sugiere una utilidad potencial de KRN23 en pacientes con XLH.

Análisis de eficacia, parámetros farmacodinámicos y farmacocinéticos de KRN23 en sujetos adultos con hipofosfatemia ligada al cromosoma X

5 Eficacia primaria - Niveles de fósforo sérico

Los sujetos tuvieron niveles máximos de fósforo sérico de $\leq 2,5$ mg/dL, $> 2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL, $> 3,5$ a $\leq 4,5$ mg/dL o $> 4,5$ mg/dL. Al Inicio (Día 0 del primer intervalo de dosis), casi todos los sujetos (26 sujetos, 96,3%) tratados con KRN23
 10 tuvieron niveles de fósforo sérico por debajo de 2,5 mg/dL; 1 sujeto tuvo niveles $> 2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL:

Tabla 4. Proporción de sujetos tratados con KRN23 con niveles de fósforo sérico por Categorías (Eficacia Análisis Población)

15

20

	Cantidad(%)de sujetos tratados con KRN23, N=27			
	Categorías de niveles de fósforo sérico (mg/dL)			
	$\leq 2,5$	$> 2,5$ a $\leq 3,5$	$> 3,5$ a $\leq 4,5$	$> 4,5$
Intervalo de dosificación 1				
Visita 2 (Día 0)/0	26(96,3)	1 (3,7)	0	0
Visita 4 (Día 7)/7	23(85,2)	4 (14,8)	0	0
Visita 7 (Día 26)/26	26(96,3)	1 (3,7)	0	0
Intervalo de dosificación 2				
Visita 8 (Día 28)/0	26(96,3)	1 (3,7)	0	0
Visita 10(Día 35)/7	17(63,0)	10(37,0)	0	0
Visita 13(Día 54)/26	25(92,6)	2 (7,4)	0	0
Intervalo de dosificación 3				
Visita 14(Día 56)/0	23(85,2)	2 (7,4)	0	0
Visita 16(Día 63)/7	7 (25,9)	20(74,1)	0	0
Visita 19(Día 82)/26	19(70,4)	8 (29,6)	0	0
Intervalo de dosificación 4				
Visita 20 (Día 0)/0	18(66,7)	6 (22,2)	0	0
Visita 22(Día 91)/7	3 (11,1)	19(70,4)	4 (14,8)	0
Visita 25(Día 110)/26	14(51,9)	12(44,4)	0	0

- Durante los primeros 120 días del estudio, el tiempo total medio con nivel de fósforo sérico $>2,5$ mg/dL para sujetos tratados con KRN23 fue $27,8 \pm 17,9$ días. Para el 1 sujeto tratado con placebo en el subestudio en huesos, los niveles de fósforo sérico permanecieron esencialmente sin cambios con respecto al Inicio (1,6 mg/dL) hasta el final del estudio (Visita 26) (2,0 mg/dL) con niveles posdosis que variaban de 1,5 a 2,1 mg/dL.
- 10 Durante cada intervalo de dosis, el nivel máximo de fósforo sérico se logró el Día 7:

Tabla 5. Nivel de fósforo sérico medio ($\pm$ DT) y AUC de cambio de fósforo sérico con respecto al Inicio para sujetos tratados con KRN23 (Conjunto de Análisis de Eficacia)

Intervalo de dosificación ^a	Niveles de fósforo sérico			AUC _n o AUC _{último} de cambio de fósforo sérico con respecto al Inicio Media (DT), (mg.día/dL)
	Día 0 (Predosis) Media(DT),mg/dL	Tiempo hasta alcanzar nivel máximo ^b	Nivel máximo medio (DT), mg/dL	
1	1,89(0,33), n=27	Día 7	2,21(0,33), n=27	5,68(5,04), n=27
2	1,95(0,36), n=27	Día 7	2,47(0,35), n=27	10,72(6,53), n=27
3	2,13(0,27), n=25	Día 7	2,86(0,40), n=27	19,56(9,61), n=27
4	2,27(0,32), n=24	Día 7	3,03(0,42), n=26	28,20(12,43), n=26
Total	NA	NA	NA	63,59(31,58), n=27

AUC_n= área bajo la curva de tiempo de concentración para el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo sérico durante el intervalo de dosificación nth (n=1, 2, 3 o

4); $AUC_{\text{último}}$ = AUC para el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo sérico del Día 0 al Día 120 (o retiro temprano); NA =no aplicable; DT = desviación típica.

a: Intervalo de dosificación 1= Visita 2 a Visita 8;

5 Intervalo de dosificación 2= Visita 8 a Visita 14; Intervalo de dosificación 3=Visita 14 a Visita 20; Intervalo de dosificación 4= Visita 20 a Visita 26; Total= Visita 2 a Visita 26.

b: Tiempo para alcanzar el nivel de fósforo sérico máximo
10 medio con respecto al Día 0 para cada intervalo de dosificación.

Las proporciones de sujetos tratados con KRN23 con niveles de fósforo sérico $>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL el Día 7 aumentó de 14,8% en
15 el Intervalo de dosificación 1 hasta 37,0%, 74,1% y 70,4% en los Intervalos de dosificación 2, 3 y 4, respectivamente.

El Día 91 (Día 7 del cuarto intervalo de dosificación), la mayoría (19 sujetos, 70,4%) de los sujetos tratados con KRN23 exhibió niveles de fósforo sérico $>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL; 3
20 sujetos (11,1%) exhibieron niveles por debajo de 2,5 mg/dL y 4 (14,8%) exhibieron niveles $>3,5$ a $\leq 4,5$ mg/dL. El Día 110 (Día 26 del cuarto intervalo de dosificación), 12 (44,4%) sujetos exhibieron niveles de fósforo sérico $>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL y 14 (51,9%) exhibieron niveles por debajo de 2,5

mg/dL. Los niveles de fósforo sérico no superaron los 4,5 mg/dL en ningún punto de tiempo en ningún sujeto.

En resumen, el efecto máximo medio de KRN23 se produjo el Día 7 después del cuarto intervalo de dosificación. Un total de 23 sujetos (85,2%) exhibieron niveles de fósforo sérico $>2,5$ mg/dL y $\leq 4,5$ mg/dL.

Resultados farmacodinámicos:

Fósforo sérico

Los niveles de fósforo sérico medios se resumen en la tabla 6 a continuación y se representan gráficamente en la FIG. 1.

Tabla 6. Nivel de fósforo sérico medio ($\pm$ DT) y AUC de cambio de fósforo sérico con respecto al Inicio para sujetos tratados con KRN23 (Conjunto de Análisis de Eficacia)

Intervalo de dosificación ^a	Niveles de fósforo sérico			AUC _n o AUC _{último} de cambio de fósforo sérico con respecto al Inicio Media (DT), (mg.día/dL)
	Día 0 (Predosis) Media(DT), mg/dL	Tiempo hasta alcanzar nivel máximo ^b	Nivel máximo medio (DT), mg/dL	
1	1,89(0,33), n=27	Día 7	2,21(0,33), n=27	5,68(5,04), n=27
2	1,95(0,36), n=27	Día 7	2,47(0,35), n=27	10,72(6,53), n=27
3	2,13(0,27), n=25	Día 7	2,86(0,40), n=27	19,56(9,61), n=27
4	2,27(0,32), n=24	Día 7	3,03(0,42), n=26	28,20(12,43), n=26
Total	NA	NA	NA	63,59(31,58), n=27

AUC_n= área bajo la curva de tiempo de concentración para el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo sérico durante el intervalo de dosificación nth (n=1, 2, 3 o 4); AUC_{último}= AUC para el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo sérico del Día 0 al Día 120 (o retiro temprano); NA =no aplicable; DT = desviación típica.

a: Intervalo de dosificación 1= Visita 2 a Visita 8; Intervalo de dosificación 2= Visita 8 a Visita 14; Intervalo de dosificación 3=Visita 14 a Visita 20; Intervalo de dosificación 4= Visita 20 a Visita 26; Total= Visita 2 a Visita 26.

b: Tiempo para alcanzar el nivel de fósforo sérico máximo medio con respecto al Día 0 para cada intervalo de dosificación.

Las dosis de KRN23 medias fueron $0,05 \pm 0,0$, $0,10 \pm 0,01$, $0,28 \pm 0,06$ y $0,48 \pm 0,16$ mg/kg para los intervalos de dosificación 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Durante cada uno de los 4 intervalos de dosificación, las concentraciones medias de fósforo sérico aumentaron hasta concentraciones máximas el Día 7 y disminuyeron antes de la siguiente dosificación; los niveles predosis y posdosis aumentaron a medida que las dosis aumentaban durante el período de tratamiento de 120 días. A medida que las dosis aumentaban del primero al cuarto intervalo de dosificación, la concentración máxima media de fósforo sérico aumentó de $2,21 \pm 0,33$ mg/dL hasta $3,03 \pm 0,42$ mg/dL, la concentración media de fósforo sérico antes de cada dosificación aumentó de $1,89 \pm 0,33$ a $2,27 \pm 0,32$ mg/dL y el AUCn media aumentó de $5,68 \pm 5,04$ a $28,20 \pm 12,43$ mg·día/dL.

Las fluctuaciones entre concentración máxima y residual de fósforo sérico fueron bajas durante cada intervalo de dosificación. En el cuarto intervalo de dosificación, las concentraciones medias de fósforo sérico fluctuaron entre una concentración máxima ($3,03 \pm 0,42$ mg/dL) y residual ($2,27 \pm 0,32$ mg/dL) con una diferencia de $0,76$ mg/dL (33%). La variabilidad intersujeto también fue baja para la concentración de fósforo sérico. En el cuarto intervalo de

dosificación, la variación entre sujetos de los niveles de fósforo sérico fue solo de 14% para las concentraciones máxima y residual ($= DT / \text{media} \times 100\%$; $0,42/3,03 \times 100\%$).

5 *Relación entre tasa de reabsorción tubular renal máxima de fosfato y tasa de filtración glomerular*

Los valores de TmP/GFR medios para sujetos tratados con múltiple dosis de KRN23 se resumen en la tabla 7 a continuación y se representan gráficamente en la FIG. 2.

10 **Tabla 7. Nivel de TmP/GFR Medio($\pm$ DT) y AUC de cambio de TmP/GFR con respecto al Inicio en sujetos tratados con KRN23 (Conjunto de Análisis de Eficacia)**

Intervalo de dosificación ^a	Niveles de TmP/GFR			AUC _n o AUC _{último} de cambio de TmP/GFR con respecto al Inicio Media (DT), (mg.día/dL)
	Día 0 (Predosis) ^b medio (DT), mg/dL	Tiempo hasta alcanzar Nivel máximo ^c	Nivel máximo medio (DT), mg/dL	
1	1,60(0,36), n=27	Día 7	1,93(0,45), n=25	5,23(6,12), n=27
2	1,68(0,35), n=27	Día 7	2,29(0,47), n=27	8,79(6,67), n=27
3	1,79(0,35), n=27	Día 7	2,63(0,61), n=27	17,66(9,48), n=27
4	2,05(0,34), n=27	Día 7	2,97(0,67), n=26	28,55(13,40), n=26
Total	NA	NA	NA	68,42(37,96), n=27

AUC_n= área bajo la curva de tiempo de concentración para el cambio con respecto al Inicio en TmP/GFR durante el intervalo de dosificación nth (n=1, 2, 3 o 4); AUC_{último}= AUC para el cambio con respecto al Inicio en TmP/GFR desde el Día 0 hasta el Día 120 (o retiro temprano); NA= no aplicable; DT= desviación típica; TmP/GFR= relación entre tasa de reabsorción tubular renal máxima de fosfato y tasa de filtración glomerular.

a: Intervalo de dosificación 1= Visita 2 a Visita 8; Intervalo de dosificación 2= Visita 8 a Visita 14; Intervalo de dosificación 3=Visita 14 a Visita 20; Intervalo de dosificación 4= Visita 20 a Visita 26; Total= Visita 2 a Visita 26.

b: Día 26 del intervalo de dosificación previo para los Intervalos de Dosificación 2, 3 y 4.

c: Tiempo hasta alcanzar el TmP/GFR medio máximo con respecto al Día 0 de cada intervalo de dosificación.

Durante cada uno de los 4 intervalos de dosificación, el TmP/GFR aumentó hasta un nivel máximo el Día 7 y luego disminuyó antes de la siguiente dosificación; los niveles
5 predosis y posdosis aumentaron a medida que las dosis aumentaban durante el período de tratamiento de 120 días. A medida que las dosis aumentaban del primero al cuarto intervalo de dosificación, el TmP/GFR máximo medio aumentó de $1,93 \pm 0,45$ mg/dL hasta $2,97 \pm 0,67$ mg/dL, el TmP/GFR medio
10 antes de dosificación aumentó de $1,60 \pm 0,36$ a $2,05 \pm 0,34$ mg/dL y el AUC_n media aumentó de $5,23 \pm 6,12$ mg·día/dL a $28,55 \pm 13,40$ mg·día/dL.

Se presentan diagramas de dispersión de AUC_{último} y AUC_n para fósforo sérico con respecto a AUC_{último} para TmP/GFR en la FIG.
15 3. El fósforo sérico y el TmP/GFR estuvieron correlacionados linealmente (correlación de Pearson = 0,828 y 0,900, respectivamente).

El AUC_{último} para el cambio de fósforo sérico con respecto al Inicio ($63,59 \pm 31,58$ mg·día/dL) y el AUC_{último} para el
20 cambio de TmP/GFR con respecto al Inicio ($68,42 \pm 37,96$ mg·día/dL) fueron similares.

Los valores medios de TmP/GFR calculados utilizando la ecuación indicada en la literatura con respecto a los valores medios de TmP/GFR leídos manualmente a partir del nomograma

se muestran en la FIG. 4. El alto coeficiente de correlación (correlación de Pearson = 0,9963) muestra que el uso de TmP/GFR calculado es comparable con el TmP/GFR leído manualmente a partir del nomograma. Por lo tanto, en este informe se presentan los valores de TmP/GFR calculados. Para el 1 sujeto tratado con placebo en el subestudio en huesos, los niveles de TmP/GFR permanecieron esencialmente sin cambios con respecto al Inicio (1,3 mg/dL) hasta el final del estudio (Visita 26) (1,6 mg/dL) con niveles posdosis que variaban de 1,3 a 1,8 mg/dL.

1,25-dihidroxitamina D

Los niveles de 1,25(OH)₂D en suero medios para sujetos tratados con KRN23 se representan gráficamente en FIG. 5. Durante cada uno de los 4 intervalos de dosificación, los niveles de 1,25(OH)₂D en suero medios aumentaron hasta un nivel máximo el Día 3 o el Día 7 y luego volvieron a aproximarse al nivel del inicio antes de la siguiente dosificación; los niveles predosis y posdosis aumentaron a medida que las dosis aumentaban durante el período de tratamiento de 120 días. A medida que las dosis aumentaban del primero al cuarto intervalo de dosificación, los niveles máximos medios de 1,25(OH)₂D en suero aumentaron de $53,1 \pm 25,44$ hasta $94,1 \pm 45,99$ pg/mL, los niveles medios de

1,25(OH)₂D en suero antes de cada dosificación aumentaron de 36,6 ± 14,25 a 43,8 ± 13,72 pg/mL y el AUC_n media aumentó de 144,81 ± 209,12 a 1015,61 ± 483,10 pg·día/mL, véase Tabla 8:

5 **Tabla 8. Niveles Medios(±DT) de 1,25(OH)₂D y AUC de cambio de 1,25(OH)₂D con respecto al Inicio en sujetos tratados con KRN23(Conjunto de Análisis de Eficacia)**

Intervalo de dosificación ^a	Niveles de 1,25(OH) ₂ D			AUC _n o AUC _{último} de cambio de 1,25(OH) ₂ D con respecto al Inicio Media(DT), (pg.día/mL)
	Día 0 (Predosis) Media(DT), pg/mL	Tiempo hasta alcanzar nivel máximo ^b	Nivel máximo medio (DT), pg/mL	
1	36,6(14,25), n=24	Día 3	53,1(25,44), n=27	144,81(209,12), n=24
2	37,1(16,08), n=24	Día 3	73,8(32,24), n=27	448,25(244,32), n=24
3	35,6(15,55), n=26	Día 7	91,9(47,12), n=27	843,15(428,67), n=24
4	43,8(13,72), n=23	Día 3	94,1(45,99), n=26	1015,61(483,10), n=23
15 Total	NA	NA	NA	2441,98(1130,66), n=24
1,25(OH)₂D= 1,25-dihidroxivitamina D; AUC_n= área bajo la curva de tiempo de concentración para el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo sérico durante el intervalo de dosificación nth (n= 1, 2, 3 o 4); AUC_{último}= AUC para el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo sérico desde el Día 0 hasta el Día 120 (o retiro temprano); NA= no aplicable; DT= desviación típica. a: Intervalo de dosificación 1= Visita 2 a Visita 8; Intervalo de dosificación 2= Visita 8 a Visita 14; Intervalo de dosificación 3=Visita 14 a Visita 20; Intervalo de dosificación 4= Visita 20 a Visita 26; Total= Visita 2 a Visita 26. b: Tiempo hasta alcanzar el nivel de 1,25(OH)₂D máximo medio con respecto al Día 0 de cada intervalo de dosificación.				

Para el 1 sujeto tratado con placebo en el subestudio en

huesos, los niveles de 1,25(OH)2D permanecieron esencialmente sin cambios con respecto al Inicio (67 pg/mL) hasta el final del estudio (Visita 26) (53,0 pg/,L) con niveles posdosis que variaban de 46 a 70 mg/dL.

5 Otros resultados farmacodinámicos:

Los valores medios en los niveles de FGF23 intacto en suero al inicio se resumen en la tabla 9 a continuación. Se produjo un diagrama de dispersión de concentración de fósforo individual con respecto a niveles de FGF23 intacto al inicio y no se observó ninguna correlación entre estos 2 parámetros iniciales (no se muestran los datos).

Tabla 9. Resumen de FGF23 intacto total por Visita/Día
Conjunto de Análisis de Eficacia

Visita (Día) / Día relativo	FGF23 intacto total (pg/mL)				Cambio (pg/mL) con respecto al Inicio			
	Subestudio en huesos				Subestudio en huesos			
	Tratamiento Sin enmasc. KRN23	KRN23	Placebo	Total KRN23	Tratamiento Sin enmasc. KRN23	KRN23	Placebo	Total KRN23
Visita2 (D0) / 0								
N	19	0	0	19				
Media	120,16			120,16				
Mediana	92,40			92,40				
Desv. Tip.	93,921			93,921				
Rango (Min-Max)	(35,3,344,0)			(35,3,344,0)				
Visita7 (D26) / 26								
N	26	1	0	27	19	0	0	19
Media	10130,38	9440,00		10104,81	9716,68			9716,68
Mediana	7950,00	9440,00		8060,00	8041,90			8041,90
Desv. Tip.	7212,678	NA		7073,861	5518,061			5518,061
Rango (Min-Max)	(2380,0,35900,0)	(9440,0,9440,0)		(2380,0,35900,0)	(2287,6,22081,0)			(2287,6,22081,0)
Visita13 (D54) / 26								
N	26	1	1	27	19	0	0	19
Media	30757,31	23600,00	154,00	30492,22	28931,95			28931,95
Mediana	22150,00	23600,00	154,00	22200,00	21940,00			21940,00
Desv. Tip.	24415,669	NA	NA	23981,124	18107,723			18107,723
Rango (Min-Max)	(5790,0,121000,0)	(23600,0,23600,0)	(154,0,154,0)	(5790,0,121000,0)	(5748,9,70146,0)			(5748,9,70146,0)
Visita19 (D82) / 26								
N	26	1	1	27	19	0	0	19
Media	70794,23	82100,00	40,00	71203,33	64200,37			64200,37
Mediana	63350,00	82100,00	40,00	68200,00	68131,90			68131,90
Desv. Tip.	56631,443	NA	NA	55574,383	33563,920			33563,920
Rango (Min-Max)	(9990,0,305000,0)	(82100,0,82100,0)	(40,0,40,0)	(9990,0,305000,0)	(9930,9,121890,0)			(9930,9,121890,0)
Visita25 (D110) / 26								
N	25	1	1	26	18	0	0	18
Media	126924,00	10500,00	37,60	122446,15	124404,16			124404,16
Mediana	113000,00	10500,00	37,60	106500,00	116915,90			116915,90
Desv. Tip.	77668,008	NA	NA	79450,333	61054,947			61054,947
Rango (Min-Max)	(22100,0,391000,0)	(10500,0,10500,0)	(37,6,37,6)	(10500,0,391000,0)	(22040,9,247681,0)			(22040,9,247681,0)
Fin de estudio-Visita								
N	25	1	1	26	18	0	0	18
Media	105234,40	78200,00	36,00	104194,62	112746,38			112746,38
Mediana	96400,00	78200,00	36,00	94800,00	106915,90			106915,90
Desv. Tip.	66001,220	NA	NA	64884,702	69965,725			69965,725
Rango (Min-Max)	(3860,0,259000,0)	(78200,0,78200,0)	(36,0,36,0)	(3860,0,259000,0)	(3808,4,258890,0)			(3808,4,258890,0)
EarlyWithdrawal								
N	1	0	0	1	1	0	0	1
Media	3190,00			3190,00	3132,20			3132,20
Mediana	3190,00			3190,00	3132,20			3132,20
Desv. Tip.	NA			NA	NA			NA
Rango (Min-Max)	(3190,0,3190,0)			(3190,0,3190,0)	(3132,2,3132,2)			(3132,2,3132,2)

Los niveles de FGF23 total y sin unir en suero medios en el tiempo para los sujetos tratados con KRN23 se resumen en las
5 Tablas 10 y 11 a continuación, respectivamente.

Las concentraciones predosis del FGF23 total aumentaron con la cantidad de dosis de KRN23 y alcanzaron sus niveles máximos después del cuarto intervalo de dosificación (Día 110, 26 días después de la última dosis). A continuación, se
10 observó una tendencia decreciente al final del estudio (Día 120, 36 días después de la última dosis) (FIG. 6). El FGF23 total fue $120,2 \pm 93,9$ pg/mL al Inicio y aumentó hasta 122446 ± 79450 pg/mL el Día 110. La concentración predosis de FGF23 sin unir siguió un patrón similar que el FGF23 total y
15 pareció insignificante en comparación con el FGF23 total cuando se graficaron en la misma escala (FIG. 6). El FGF23 sin unir fue 100 ± 58 pg/mL al Inicio y aumentó hasta 7024 ± 5035 pg/mL el Día 110. Aunque el FGF23 sin unir aumentó después de la dosificación de KRN23, fue solamente una
20 pequeña fracción del FGF23 total (5,74% el Día 110).

Tal como se esperaba para el 1 sujeto en el grupo placebo, el FGF23 sin unir se mantuvo esencialmente desde la predosis (62,7 pg/mL) hasta el final del estudio (59,8 pg/mL) y varió de 59,8 a 90,5 pg/mL.

Se produjo un diagrama de dispersión de $AUC_{\text{último}}$ para el cambio en el fósforo sérico al Inicio con respecto al FGF23 intacto al Inicio y no hubo correlación entre el $AUC_{\text{último}}$ para el fósforo sérico y el FGF23 intacto al inicio (correlación de Pearson = 0,0943).

No se observaron tendencias para valores medios en el tiempo para sujetos tratados con KRN23 para los siguientes parámetros PD: 25(OH)D, calcio total, calcio ionizado, calcitonina y iPTHin en suero, o para los otros parámetros PD en la orina, incluidos TRP en orina a 2 horas, relación de calcio/creatinina en orina a 2 horas, FECa en orina a 2 horas, fósforo en orina a 24 horas, calcio en orina a 24 horas, creatinina en orina a 24 horas, relación calcio/creatinina en orina a 24 horas.

Se observaron el estradiol, la testosterona, la testosterona libre y SHBG medios en el tiempo. No se observaron tendencias para los valores medios en el tiempo en estos parámetros.

Tabla 10. Resumen de FGF23 intacto total por Visita/Día
Conjunto de Análisis de Eficacia

Visita (Día) / Día relativo	FGF23 intacto tota (pg/mL)				Cambio (pg/mL) con respecto al Inicio			
	Tratamiento Sin enmasc. KRN23	Subestudio en huesos		Total KRN23	Tratamiento Sin enmasc. KRN23	Subestudio en huesos		Total KRN23
		KRN23	Placebo			KRN23	Placebo	
Visita2(D0)/0								
N	19	0	0	19				
Media	120,16			120,16				
Mediana	92,40			92,40				
Desv. Tip.	99,921			99,921				
Rango (Min-Max)	(35,3,344,0)			(35,3,344,0)				
Visita7(D26)/26								
N	26	1	0	27	19	0	0	19
Media	10130,38	9440,00		10104,81	9716,68			9716,68
Mediana	7950,00	9440,00		8060,00	8041,90			8041,90
Desv. Tip.	7212,678	NA		7073,861	5518,061			5518,061
Rango (Min-Max)	(2130,0, 35900,0)	(9440,0,9440,0)		(2380,0,35900,0)	(2287,6,22081,0)			(2287,6,22081,0)
Visita13(D54)/26								
N	26	1	1	27	19	0	0	19
Media	30757,31	23600,00	154,00	30492,22	28931,95			28931,95
Mediana	22150,00	23600,00	154,00	22200,00	21940,00			21940,00
Desv. Tip.	24415,669	NA	NA	23981,124	18107,723			18107,723
Rango (Min-Max)	(5790,0, 121000,0)	(23600,0, 23600,0)	(154,0,154,0)	(5790,0, 121000,0)	(5748,9,70146,0)			(5748,9,70146,0)
Visita19(D82)/26								
N	26	1	1	27	19	0	0	19
Media	70784,23	82100,00	40,00	71203,33	64200,37			64200,37
Mediana	63350,00	82100,00	40,00	68200,00	68131,90			68131,90
Desv. Tip.	56631,443	NA	NA	55574,383	33563,920			33563,920
Rango (Min-Max)	(9990,0, 305000,0)	(82100,0, 82100,0)	(40,0,40,0)	(9990,0, 305000,0)	(9930,9, 121890,0)			(9930,9, 121890,0)

Visita (Día) / Día relativo	FGF23 intacto total(pg/mL)				Cambio (pg/mL) con respecto al Inicio			
	Tratamiento Sin enmasc. KRN23	Subestudio en huesos		Total KRN23	Tratamiento Sin enmasc. KRN23	Subestudio en huesos		Total KRN23
		KRN23	Placebo			KRN23	Placebo	
Visita25(D110)/26								
N	25	1	1	26	18	0	0	18
Media	126924,00	10500,00	37,60	122446,15	124404,16			124404,16
Mediana	113000,00	10500,00	37,60	106500,00	116915,90			116915,90
Desv. Tip.	77668,008	NA	NA	79450,333	61054,947			61054,947
Rango (Min-Max)	(22100,0, 391000,0)	(10500,0, 10500,0)	(37,6,37,6)	(10500,0, 391000,0)	(22040,9, 247681,0)			(22040,9, 247681,0)
Fin de estudio-Visita 26(D120)								
N	25	1	1	26	18	0	0	18
Media	105234,40	78200,00	36,00	104194,62	112746,38			112746,38
Mediana	96400,00	78200,00	36,00	94800,00	106915,90			106915,90
Desv. Tip.	66001,220	NA	NA	64884,702	69965,725			69965,725
Rango (Min-Max)	(3860,0, 259000,0)	(78200,0, 78200,0)	(36,0,36,0)	(3860,0, 259000,0)	(3808,4, 258890,0)			(3808,4, 258890,0)
Retiro temprano								
N	1	0	0	1	1	0	0	1
Media	3190,00			3190,00	3132,20			3132,20
Mediana	3190,00			3190,00	3132,20			3132,20
Desv. Tip.	NA			NA	NA			NA
Rango (Min-Max)	(3190,0, 3190,0)			(3190,0,3190,0)	(3132,2,3132,2)			(3132,2,3132,2)

Tabla 11. Resumen de FGF23 intacto sin unir por Visita/Día
Conjunto de Análisis de Eficacia

Visita/Día	FGF23 intacto sin unir (pg/mL)				Cambio (pg/mL) con respecto al Inicio			
	Subestudio en huesos				Subestudio en huesos			
	Tratamiento Sin enmasc. KRW23	KRW23	Placebo	Total KRW23	Tratamiento Sin enmasc. KRW23	KRW23	Placebo	Total KRW23
Visita2(D0)/0								
N	25	1	1	26				
Media	102,3	53,6	62,7	100,4				
Mediana	82,1	53,6	62,7	81,9				
Desv. Típ.	58,06	NA	NA	57,68				
Rango (Min-Max)	(46,268)	(54,54)	(63,63)	(46,268)				
Visita7(D26)/26								
N	26	1	1	27	25	1	1	26
Media	589,1	935,0	77,8	601,9	359,2	881,4	15,1	379,3
Mediana	463,5	935,0	77,8	467,0	391,5	881,4	15,1	392,3
Desv. Típ.	676,23	NA	NA	666,43	160,99	NA	NA	188,07
Rango (Min-Max)	(134,3780)	(935,935)	(78,78)	(134,3780)	(62,724)	(881,881)	(15,15)	(62,881)
Visita13(D54)/26								
N	26	1	1	27	25	1	1	26
Media	1347,5	11500,0	75,2	1723,5	1050,3	11446,4	12,5	1450,2
Mediana	1075,0	11500,0	75,2	1110,0	966,6	11446,4	12,5	1005,8
Desv. Típ.	1171,18	NA	NA	2266,37	608,35	NA	NA	2124,18
Rango (Min-Max)	(345,6220)	(11500,11500)	(75,75)	(345,11500)	(284,2624)	(11446,11446)	(12,12)	(284,11446)
Visita19(D82)/26								
N	26	1	1	27	25	1	1	26
Media	4053,3	36200,0	72,6	5272,8	3136,4	36146,4	9,9	4406,0
Mediana	3235,0	36200,0	72,6	3290,0	3114,9	36146,4	9,9	3172,1
Desv. Típ.	4577,20	NA	NA	7638,58	1554,23	NA	NA	6650,49
Rango (Min-Max)	(456,25200)	(36200,36200)	(73,73)	(456,36200)	(364,6574)	(36146,36146)	(10,10)	(364,36146)
Visita25(D110)/26								
N	25	1	1	26	24	1	1	25
Media	6812,8	12300,0	90,5	7023,8	5910,2	12246,4	27,8	6163,7
Mediana	5860,0	12300,0	90,5	5920,0	5518,4	12246,4	27,8	5786,6
Desv. Típ.	5020,43	NA	NA	5035,33	3080,70	NA	NA	3271,26
Rango (Min-Max)	(1460,26000)	(12300,12300)	(91,91)	(1460,26000)	(1368,12767)	(12246,12246)	(28,28)	(1368,12767)
Fin de estudio-Visita26(D120)								
N	25	1	1	26	24	1	1	2
Media	5834,4	3470,0	59,8	5743,5	5361,9	3416,4	-2,9	5284,1
Mediana	6160,0	3470,0	59,8	5790,0	5713,0	3416,4	-2,9	5339,4
Desv. Típ.	4043,21	NA	NA	3988,56	3637,57	NA	NA	3592,18
Rango (Min-Max)	(252,16000)	(3470,3470)	(60,60)	(252,16000)	(184,15744)	(3416,3416)	(-3,-3)	(184,15744)
Retiro temprano								
N	1	0	0	1	1	0	0	1
Media	213,0			213,0	130,9			130,9
Mediana	213,0			213,0	130,9			130,9
Desv. Típ.	NA			NA	NA			NA
Rango (Min-Max)	(213,213)			(213,213)	(131,131)			(131,131)

5

10

15

20

Parámetros de formación de huesos

También se observaron los niveles de BALP, P1NP y osteocalcina en suero medios en el tiempo. Los niveles de P1NP medios aumentaron de $64,1 \pm 30,7$ ng/mL el Día 0 hasta $123,0 \pm 75,1$ ng/mL al final del estudio (Día 120). También se observaron aumentos numéricos para osteocalcina sérica (de $29,3 \pm 17,7$ ng/mL el Día 0 hasta $42,3 \pm 25,7$ ng/mL al final del estudio, Día 120) y BALP (de $28,3 \pm 12,8$ mcg/L el Día 0 a $38,1 \pm 23,3$ mcg/L al final del estudio, Día 120).

Para el 1 sujeto tratado con placebo en el subestudio de huesos, los valores medios para BALP y P1NP en suero permanecieron esencialmente sin cambios en el tiempo (BALP estuvo en $20,7$ mcg/L el Día 0 y $20,6$ mcg/L al final del estudio, el Día 120; y la osteocalcina estuvo en $17,1$ ng/mL el Día 0 y $19,4$ ng/mL al final del estudio, el Día 120). Se observaron disminuciones numéricas en los niveles de P1NP en suero medios (de $91,0$ ng/mL el Día 0 a $60,0$ ng/mL al final del estudio, el Día 120).

Parámetros de resorción ósea

Se observaron los valores de CTx y relación NTx/creatinina en suero medios en el tiempo. Se observaron aumentos numéricos en el CTx en suero (de $752,0 \pm 389,5$ pg/mL el Día 0 a $947,3 \pm 504,7$ pg/mL al final del estudio, el Día 120) y la relación

NTx/creatinina en suero (de $41,8 \pm 20,3$ nmol·BCE/mmol el Día 0 a $56,9 \pm 34,0$ nmol·BCE/mmol al final del estudio, el Día 120).

Para el sujeto 1 tratado con placebo en el subestudio en
5 huesos, el CTx permaneció esencialmente sin cambios en el
tiempo (613,0 pg/mL el Día 0 y 570,0 pg/mL al final del
estudio, el Día 120). Se observaron aumentos numéricos en la
relación NTx/creatinina (de 25,0 nmol·BCE/mmol el Día 0 a
40,0 nmol·BCE/mmol al final del estudio, el Día 120).

10

Resultados farmacocinéticos

Análisis no compartimental

Se proporciona un resumen de las dosis totales administradas
en cada intervalo de dosificación en la Tabla 12 a
15 continuación.

20

**Tabla 12. Dosis total de administración de fármaco del
estudio (mg/kg) por intervalo de dosificación
(Conjunto de Análisis de Seguridad)**

	Sin enmascaramiento	Subestudio en huesos		Total
		KRN23	Placebo	KRN23
Dosis 1				
N	27	1	1	28
Media (DT)	0,050(0)	0,050(NA)	0	0,050(0)
Mediana	0,050	0,050(NA)	0	0,050
Rango	(0,05, 0,05)	(0,05, 0,05)	(0,0)	(0,05, 0,05)
Dosis 2				
N	26	1	1	27
Media (DT)	0,10(0,01)	0,10(NA)	0	0,10(0,01)
Mediana	0,10	0,10	0	0,10
Rango	(0,05, 0,10)	(0,10, 0,10)	(0,0)	(0,05, 0,10)
Dosis 3				
N	26	1	1	27
Media (DT)	0,28(0,06)	0,30(NA)	0	0,28(0,06)
Mediana	0,30	0,30	0	0,30
Rango	(0,05, 0,30)	(0,30, 0,30)	(0,0)	(0,05, 0,30)
Dosis 4				
N	25	1	1	26
Media (DT)	0,48(0,16)	0,30(NA)	0	0,48(0,16)
Mediana	0,60	0,30	0	0,60
Rango	(0,10, 0,60)	(0,30, 0,30)	(0,0)	(0,10, 0,60)

DT= desviación típica.

15 Las concentraciones de KRN23 en suero medias se representan gráficamente en la FIG. 7. Se proporciona un resumen de los parámetros PK para KRN23 en las Tabla 13 y Tabla 14 a continuación.

20 **Tabla 13. Escalamiento intradosis (Dosis inicial 0,05mg/kgSC) de KRN23 cada 28 día a sujetos adultos con XLH (Conjunto de Análisis Farmacocinético)**

	Intervalo de dosificación ^a	Estadística	$t_{max,n}$	$C_{max,n}$	$C_{min,n}$	AUC_n
			(día)	(ng/mL)	(ng/mL)	(ng.día/mL)
5	1	N	27	27	27	27
		Media (DT)	8,50(2,90)	386 (145)	147 (53,4)	7260(2630)
		Min, Max	2,98, 14,9	193, 688	60,7, 253	2980, 13200
		Mediana	7,94	374	139	6560
		CV%	34	38	36	36
10	2	N	27	27	27	27
		Media (DT)	7,04(1,71)	947 (307)	364 (130)	17900(5310)
		Min, Max	3,95, 11,9	356, 1710	119, 662	6500, 28600
		Mediana	6,96	870	373	16900
		CV%	24	32	36	30
	3	N	27	27	27	27
		Media (DT)	7,45(3,83)	2490(843)	1080(587)	50900(18000)
		Min, Max	1,96, 19,9	421, 3950	104, 2560	9500, 98000
		Mediana	6,95	2540	1080	48300
		CV%	51	34	54	35
	4	N	26	26	26	26
		Media (DT)	7,00(3,22)	4750(1800)	1470(827)	109000(40600)
		Min, Max	2,87, 15,0	1030, 8110	166, 2890	23800, 178000
		Mediana	6,89	5030	1310	103000
		CV%	46	38	56	37

AUC_n = área debajo de la curva de tiempo de concentración en suero en el intervalo de dosificación n-th; $C_{max,n}$ =
 15 concentración en suero máxima durante el intervalo de dosificación; $C_{min,n}$ = concentración en suero observada predosis al final del intervalo de dosificación n-th; CV%= coeficiente de variación, porcentaje; Max= máxima; Min= mínima; DT= desviación típica ; $t_{max,n}$ = tiempo de concentración en suero
 20 máxima observada durante el intervalo de dosificación n-th; XLH= hipofosfatemia ligada al cromosoma X.

Tabla 14. Resumen de parámetros farmacocinéticos para KRN23 luego del escalamiento intradosis (Dosis inicial 0,05 mg/kg)

Administraciones subcutáneas de KRN23 cada 28 días a sujetos adultos con XLH (Datos de todos los 4 intervalos de dosificación)(Conjunto de Análisis Farmacocinético)

5

Estadística	AUC _{último} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$) ^a	AUC _{inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$) ^b	t _{1/2} (día)	CL/F ($\text{mL}/\text{hr}/\text{kg}$) ^c	Vz/F (mL/kg) ^d	t _{último}
N	27	27	27	27	27	27
Media	4340	5240	16,4	0,186	98,3	122
DT	1320	1880	5,83	0,0780	34,6	2,79
Min	1340	1570	5,58	0,0835	51,2	116
Mediana	4520	5170	15,8	0,161	86,1	122
Max	6450	8990	29,5	0,472	212	125
CV%	30	36	35	42	35	2

- 10 AUC_{último}= área debajo de la curva de tiempo de concentración en suero desde el tiempo 0 hasta el tiempo de la última concentración medible en todos los intervalos de dosificación (Día 120 o retiro temprano) determinada utilizando la regla trapezoidal lineal; AUC_{inf}= área debajo de la curva de tiempo de
- 15 concentración en suero desde 0 hasta infinito en todos los intervalos de dosificación determinada utilizando la regla trapezoidal lineal; t_{1/2}= semivida de eliminación terminal después de la 4ta dosificación; CL/F= aclaramiento de suero aparente; t_{1/2}=semivida de eliminación terminal después del
- 20 cuarto intervalo de dosificación; Vz/F= volumen de distribución aparente; t_{último}= el tiempo de la última concentración medible en todos los intervalos de dosificación.
- a: AUC_{inf} se calculó como AUC_{última}+C_{última}/λZ_n donde C_{última} es la última concentración medible en todos los intervalos de

dosificación y λ_{zn} es la constante de tasa asociada con la fase de eliminación. b: $t_{1/2}$ se calculó como $\ln 2 / \lambda_{zn}$.

c: CL/F se calculó como la Dosis total en 120 días de tratamiento/ AUC_{inf} . d: V_z/F se calculó como CL/F y $t_{1/2}$.

5

Los valores de t_{max} medios fueron similares en los 4 intervalos de dosificación y variaron de 7,00 a 8,50 días. Los valores de t_{max} individuales variaron de 1,96 a 19,9 días en todos los intervalos de dosificación. Los valores de

10 $C_{max,n}$, $C_{min,n}$ y AUC_n medios aumentaron proporcionalmente con aumentos en la dosis en los Intervalos de dosificación 1 a 4. La variabilidad intersujeto para $AUC_{última}$ fue de 30%. La variabilidad intersujeto de $C_{max,n}$ y $C_{min,n}$ varió de 32% a 38% y de 36% a 56%, respectivamente, en todos los 4

15 intervalos de dosificación. El valor de $t_{1/2}$ medio para KRN23 después de la última dosis en el Intervalo de Dosificación 4 fue $16,4 \pm 5,8$ días (los valores individuales variaron de 5,58 a 29,5 días). CL/F y V_z/F medios para KRN23 calculados para los 4 intervalos fueron $0,186 \pm 0,078$ mL/hr/kg y $98,3 \pm$

20 $34,6$ mL/kg, respectivamente.

Relaciones farmacocinéticas y farmacodinámicas:

Correlación PK-PD para fósforo sérico: Las gráficas de AUC_n y

AUC_{última} de cambio de fósforo sérico con respecto al inicio con respecto a AUC_n y AUC_{último} de KRN23, respectivamente, se muestran en la FIG. 8. El AUC_n para el cambio de fósforo sérico con respecto al inicio aumentó linealmente con el aumento de AUC_n de KRN23 ($r = 0,612$). El AUC_{último} para el cambio de fósforo sérico con respecto al inicio aumentó linealmente con el aumento de AUC_{último} de KRN23 ($r = 0,680$).

Correlación PK-PD para TmP/GFR: Las gráficas de AUC_n y AUC_{última} de cambio de TmP/GFR con respecto al inicio con respecto a AUC_n y AUC_{último} de KRN23, respectivamente, se muestran en la FIG 9. El AUC_n para el cambio de TmP/GFR con respecto al inicio aumentó linealmente con los aumentos en AUC_n de KRN23 ($r = 0,810$). El AUC_{último} para el cambio de fósforo sérico con respecto al inicio aumentó linealmente con los aumentos en AUC_{último} de KRN23 ($r = 0,698$).

Correlación PK-PD para 1,25-dihidroxitamina D: Las gráficas de AUC_n y AUC_{última} de cambio de 1,25(OH)₂D con respecto al inicio con respecto a AUC_n y AUC_{último} de KRN23, respectivamente, se muestran en la FIG 10. El AUC_n para el cambio de 1,25(OH)₂D con respecto al inicio aumentó linealmente con el aumento en AUC_n de KRN23 ($r = 0,417$). El AUC_{última} para el cambio de 1,25(OH)₂D con respecto al inicio aumentó linealmente con el aumento en AUC_{última} de KRN23 ($r = 0,272$).

Correlaciones PK-PD para otros marcadores PD: Las gráficas de

AUC individual para otros parámetros PD con respecto a AUC de KRN23 no exhibieron correlación; estos incluyeron mediciones en suero de albúmina, calcio ionizado, calcio corregido, calcitonina, iPTH, creatinina, calcio total, 25(OH)D, NTx, estradiol, testosterona libre, testosterona total, SHBG; mediciones en orina a 24 horas de calcio, relación calcio/creatinina, creatinina, fosfato; y mediciones en orina a 2 horas de creatinina, calcio aleatorio, relación calcio/creatinina, FECa; fósforo y TRP. Estos resultados sugieren que la administración de múltiples dosis de KRN23 no afectó a ninguno de estos parámetros PD.

Correlaciones PK-PD para marcadores óseos: Los diagramas de

dispersión de AUC para los marcadores de osificación (BALP, P1NP y osteocalcina) y el cambio de los marcadores de resorción ósea (CTx y relación NTx/creatinina) con respecto al Inicio con respecto al AUC de KRN23 exhibieron tendencias positivas de aumento luego del tratamiento con KRN23. Se proporcionan más detalles en el informe PK-PD.

Los resultados de la población de análisis PK-PD entre el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo y la concentración de KRN23 se resumen en la tabla 15 a continuación y en la FIG. 11.

Tabla 15. Resultados de modelos de población PK-PD para la

relación entre los cambios en el fósforo sérico con respecto al Inicio y la concentración de KRN23 en sujetos adultos con XLH tratados con KRN23 (Conjunto de Análisis Farmacocinético)

5

Modelo(MOF)	Parámetros	Valores típicos	BSV(%)
Modelo Emax (CKRN23 · Emax)/(CE ₅₀ +CKRN23) (MOF= 236,876)	CE ₅₀ (ng/mL)	2742	61,3%
	Emax(mg/dL)	1,788	11,0%
	Error aditivo residual (ng/mL)	0,278	
Modelo lineal $\Delta\text{Phos}=\alpha\cdot\text{CKRN23}+\beta$ (MOF= 273,075)	α	0,138	106%
	β	$2,22\times 10^{-4}$	36,8%
	Error aditivo residual (ng/mL)	0,277	

- 10 α = Pendiente; β = intercepto; BSV= variabilidad entre sujetos;
 ΔPhos = cambio de fósforo sérico con respecto al Inicio;
CKRN23= concentración de KRN23; EC₅₀= concentración de fármaco
cuando se alcanzó el 50% de E_{max}; E_{max}= efecto máximo; MOF=
valor mínimo de función objetiva; PD= farmacodinámico; PK=
15 farmacocinético.

La relación PK-PD de la concentración de KRN23 en suero y el aumento en los niveles de fósforo sérico se describió mediante un modelo Emax. El modelo Emax pareció ser mejor que
20 el modelo lineal tal como se indicó por un MOF bajo. El aumento en el efecto máximo en el nivel de fósforo sérico fue de 1,788 mg/dL (Emax). La concentración de KRN23 al alcanzar el 50% del efecto máximo (EC50) fue de 2742 ng/mL.

El resumen de las dosis de KRN23 en cada ciclo de dosificación y las dosis totales administradas se proporcionan en la Tabla 16 a continuación.

Tabla 16 Resumen de datos de dosis para KRN23 luego de escalamiento de dosis intrasujeto de administraciones subcutáneas de KRN23 cada 28 días a sujetos adultos con hipofosfatemia ligada al cromosoma X

	Estadística	Dosis 1 (mg/kg)	Dosis 2 (mg/kg)	Dosis 3 (mg/kg)	Dosis 4(mg/kg)	Dosis total (mg/kg)
10	N	27	27	27	26	27
	Media	0,05	0,10	0,28	0,48	0,89
	DT	0,00	0,01	0,06	0,16	0,22
	Min	0,05	0,05	0,05	0,10	0,25
	Max	0,05	0,10	0,30	0,60	1,05
15	<u>CV%</u>	<u>0</u>	<u>10</u>	<u>21</u>	<u>34</u>	<u>25</u>

Las concentraciones en suero medias de KRN23 se ilustran en la FIG 7. El resumen de parámetros PK para KRN23 se proporciona en la Tabla 13 a la Tabla 14. El resumen de parámetros PK con conversión de unidades de proporciona en la Tabla 17.

Tabla 17. Resumen de parámetros farmacocinéticos (con Conversión de unidades) para KRN23 luego de escalamiento de

dosis intrasujeto de administraciones subcutáneas de KRN23 cada 28 días a sujetos adultos con hipofosfatemia ligada al cromosoma X (Datos de los 4 Ciclos de dosificación)

Estadística	$AUC_{\text{último}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	AUC_{inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	$t_{1/2}$ (hr)	CL/F (mL/hr/kg)	V_z/F (mL/kg)	$t_{\text{último}}$ (hr)
N	27	27	27	27	27	27
Media	4340	5240	394	0.186	98.3	2920
DT	1320	1880	140	0.0780	34.6	67.0
Min	1340	1570	134	0.0835	51.2	2780
Mediana	4520	5170	380	0.161	86.1	2930
Max	6450	8990	708	0.472	212	3000
CV%	30	36	35	42	35	2

10 Nota: el $AUC_{\text{última}}$ se calculó como AUC en 120 días; AUC_{inf} se calculó como $AUC_{\text{último}} + C_{\text{último}}/\lambda_z$; CL/F se calculó como la Dosis Total en 120 días/ AUC_{inf} ; V_z/F se calculó a partir de CL/F y $t_{1/2}$.

15 Los 27 sujetos recibieron una dosis inicial de KRN23 de 0,05 mg/kg durante el Ciclo de Dosificación 1; 26 de los 27 sujetos recibieron una dosis de 0,1 mg/kg en el Ciclo de Dosificación 2; y 25 de los 27 sujetos recibieron una dosis de KRN23 de 0,3 mg/kg en el Ciclo de Dosificación 3. Durante
20 el Ciclo de Dosificación 4, 16 de los 26 sujetos recibieron una dosis de 0,6 mg/kg de KRN23, 9 de los 26 sujetos recibieron una dosis de 0,3 mg/kg y 1 de los 26 sujetos recibió una dosis de 0,1 mg/kg. Las dosis de KRN23 medias $\pm$ DT administradas fueron: 0,05 $\pm$ 0,00 mg/kg, 0,10 $\pm$ 0,01 mg/kg,

0,28±0,06 mg/kg y 0,48±0,16 mg/kg durante los Ciclos de Dosificación 1, 2, 3 y 4, respectivamente. La dosis total media±DT en los 4 Ciclos de Dosificación fue 0,89±0,22 mg/kg. Los valores de tmax medios fueron similares en los cuatro
5 ciclos de dosificación y variaron de 7,00 a 8,50 días. Los valores de tmax individuales variaron de 1,96 a 19,9 días en todos los ciclos de dosificación. Los valores de Cmax,n, Cmin,n y AUCn medios aumentaron proporcionalmente con el aumento en la dosis en los Ciclos de dosificación 1 a 4. La
10 variabilidad intersujeto para AUCúltima fue de 30%. La variabilidad intersujeto de Cmax,n y Cmin,n varió de 32% a 38% y de 36% a 56%, respectivamente, en todos los 4 ciclos de dosificación.

El valor de t1/2 medio±DT para KRN23 después de la última
15 dosis en el Ciclo de Dosificación 4 fue 16,4±5,83 días (los valores individuales variaron de 5,58 a 29,5 días). Los valores para CL/F y Vz/F medios±DT para KRN23 calculados para los 4 ciclos fueron 4,48±1,87 mL/día/kg y 98,3±34,6 mL/kg, respectivamente.

20 **Conclusión farmacocinética:**

La exposición PK a KRN23 (evaluada mediante los valores Cmax,n, Cmin,n, AUCn) aumentó con dosis crecientes de forma proporcional a la dosis.

La semivida terminal media de KRN23 fue de 16,4 días (rango:

5,58 a 29,5 días).

Los valores de t_{max} medios fueron similares en los cuatro ciclos y variaron de 7,00 a 8,50 días (rango: 1,96 a 19,9 días).

5 Conclusión de correlación PK-PD:

El AUC_n o $AUC_{último}$ para el cambio con respecto al inicio en el fósforo sérico aumentó linealmente con la exposición PK creciente a KRN23 (AUC_n o $AUC_{último}$).

El AUC_n o $AUC_{último}$ para el cambio con respecto al inicio en
10 TmP/GFR aumentó linealmente con la exposición PK creciente a KRN23 (AUC_n o $AUC_{último}$).

El AUC_n o $AUC_{último}$ para el cambio con respecto al inicio en 1,25-dihidroxi Vitamina D aumentó linealmente con la exposición PK creciente a KRN23 (AUC_n o $AUC_{último}$).

15 No se observó un efecto significativo del tratamiento con KRN23 en el AUC_n o $AUC_{último}$ para el cambio con respecto al inicio en la mayoría de los parámetros PD (albúmina, calcio ionizado, calcio corregido, calcitonina, PTH intacta, creatinina, calcio total, 25-Hidroxi Vitamina D, NTX,
20 estradiol, testosterona libre, testosterona total, SHBG en suero; calcio, relación calcio/creatinina; creatinina, fosfato en 24 horas en orina; creatinina, calcio aleatorio, relación calcio/creatinina, FECa, fósforo, TRP en 2 horas en orina).

Se observaron aumentos en fosfatasa alcalina ósea, CTX, relación NTX/creatinina, osteocalcina, P1NP luego del tratamiento con KRN23 pero la correlación con la exposición a KRN23 fue débil.

5

Ejemplo 2: Segundo estudio clínico en Fase I/II

Diseño del estudio y Metodología: Este es un estudio de extensión de Fase I/II, sin enmascaramiento, de grupo único,
10 con dosis repetidas, en múltiples centros a largo plazo que consta de sujetos con XLH que reúnen las condiciones del primer estudio clínico en Fase I/II descrito anteriormente. El diseño del estudio consistió en 2 períodos: En tratamiento y Seguimiento. Al Inicio, los sujetos se evaluaron para
15 determinar si reunían las condiciones para participar en este estudio. Todos los sujetos que participaron en la porción sin enmascaramiento de KRN23 de este estudio recibieron una dosis inicial de KRN23 basada en sus niveles de fósforo sérico en la visita de fin del estudio (Visita 26, Día 120) del primer
20 estudio en Fase I/II, guiados por un algoritmo de escalamiento de dosis y evaluaciones de seguridad. Durante el período En tratamiento, cada sujeto recibe KRN23 sin enmascaramiento administrado SC una vez cada 28 días (hasta 12 dosis). El posterior escalamiento de dosis intrasujeto se

5 casa en los niveles de fósforo sérico, guiado por el algoritmo de escalamiento de dosis para el estudio y las evaluaciones de seguridad. Durante el período En tratamiento, se sometió a los sujetos a un total de 48 evaluaciones clínicas programadas, de las Visitas 1 - 48. Al menos 12 de estas evaluaciones programadas son necesariamente visitas clínicas, mientras que las restantes 36 visitas pueden llevarse a cabo en la clínica y/o por profesionales de la salud en casa del sujeto. Tras finalizar el período En tratamiento, los sujetos se someten a una visita clínica de final del estudio (Visita 49) y una visita adicional en su hogar o en la clínica (Visita 50) durante el período de Seguimiento. Los sujetos participan durante un total de aproximadamente 13,5 meses: aproximadamente 11 meses (48
10 semanas/336 días) durante el período En tratamiento y aproximadamente 2,5 meses durante el período de Seguimiento. Los sujetos del primer subestudio en huesos en Fase I/II que reunían las condiciones podían participar en la porción de extensión de este subestudio. Los sujetos debían continuar
15 con el mismo régimen recibido en el primer estudio de Fase I/II. El subestudio en huesos se cerró en agosto de 2013 debido a un devengo escaso; no fue posible llevar a cabo los análisis propuestos originalmente. Las evaluaciones de seguridad para el estudio incluyeron monitoreo de eventos
20

adversos emergentes del tratamiento (TEAE), parámetros de seguridad del laboratorio, inmunogenicidad y hallazgos del examen físico.

Los sujetos que cumplieron satisfactoriamente con los
5 criterios de ingreso de ambos estudios fueron admitidos. La población de estudio incluía sujetos masculinos y femeninos con al menos 18 años con diagnóstico clínico documentado de XLH y nivel de factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23) intacto > 30 pg/mL, relación entre tasa de
10 reabsorción máxima tubular renal de fosfato y tasa de filtración glomerular (TmP/GFR) $< 2,0$ mg/dL, tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) ≥ 60 mL/min (utilizando la fórmula Cockcroft-Gault) y nivel de calcio sérico corregido $< 10,8$ mg/dL (si la seroalbúmina es $< 4,0$ g/dL).

15 Cantidad de sujetos (planificada y analizada): Se planificaron hasta 35 sujetos; se seleccionaron 23 sujetos para participar (21 en la porción sin enmascaramiento del estudio; 2 en el subestudio de huesos); todos los sujetos cumplieron con los criterios para participar y participaron en el estudio.

20 Producto de prueba, Dosis y modo de administración, Número de lote: Tratamiento con KRN23 sin enmascaramiento y con KRN23 en el subestudio en huesos: KRN23 para inyección SC, administrado mediante inyección SC a 0,05, 0,10, 0,30, 0,60 o 1,0 mg/kg en el abdomen una vez cada 28 días. (Números de lote: YU008B,

YU008E, YU008F, YU009A, YU009B, YU011A y YU011B). Los sujetos pueden desescalar a 0,03 mg/kg si es necesario.

Agente de comparación, Dosis y modo de administración, Número

de lote: Subestudio de huesos: Placebo de KRN23 para

5 inyección SC, administrado mediante inyección SC en el abdomen una vez cada 28 días. (Número de lote: PYU090908C y PYU120413A).

Duración del tratamiento: La duración del tratamiento en este

estudio fue de hasta aproximadamente 11 meses (48 semanas/336
10 días) durante el período En tratamiento y 2,5 meses en el período de Seguimiento, para un total de aproximadamente 13,5 meses.

Criterios de valoración:

Primarios: Los criterios de valoración primarios se diseñaron

15 para evaluar la seguridad y la eficacia de dosis repetidas de administración SC de KRN23 a través de la evaluación de:

- Cantidad y % de eventos adversos (AE) por gravedad y relación con el producto de la investigación
- Cantidad de cambios clínicamente significativos en los
20 signos vitales, pruebas de laboratorio, exámenes físicos, electrocardiograma (ECG), ecografía renal y tomografía computarizada cardíaca (CT)/puntaje de calcio coronario (CCS) y puntaje de calcio aórtico (ACS)
- Cantidad y % de sujetos con niveles de fósforo sérico

posdosis: $\leq 2,5$ mg/dL; $> 2,5$ mg/dL pero $\leq 3,5$ mg/dL; $> 3,5$ mg/dL pero $\leq 4,5$ mg/dL y $> 4,5$ mg/dL

- Cantidad de sujetos que desarrollaron anticuerpos anti-KRN23

5

Secundarios: Los criterios de valoración secundarios se diseñaron para evaluar los siguientes parámetros por grupo de tratamiento; los cambios se calculan con respecto al Inicio (Visita 2, Día 0 del primer ensayo clínico en Fase I/II):

- 10 • Cambio en los niveles de fósforo sérico
- Cambios en la homeostasis del calcio: 1,25(OH)₂D (1,25-dihidroxi vitamina D), 25(OH)D (25-hidroxi vitamina D), calcio total, calcio ionizado, calcitonina y iPTH (paratirina intacta)
- 15 • Cambios en la relación TmP/GFR, reabsorción tubular de fosfato (TRP), relación calcio/creatinina en orina y excreción fraccional de calcio (FECa), medida en orina de 2 horas
- Cambios en el fosfato urinario, calcio, creatinina y
- 20 relación calcio/creatinina en orina, media en orina de 24 horas
- Cambios en biomarcadores óseos: BALP sérica (fosfatasa alcalina ósea), P1NP (propéptido-N del procolágeno tipo 1), CTx (telopéptido reticulado carboxiterminal del colágeno tipo

1) y osteocalcina y NTx urinario (telopéptido reticulado aminoterminal del colágeno tipo 1)

- Cambio en las hormonas sexuales: estradiol, testosterona, testosterona libre y globulina de unión a hormona sexual (SHBG).

- Caracterización de la población PK de KRN23 a partir de la dosificación acumulada en el primer y segundo ensayos clínicos en Fase I/II

- Cambios en las evaluaciones de QoL en SF-36v2 (Formulario corto de 36 puntos del estudio, Tomo 2) y WOMAC (Índice Western Ontario y McMaster de osteoartritis)

Resumen de resultados: Este resumen del estudio clínico se basa en los datos preliminares disponibles a partir de los datos de la fecha de corte, el 12 de agosto de 2013.

Exposición: Se trató a un total de 22 sujetos con KRN23 (21 en la porción sin enmascaramiento del estudio y 1 en el subestudio de huesos) y 1 sujeto se trató con Placebo en el subestudio de huesos. En el intervalo de dosificación inicial (Intervalo de Dosificación 1), la dosis media de KRN23 fue de $0,541 \pm 0,2039$ mg/kg. En los intervalos de dosificación posteriores, la dosis media de KRN23 aumentó y varió en un rango estrecho ($0,733 \pm 0,2817$ mg/kg a $0,865 \pm 0,2618$ mg/kg). La mayoría de los sujetos tratados con KRN23 (19/22, 86,4%) recibieron todas las 12 dosis planificadas a partir de los

datos de la fecha de corte; el 1 sujeto tratado con Placebo recibió 3 dosis de Placebo a partir de los datos de la fecha de corte.

Población del estudio: Entre los 22 sujetos tratados con KRN23, la mediana de la edad fue de 42,5 años (rango: 20 a 67 años); la mayoría (13/22, 59,1%) eran mujeres y casi todos (21/22, 95,5%) eran blancos/caucásicos, mientras que 1 (4,5%) era negro/Afroamericano/Afrocaribeño. La altura media fue de 148,79 cm (rango: 121,9 a 170,2 cm) y la mediana de peso fue 75,30 kg (rango: 51,3 a 124,3 kg).

Los niveles de fósforo sérico y TmP/GFR al Inicio estuvieron por debajo de límite inferior del rango de referencia normal para todos los sujetos. Al Inicio, el nivel medio general de 1,25(OH)2D estuvo dentro del rango de referencia normal. Los niveles de FGF23 intacto sin unir al inicio variaron de 54 a 268 pg/mL para sujetos tratados con KRN23.

Resultados de eficacia:

- Al inicio pretratamiento, todos los sujetos exhibieron niveles de fósforo sérico $<2,5$ mg/dL. Luego de la administración de KRN23, el tiempo de efecto PD máximo (pico) se observó el Día 7 y 14. Después de la primera dosis de KRN23, el 77,1% (Día 7) y 81,8% (Día 14) de los sujetos exhibió niveles de fósforo sérico aumentados dentro del rango objetivo de $>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL. Este efecto pico fue

relativamente consistente a lo largo del estudio variando de 45,5% a 81,8%. El porcentaje de sujetos dentro del rango objetivo fue generalmente similar el Día 7 y 14. No se informaron niveles de fósforo sérico $>4,5$ mg/dL para ningún sujeto en ningún punto de tiempo en el estudio.

Resultados de farmacodinamia:

- Durante cada uno de los 12 intervalos de dosificación, las concentraciones medias de fósforo sérico para sujetos tratados con KRN23 aumentaron sustancialmente el Día 7 o 14 y luego disminuyeron pero permanecieron por encima del nivel inicial al final del intervalo de dosificación. Todos los sujetos tuvieron un aumento con respecto al inicio en todas las visitas. La concentración media de fósforo sérico de $1,85 \pm 0,282$ mg/dL en el inicio pretratamiento hasta un nivel máximo de $2,87 \pm 0,392$ mg/dL el Día 14 del Intervalo de Dosis 1, y el nivel máximo permanecieron dentro del rango de $2,71 \pm 0,428$ mg/dL a $2,96 \pm 0,468$ mg/dL en el estudio. El día 25 posdosis, 33%-57% de los sujetos todavía permanecían dentro del rango objetivo ($>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL) y al final de intervalo de dosificación 23,8%-38,1% de los permanecían dentro del rango objetivo ($>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL).

- La TmP/GFR es el mecanismo propuesto mediante el cual la inhibición del exceso de FGF23 mediada por KRN23 aumenta los niveles de fósforo. Los resultados de TmP/GFR siguieron el

mismo patrón que el observado para el fósforo sérico. La TmP/GFR media aumentó desde un nivel inicial pretratamiento de $1,564 \pm 0,3012$ a un rango máximo de $2,408 \pm 0,7205$ mg/dL a $2,921 \pm 0,5990$ mg/dL el Día 14 de cada intervalo de dosificación. Esta magnitud de aumento en la TmP/GFR fue clínicamente significativa y se correlaciona con los aumentos en el fósforo sérico.

- Durante cada uno de los 12 intervalos de dosificación, los niveles medios de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ aumentaron hasta alcanzar un nivel máximo el Día 7 y luego disminuyeron hasta un nivel comparable al del Inicio antes de la siguiente dosificación.

- No se observaron tendencias en los valores medios en tiempo para otros parámetros PD en suero y orina después de la dosificación con KRN23 en comparación con el Inicio. Los parámetros en suero incluían $25(\text{OH})\text{D}$, calcio total, calcio ionizado, calcitonina y iPTH. Los marcadores de orina incluían mediciones cada 2 horas de TRP, relación calcio/creatinina y FECa, y mediciones cada 24 horas de fósforo, calcio, creatinina y relación calcio/creatinina.

- Los biomarcadores de formación y resorción ósea pueden proporcionar una indicación del efecto del tratamiento. La P1NP aumentó de $69,6 \pm 29,86$ ng/mL al inicio del primer ensayo clínico en Fase I/II hasta un máximo de $170,4 \pm 100,79$ ng/mL, que representa un aumento de cambio porcentual de 148,1% . Se

observaron aumentos en todas las mediciones posinicio. La osteocalcina y BALP en suero medias también aumentaron pero en menos medida a lo largo del estudio. También se observaron aumentos con respecto al inicio en los parámetros de
5 resorción ósea (Ctx y NTx).

PK y relaciones PK-PD: Los análisis de población PK se incluirán en el informe final del estudio. Todos análisis de relación PK-PD se incluirán en el último informe del estudio.

.

10 Calidad de vida: Los análisis de datos a partir de evaluaciones de QoL de los sujetos durante el segundo ensayo clínico en Fase I/II no estaban disponibles a partir de la fecha del presente informe y serán incluidos en el informe final del estudio.

15 Resultados de seguridad:

- El KRN23 se toleró bien tras la administración SC de hasta 12 dosis en esta población de sujetos.
- No se informaron muertes ni TEAE con riesgo para la vida en este estudio. Se informaron SAE para 3 sujetos tratados con
20 KRN23 (estenosis espinal cervical, cáncer de mama y crisis hipertensiva; cada uno 1 sujeto). Se suspendió la participación de dos sujetos en el estudio tratados con KRN23 debido a TEAE posiblemente relacionados con KRN23: síndrome de piernas inquietas (RLS, por sus siglas en inglés) grave o

debilitante que se consideró DLT en un 1 sujeto y nefrolitiasis moderada no considerada DLT pero que aún así condujo a la suspensión de la participación del otro sujeto.

• Se informó sobre TEAE para la mayoría de los sujetos (20 sujetos, 90,9%) tratados con KRN23 y el 1 sujeto tratado con Placebo durante el estudio. En el grupo tratado con KRN23, los TEAE más comunes (informados por al menos 3 sujetos) fueron reacción en el sitio de la inyección, sinusitis y artralgia (cada uno en 5 sujetos, 22,7%); incomodidad abdominal, dolor de espalda, dolor en extremidad y mareos (cada uno en 4 sujetos, 18,2%); y vértigo, fatiga, gastroenteritis viral, nasofaringitis, cefalea y RLS (cada uno en 3 sujetos, 13,6%).

• Se informó sobre TEAE relacionados con el tratamiento para 14 sujetos (63,6%) tratados con KRN23. La reacción en el sitio de la inyección (5 sujetos, 22,7%); artralgia y RLS (cada uno en 3 sujetos, 13,6%); y dolor en el sitio de la inyección (2 sujetos, 9,1%) fueron los únicos TEAE clasificados como relacionados con el tratamiento informados para más de 1 sujeto tratado con KRN23. Se informaron TEAE severos o inhabilitantes para 5 sujetos (22,7%) tratados con KRN23: cáncer de mama improbablemente relacionado con el fármaco del estudio, RLS probablemente relacionado con el fármaco del estudio, mialgia y crisis hipertensiva no

relacionados con el fármaco del estudio, estenosis espinal cervical no relacionada con el estudio y dolor postraumático y dolor en las extremidades no relacionados con el fármaco del estudio.

5 • No hubo un patrón discernible de anomalías en el laboratorio significativas durante el estudio. Cuatro sujetos presentaron anomalías en el laboratorio consideradas por el Investigador como TEAE: disminución de recuento de neutrófilos moderada y disminución de recuento de glóbulos
10 blancos posiblemente relacionados con el fármaco del estudio; disminución de la presión sanguínea suave posiblemente relacionada con el fármaco del estudio; aumento de triglicéridos sanguíneos suave no relacionado con el fármaco del estudio; y aumento de alanina aminotransferasa y aumento
15 de aspartato suaves improbablemente relacionados con el fármaco del estudio y aumento de creatina fosfocinasa sanguínea suave relacionado con el fármaco del estudio. Estos eventos no se consideraron graves ni clínicamente significativos, no requirieron tratamiento y no resultaron en
20 suspensión de la participación de los sujetos en el estudio.

• No se observaron efectos cardíacos de relevancia en las tomografías computarizadas cardíacas ni en los ECG. Una evaluación cardiológica independiente separada de los ECG no exhibió ninguna evidencia ni cambios de LVH mediante los

criterios ESTES cuando se comparan los ECG pretratamiento (en el primero o el segundo ensayo clínico en Fase I/II) con los ECG postratamiento en el segundo ensayo clínico en Fase I/II.

• No se observaron efectos renales adversos en la ecografía renal, no cambios relacionados con el tratamiento en iPTH, calcio en suero y en orina de 24 horas. No se observaron cambios en la mineralización ectópica significativos clínicos.

• No se observaron cambios en patrones de otros parámetros de seguridad obtenidos (signos vitales, hallazgos en exámenes físicos y neurológicos) que sugirieran que fueran un efecto adverso relacionado con el tratamiento.

• Ningún sujeto desarrolló anticuerpos anti-KRN23 después de la dosificación ni desarrolló reacciones de hipersensibilidad.

• No hubo evidencia de aumento de calcificaciones en ningún tejido extraóseo estudiado, incluido el riñón.

Conclusiones:

Los datos de este estudio a la fecha son consistentes con el modelo de que KRN23 bloquea la acción de FGF23 después de la administración SC, que conducen a un aumento sostenido en los niveles de fósforo sérico debido a una reabsorción tubular de fosfato aumentada (TmP/GFR). También se observó un aumento en

1,25(OH)₂D, tal como se esperaba, basado en la inhibición del exceso de FGF23. También se observaron aumentos en los marcadores de formación y resorción ósea. Tomados en conjunto, los cambios en estos biomarcadores respaldan la hipótesis de que KRN23 puede proporcionar mejoras clínicas en la calidad ósea, invertir los cambios asociados con el raquitismo y mejora finalmente los resultados físicos tal como doblar las piernas, el dolor y las características de estatura baja de pacientes con XLH.

Los datos disponibles de este estudio demuestran que el KRN23 administrado SC a cada 28 días, en la mayoría de los casos a 0,6 o 1,0 mg/kg, mejora los niveles de fósforo sérico máximos hasta el rango de 2,5-3,5 mg/dL desde un nivel inicial pretratamiento medio de 1,85 mg/dL. Esta mejora persiste durante un período de 48 semanas (336 días) y 12 dosis de KRN23.

Los datos también demostraron que el tratamiento con KRN23 mejora la TmP/GFR; el efecto persiste durante casi 28 días luego de cada tratamiento y se mantiene durante 48 semanas y 12 dosis. Este resultado es consistente con el concepto de que el KRN23 invierte la disminución del cotransportador de fosfato sódico en los riñones, lo que resulta en aumento sustanciales en la eficacia de la reabsorción del fosfato en los túbulos renales. La magnitud del aumento en TmP/GFR fue

clínicamente significativa y se correlaciona con el fósforo sérico, lo cual indica el probable mecanismo por el cual la inhibición del exceso de FGF23 mediada por KRN23 logra el efecto deseado.

5 Los datos de este estudio también mostraron que el tratamiento con KRN23 aumenta los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero. Esto es consistente con el concepto de que el KRN23 invierte la expresión reducida de la 1-alfa hidroxilasa necesaria para convertir la 25 hidroxí Vitamina D sérica, en
10 la forma $1,25$ dihidroxí que estimula activamente la absorción de fosfato en el intestino. Las mejoras en los biomarcadores de formación y resorción ósea sugieren un aumento en la remodelación ósea. Se espera que estas mejoras además del aumento en el fósforo sérico sean el mecanismo por el cual la
15 calidad ósea mejorará en pacientes con XLH.

El KRN23 fue tolerado bien en sujetos adultos con XLH durante un período de 48 semanas con hasta 12 dosis del fármaco administrado SC hasta a $1,0 \text{ mg/kg}$. No se produjeron muertes ni TEAE con riesgo para la vida. Los TEAE relacionados con el
20 tratamiento incluyeron reacción en el sitio de la inyección; artralgia y RLS; y dolor en el sitio de la inyección. Se informó sobre SAE (evaluados como poco probablemente o no relacionados con el fármaco del estudio) para 3 sujetos. No se observaron tendencias clínicamente significativas

discernibles de anomalías de laboratorio que sugieren un efecto adverso relacionado con el tratamiento.

Las calcificaciones de los riñones fueron un descubrimiento frecuente en sujetos al Inicio antes del tratamiento con KRN23, probablemente debido a una terapia previa con fosfato. Los datos clínicos sobre KRN23 a la fecha, incluyendo que en este estudio se utilizaron ecografías renales y tomografías computarizadas del corazón ultra rápidas, no identificaron ninguna aparición nueva o aumento en las calcificaciones significativo en estos 2 órganos más sensibles. Además, no se observaron aumentos en el calcio ni PHT en suero ni orina, y los niveles de fósforo nunca superaron el límite superior de normal, por lo tanto, los principales parámetros bioquímicos generalmente asociados con la mineralización ectópica no se produjeron con la administración de KRN23 a lo largo de este estudio de observación a largo plazo.

En conclusión, el tratamiento con KRN23 se toleró bien y aumentó los niveles de fósforo sérico, TmP/GFR y $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero en cada intervalo de dosificación a lo largo de las 48 semanas de tratamiento. No se observaron efectos inespecíficos. Estos aumentos clínicamente significativos en los marcadores farmacodinámicos y bioquímicos, y el perfil de seguridad favorable en sujetos adultos con XLH, sugieren una utilidad potencial del tratamiento con KRN23 para pacientes

con XLH.

EVALUACIÓN DE EFICACIA

Características de la enfermedad al Inicio

5 Las características de la enfermedad al inicio, incluidos los
niveles de fósforo sérico, TmP/GFR, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ y FGF23 intacto
sin unir para los sujetos en el Conjunto de Análisis de
Eficacia, se presentan en la Tabla 18 a continuación. Los
niveles de fósforo sérico y TmP/GFR al Inicio estaban por
10 debajo del límite inferior del rango de referencia normal para
todos los sujetos. Al Inicio, el nivel medio global de
 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ estaba dentro del rango de referencia normal (Kratz
2012). Los niveles iniciales de FGF23 intacto sin unir
variaron de 54 a 268 pg/mL para sujetos tratados con KRN23.

15

**Tabla 18. Tabla de características de la enfermedad al
inicio (Conjunto de análisis de eficacia)**

20

25

30

	Sin enmascaramiento KRN23	Subestudio en huesos		Total KRN23 N=22
		KRN23 N=1	Placebo N=1	
FGF23 intacto sin unir (pg/mL)				
n	20	1	1	21
Media (DT)	106,0(63,32)	53,6(NA)	62,7(NA)	103,5(62,77)
Min, Max	(56, 268)	(54, 54)	(63, 63)	(54, 268)
Fósforo sérico(mg/dL) ^b				
n	21	1	1	22

Media (DT)	1,570(0,3076)	1,450(NA)	1,250(NA)	1,564(0,3012)
Min, Max	(0,85, 2,03)	(1,45, 1,45)	(1,25, 1,25)	(0,85, 2,03)
1,25(OH) ₂ D en suero (pg/mL)				
n	18	1	1	19
Media (DT)	36,1(12,93)	42,0(NA)	67,0(NA)	36,4(12,64)
Min, Max	(10,61)	(42, 42)	(67, 67)	(10,61)
Calcio total sérico(mg/dL)				
n	21	1	1	22
Media (DT)	9,11(0,407)	9,30(NA)	9,30(NA)	9,12(0,399)
Min, Max	(8,5, 10,2)	(9,3, 9,3)	(9,3, 9,3)	(8,5, 10,2)
iPTH sérica(pg/mL)				
n	21	1	1	22
Media (DT)	84,2(35,07)	74,0(NA)	77,0(NA)	83,7(34,29)
Min, Max	(40, 143)	(74, 74)	(77, 77)	(40, 143)
BALP(μg/L)				
n	21	1	1	22
Media (DT)	30,94(12,583)	34,40(NA)	20,70(NA)	31,10(12,302)
Min, Max	(13,2, 52,4)	(34,4, 34,4)	(20,7, 20,7)	(13,2, 52,4)
Calcio en orina de 24 horas (mg/24hr)				
n	21	1	1	22
Media (DT)	100,5(69,27)	30,0(NA)	54,0(NA)	97,3(69,25)
Min, Max	(11, 253)	(30, 30)	(54, 54)	(11, 253)
Creatinina en orina de 24 horas (g/24hr)				
n	21	1	1	22
Media (DT)	1,383(0,6689)	1,230(NA)	1,040(NA)	1,376(0,6536)
Min, Max	(0,54, 3,01)	(1,23, 1,23)	(1,04, 1,04)	(0,54, 3,01)

relación calcio/creatinina de 2 horas, (mg/g creatinina)				
n	21	1	1	22
Media (DT)	53,1(39,83)	7,0(NA)	36,0(NA)	51,0(40,09)
Min, Max	(11, 192)	(7,7)	36,36)	(7, 192)

5

10

15

20

1,25(OH)₂D= 1,25-dihidroxivitamina D; BALP= fosfatasa alcalina ósea; FGF23= factor de crecimiento de fibroblastos 23; hr= hora; iPTH = paratirina intacta; Max= máximo; Min= 5 mínimo; NA= no aplicable; SD = desviación típica; TmP/GFR = relación entre tasa de reabsorción tubular renal máxima de fosfato y tasa de filtración glomerular.

a: El valor inicial es de la Visita 2, Día 0 del primer ensayo clínico en Fase I/II.

10 b: Rangos normales: 2,5 a 4,3 mg/dL (Kratz 2012) para fósforo sérico y 2,5-4,3 mg/dL para TmP/GFR (Waltonetal. 1975).

Eficacia primaria - Niveles de fósforo sérico

Al inicio pretratamiento (Visita 2, Día 0 del primer ensayo 15 clínico en Fase I/II), todos los 22 sujetos tratados con KRN23 (100%) y el 1 sujeto tratado con Placebo presentaron niveles de fósforo sérico <2,5 mg/dL. Durante cada intervalo de dosificación de 28 días, los niveles máximos de fósforo sérico (pico) se alcanzaron el Día 7 o 14 (Tabla 19). El Día 20 7 y 14 después del primer tratamiento con KRN23 (intervalo de dosificación 1), los niveles de fósforo sérico de la gran mayoría de los sujetos (17-18 sujetos, 77,3%-81,8%) presentaron un aumento de <2,5 mg/dL a el rango objetivo de >2,5 a ≤ 3,5 mg/dL. Este efecto pico fue relativamente

consistente a lo largo del estudio variando de 45,5% a 81,8%. El porcentaje de sujetos dentro del rango objetivo fue generalmente similar el Día 7 y 14 a lo largo del período de estudio. Los niveles pico de fósforo sérico el Día 7 o 14 aumentaron hasta el rango de $>3,5$ a $\leq 4,5$ mg/dL para 0 a 3 sujetos tratados con KRN23 (0-13,6%) a lo largo del estudio, pero no se informó sobre ningún nivel de fósforo sérico $>4,5$ mg/d para ningún sujeto en ningún punto de tiempo.

Tabla 19: Proporción de sujetos tratados con KRN23 con niveles de fósforo sérico por categorías (Población de Análisis de Eficacia)

		Cantidad(%)de sujetos tratados con KRN23, N=22			
		Niveles de fósforo sérico (mg/dL)			
		≤2,5	>2,5 a ≤3,5	>3,5 a ≤4,5	>4,5
5	Inicio	22 (100,0)	0(0,0)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 1				
	Visita 1/0	21 (95,5)	0(0,0)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 2/7	4 (18,2)	17 (77,3)	1 (4,5)	0(0,0)
	Visita 3/14	4 (18,2)	18 (81,8)	0 (0,0)	0(0,0)
10	Visita 4/25	15 (68,2)	7 (31,8)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 2				
	Visita 5/0	15 (68,2)	6 (27,3)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 6/7	6 (27,3)	13 (59,1)	2 (9,1)	0(0,0)
	Visita 7/14	4 (18,2)	15 (68,2)	2 (9,1)	0(0,0)
15	Visita 8/25	7 (31,8)	13 (59,1)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 3				
	Visita 9/0	12 (54,5)	9 (40,9)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 10/7	5 (22,7)	15 (68,2)	1 (4,5)	0(0,0)
	Visita 11/14	6 (27,3)	15 (68,2)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 12/25	10 (45,5)	11 (50,0)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 4				
	Visita 13/0	13 (59,1)	8 (36,4)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 14/7	7 (31,8)	11 (50,0)	3 (13,6)	0(0,0)
	Visita 15/14	3 (13,6)	17 (77,3)	1 (4,5)	0(0,0)
	Visita 16/25	10 (45,5)	11 (50,0)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 5				
	Visita 17/0	13 (59,1)	7 (31,8)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 18/7	5 (22,7)	15 (68,2)	0 (0,0)	0(0,0)

5	Visita 19/14	8 (36,4)	13 (59,1)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 20/25	9 (40,9)	12 (54,5)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 6				
	Visita 21/0	15 (68,2)	5 (22,7)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 22/7	3 (13,6)	15 (68,2)	2 (9,1)	0(0,0)
	Visita 23/14	3 (13,6)	15 (68,2)	1 (4,5)	0(0,0)
	Visita 24/25	12 (54,5)	8 (36,4)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 7				
	Visita 25/0	13 (59,1)	7 (31,8)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 26/7	4 (18,2)	16 (72,7)	0 (0,0)	0(0,0)
10	Visita 27/14	5 (22,7)	14 (63,6)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 28/25	10 (45,5)	10 (45,5)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 8				
	Visita 29/0	13 (59,1)	6 (27,3)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 30/7	7 (31,8)	8 (36,4)	3 (13,6)	0(0,0)
	Visita 31/14	7 (31,8)	11 (50,0)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 32/25	13 (59,1)	6 (27,3)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 9				
	Visita 33/0	11 (50,0)	7 (31,8)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 34/7	5 (22,7)	12 (54,5)	1 (4,5)	0(0,0)
15	Visita 35/14	5 (22,7)	12 (54,5)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 36/25	11 (50,0)	7 (31,8)	1 (4,5)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 10				
	Visita 37/0	12 (54,5)	7 (31,8)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 38/7	7 (31,8)	10 (45,5)	2 (9,1)	0(0,0)
	Visita 39/14	8 (36,4)	9 (40,9)	2 (9,1)	0(0,0)
	Visita 40/25	10 (45,5)	9 (40,9)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 11				
	Visita 41/0	14 (63,6)	5 (22,7)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 42/7	5 (22,7)	13 (59,1)	1 (4,5)	0(0,0)
20	Visita 43/14	8 (36,4)	10 (45,5)	1 (4,5)	0(0,0)
	Visita 44/25	9 (40,9)	10 (45,5)	0 (0,0)	0(0,0)
	Intervalo de dosificación 12				
	Visita 45/0	14 (63,6)	5 (22,7)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 46/7	8 (36,4)	9 (40,9)	2 (9,1)	0(0,0)
	Visita 47/14	9 (40,9)	10 (45,5)	0 (0,0)	0(0,0)
	Visita 48/25	12 (54,5)	7 (31,8)	0 (0,0)	0(0,0)

Cabe señalar que cada fila de datos presenta los datos disponibles para dicha visita/punto de tiempo, y la cantidad total de sujetos (y porcentajes asociados) en cada visita puede no sumar 22 (o 100%), donde hay datos faltantes. El porcentaje de sujetos cuyo fósforo sérico permaneció dentro del rango objetivo ($>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL) en cada punto de tiempo se calculó con un denominador basado en el total de 22 sujetos que recibieron cualquier cantidad de dosis de KRN23, ya sea que se hayan obtenido o no los datos de fósforo sérico para todos estos sujetos en dicho punto de tiempo. A l día de la fecha de corte de datos, 3 sujetos no recibieron todas las dosis de KRN23 planificadas (1 sujeto recibió 1 dosis y se suspendió su participación; 1 sujeto recibió 5 dosis y 1 sujeto recibió 7 dosis y permanecieron en el estudio), y en algunos puntos de tiempo, los datos de fósforo sérico no estuvieron disponibles para todos los sujetos que fueron tratados y permanecieron en el estudio. Por lo tanto, en algunos casos, el porcentaje calculado puede subestimar la tasa de sujetos con respuesta que logran un fósforo sérico $>$ que 2,5 mg/dL.

Para el 1 sujeto tratado con Placebo en el subestudio en huesos, los niveles de fósforo sérico permanecieron esencialmente sin cambios desde el Inicio (1,60 mg/dL), con

niveles posdosis que variaban de 1,70 a 2,00 mg/dL.

En resumen, el KRN23 aumentó los niveles de fósforo sérico desde al inicio en todos los sujetos en casi todos los puntos de datos a la concentración máximo o residual, y la mayoría de los sujetos tratados alcanzó la meta de la terapia objetivo ($>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL). Este efecto se mantuvo por hasta 48 semanas.

Resultados farmacodinámicos

10 Fósforo sérico: Los niveles medios de fósforo sérico se representan gráficamente en la FIG 12.

Ya que la dosis se ajustó en función de los niveles máximos y residuales de fósforo y en el régimen de ajuste predefinido, la dosis de KRN23 varía de sujeto a sujeto y a lo largo del estudio. La dosis media de KRN23 varió de $0,541 \pm 0,2039$ mg/kg a $0,865 \pm 0,2618$ mg/kg en el estudio. Durante cada uno de los 12 intervalos de dosificación, las concentraciones medias de fósforo sérico aumentaron hasta niveles máximos clínicamente significativos el Día 7 o 14 y luego disminuyeron pero no volvieron a los niveles predosis antes de la siguiente dosificación. Todos los sujetos tuvieron un aumento con respecto al inicio en todas las visitas. La concentración media de fósforo sérico de los sujetos aumentó de $1,85 \pm 0,282$ mg/dL al Inicio pretratamiento (el Día 0 del

15
20

primer ensayo clínico en Fase I/II) hasta un nivel máximo de $2,87 \pm 0,392$ mg/dL el Día 14 del Intervalo de Dosificación 1, y el nivel máximo permaneció dentro del rango de $2,71 \pm 0,428$ mg/dL a $2,96 \pm 0,468$ mg/dL a lo largo del estudio. El cambio medio máximo con respecto al Inicio en el fósforo sérico permaneció dentro del rango de $0,87 \pm 0,444$ mg/dL a $1,10 \pm 0,412$ mg/dL a lo largo del estudio (Tabla 20). La concentración media de fósforo sérico al final del intervalo de dosificación (Día 0) permaneció por encima del nivel inicial y el rango fue de $2,25 \pm 0,353$ mg/dL a $2,52 \pm 0,436$ mg/dL.

15

20

25

30

35

Tabla 20: Niveles medios ($\pm$ DT) máximos de fósforo sérico y cambio medio con respecto al inicio para sujetos tratados con KRN23 (Conjunto de Análisis de Eficacia)

5	Intervalo de dosificación ^a	Niveles de fósforo sérico		
		Día 0 medio (DT), mg/dL	Tiempo hasta alcanzar Nivel máximo ^a	Nivel máximo medio (DT), mg/dL
10		Cambio máximo con respecto al Inicio ^b Media(DT),mg/dL		
15	1	1,88(0,303), n=21	Día 14, n=22	2,87(0,392)
	2	2,25(0,353), n=21	Día 14, n=21	2,95(0,441)
	3	2,43(0,349), n=21	Día 7, n=21	2,96(0,468)
	4	2,42(0,396), n=21	Día 7, n=21	2,92(0,560)
	5	2,35(0,376), n=20	Día 7, n=20	2,82(0,396)
	6	2,35(0,330), n=20	Día 7, n=20	2,94(0,387)
	7	2,37(0,385), n=20	Día 7, n=20	2,83(0,315)
	8	2,40(0,422), n=19	Día 7, n=18	2,87(0,542)
	9	2,42(0,403), n=18	Día 7, n=18	2,79(0,456)
	10	2,52(0,436), n=19	Día 7, n=19	2,85(0,550)
	11	2,29(0,397), n=19	Día 7, n=19	2,71(0,428)
	12	2,25(0,301), n=19	Día 7, n=19	2,73(0,427)

20 AUC_n= área bajo la curva de tiempo de concentración para el cambio con respecto al Inicio en la concentración de fósforo sérico durante el intervalo de dosificación nth (n=1, 2, 3, etc.); NA= no aplicable; DT = desviación típica.

a: Tiempo hasta alcanzar el nivel de fósforo sérico medio máximo con respecto al Día 0 de cada intervalo de dosificación.

b: nivel de fósforo sérico medio al Inicio: 1,85 $\pm$ 0,282mg/dL(n=22). El cambio máximo con respecto al Inicio se

logró en los mismos días de dosificación relativos que el nivel de fósforo sérico medio máximo para todos los intervalos de dosificación.

5 Las fluctuaciones entre concentración máxima y residual del valor de fósforo sérico medio máximo el Día 7 o 14 del intervalo de dosificación hasta el valor mínimo el Día 0 del siguiente intervalo de dosificación fueron bajas a lo largo del estudio. Por ejemplo, al valor pico medio máximo de $2,96 \pm 0,468$ mg/dL (Visita 10, Intervalo de dosificación 3, Día 7) siguió un valor residual de $2,42 \pm 0,396$ mg/dL (Visita 13, Intervalo de dosificación 4, Día 0), para una diferencia de 0,54 mg/dL (22,3%). Los valores residuales medios mínimos de $2,25 \pm 0,353$ mg/dL (Visita 5, Intervalo de dosificación 2, 15 Día 0) y $2,25 \pm 0,301$ (Visita 45, Intervalo de dosificación 12, Día 0) siguieron a valores máximos en los intervalos de dosificación previos de $2,87 \pm 0,392$ mg/dL (Visita 3, Intervalo de dosificación 1, Día 14) y $2,71 \pm 0,428$ mg/dL (Visita 42, Intervalo de dosificación 11, Día 7), para 20 diferencias de 0,62 mg/dL (27,6%) y 0.46 mg/dL (20,4%), respectivamente. Las diferencias para 10 de los 11 pares de concentración máxima-residual disponibles estuvieron dentro del rango de 17,9% a 27,6%; exhibiendo un efecto PD consistente en el tiempo. La variabilidad intersujeto también

fue relativamente baja para la concentración de fósforo sérico. Por ejemplo, la variación entre sujetos de los niveles de fósforo sérico posdosis ($DT/media \times 100\%$) estuvo en el rango de 13,4% a 15,8% para ambas concentraciones máxima y residual emparejadas al inicio del estudio (Intervalo de dosificación 1-2) y el final del estudio (Intervalo de dosificación 11-12). Estos resultados destacan la variabilidad mínima y efecto PD consistente.

10 *Tasa de reabsorción tubular renal máxima de fosfato/Tasa de filtración glomerular*

Se utilizaron muestras de orina de dos horas recogidas los Días 14 y 25 después de cada dosis de KRN23 en cada intervalo de dosificación para calcular la TmP/GFR . Los valores de TmP/GFR medios se representan gráficamente en la FIG 13.

La TmP/GFR es el mecanismo propuesto mediante el cual la inhibición del exceso de FGF23 mediada por KRN23 aumenta los niveles de fósforo. La TmP/GFR siguió los mismos patrones que el fósforo sérico, lo cual sugiere que el aumento en el nivel de fósforo sérico luego del tratamiento con KRN23 se debe principalmente a niveles aumentados de reabsorción de fósforo por los túbulos proximales renales. En todos los intervalos de dosificación y en todos los sujetos, la TmP/GFR media aumentó una cantidad clínicamente significativa el Día 14 en

comparación con el Inicio (Visita 2, Día 0 de este estudio),
y luego disminuyó hasta el nivel predosis antes de la
siguiente dosificación (Tabla 23). La TmP/GFR media aumentó
desde un nivel inicial de $1,564 \pm 0,3012$ hasta un nivel
5 dentro del rango de $2,408 \pm 0,7205$ mg/dL a $2,921 \pm 0,5990$
mg/dL el Día 14 de cada intervalo de dosificación; el cambio
con respecto al Inicio el Día 14 varió de $0,849 \pm 0,7665$ a
 $1,352 \pm 0,5892$. Los niveles de TmP/GFR el Día 25 variaron de
 $2,195 \pm 0,3819$ mg/dL a $2,551 \pm 0,6538$ mg/dL, y el cambio con
10 respecto al Inicio varió de $0,636 \pm 0,3085$ a $1,004 \pm 0,6777$.

Tabla 23 Niveles Medios ($\pm$ DT) de TmP/GFR y cambio con respecto al Inicio en sujetos tratados con KRN23(Conjunto de Análisis de Eficacia)

Intervalo de dosificación ^a	Niveles de TmP/GFR			
	Día 14 Valor medio (DT), mg/dL	Cambio con respecto al Inicio el Día 14 medio (DT), mg/dL	Día 25 Valor medio (DT), mg/dL	Cambio con respecto al Inicio el Día 25 medio (DT), mg/dL
1	2,655(0,5660), n=22	1,090(0,4996)	2,401(0,5543), n=19	0,823(0,5708)
2	2,907(0,7448), n=21	1,336(0,7208)	2,551(0,6538), n=20	1,004(0,6777)
3	2,602(0,4876), n=21	1,031(0,5076)	2,282(0,4864), n=21	0,711(0,4812)
4	2,921(0,5990), n=20	1,352(0,5892)	2,295(0,4892), n=21	0,724(0,5208)
5	2,600(0,6415), n=21	1,030(0,5816)	2,314(0,4427), n=20	0,754(0,4601)
6	2,735(0,5993), n=19	1,206(0,6388)	2,401(0,4807), n=20	0,847(0,5337)
7	2,754(0,5730), n=18	1,238(0,5875)	2,422(0,5060), n=19	0,862(0,6200)
8	2,677(0,6045), n=18	1,144(0,6069)	2,392(0,5948), n=19	0,832(0,5492)
9	2,636(0,5144), n=17	1,116(0,4958)	2,272(0,4700), n=18	0,739(0,4822)
10	2,408(0,7205), n=19	0,849(0,7665)	2,234(0,6327), n=19	0,674(0,7502)
11	2,595(0,6046), n=19	1,036(0,5812)	2,292(0,5204), n=19	0,733(0,5231)
12	2,572(0,5380), n=19	1,013(0,5514)	2,195(0,3819), n=19	0,636(0,3085)

NA= no aplicable; SD= desviación típica; TmP/GFR= relación entre tasa de reabsorción tubular renal máxima de fosfato y tasa de filtración glomerular.

A: TmP/GFR media al Inicio: $1,564 \pm 0,3012$ mg/dL(n=22).

Para el 1 sujeto tratado con Placebo en el subestudio en huesos, los niveles de TmP/GFR permanecieron con pocos

cambios desde el Inicio (1250 mg/dL)to hasta la última evaluación realizada el día de la fecha de corte de datos (Visita 8, Intervalo de dosificación 2, Día 25) (1650 mg/dL) con un nivel pos dosificación de 1550 a 2000 mg/dL.

5

1,25-Dihidroxi Vitamina D

Los niveles medios de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ para sujetos tratados con KRN23 se representan gráficamente en la FIG 14.

Durante cada uno de los 12 intervalos de dosificación, los
 10 niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero medios aumentaron hasta un nivel máximo el Día 7 y luego disminuyeron hasta un nivel comparable con el Inicio antes de la siguiente dosificación. Hay una tendencia a niveles máximos reducidos para $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en el tiempo desde el primero hasta el último intervalo de
 15 dosificación (Tabla 24). El nivel medio de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero al Inicio (Visita 2, Día 0 del primer ensayo clínico en Fase I/II) fue de $36,4 \pm 12,64$ y aumentó el Día 7 de cada intervalo de dosificación hasta un máximo dentro del rango de $53,1 \pm 20,28$ pg/mL a $92,0 \pm 43,21$ pg/mL. El cambio máximo el
 20 Día 7 con respecto al Inicio en el nivel de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero permaneció dentro del rango de $19,6 \pm 15,91$ pg/mL a $63,4 \pm 35,52$ pg/mL a lo largo del estudio.

Para el 1 sujeto tratado con Placebo en el subestudio en huesos, los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ permanecieron con pocos

cambios desde el Inicio (67,0 pg/mL) hasta la última evaluación realizada el día de la fecha de corte de datos (Visita 10, Intervalo de dosificación 3, Día 7) (50,0 pg/mL) con niveles posdosis que variaron de 34,0 a 72,0 pg/mL.

5 **Tabla 24: Niveles medios ($\pm$ DT) máximos de 1,25(OH)₂D y cambio medio máximo con respecto al inicio en sujetos tratados con KRN23 (Conjunto de Análisis de Eficacia)**

10		Niveles de 1,25(OH) ₂ D			
	Intervalo de dosificación	Día 0 (Predosis) Media(DT), pg/mL	Tiempo hasta alcanzar Nivel Máximo ^a	Nivel máximo medio (DT), pg/mL	Cambio máximo con respecto al Inicio
	1	30,0(12,79), n=21	Día 7	92,0(43,21), n=21	63,4(35,52), n=18
	2	39,4(15,85), n=21	Día 7	86,3(31,49), n=21	55,3(25,16), n=18
	3	43,1(16,39), n=21	Día 7	77,9(25,89), n=21	45,2(20,72), n=18
	4	43,0(17,06), n=21	Día 7	72,2(20,67), n=20	39,5(19,02), n=17
	5	40,8(13,61), n=20	Día 7	69,4(24,50), n=20	37,1(20,90), n=17
	6	41,7(20,43), n=20	Día 7	66,2(21,96), n=20	31,7(17,05), n=17
	7	35,5(15,50), n=20	Día 7	61,5(19,03), n=20	27,9(15,60), n=17
	8	35,9(13,73), n=19	Día 7	56,5(21,74), n=18	23,4(15,36), n=15
	9	31,4(10,41), n=18	Día 7	59,2(24,12), n=18	27,0(22,29), n=15
	10	33,6(11,49), n=19	Día 7	57,9(27,05), n=19	24,3(24,30), n=16
	11	29,7(10,54), n=19	Día 7	53,1(20,28), n=19	19,6(15,91), n=16
15	12	33,6(10,85), n=19	Día 7	57,3(20,18), n=19	23,5(15,43), n=16

1,25(OH)₂D= 1,25-dihidroxi vitamina D; NA= no aplicable; DT= desviación típica.

a: Tiempo hasta alcanzar el nivel medio máximo de 1,25(OH)₂D con respecto al Día 0 de cada intervalo de dosificación.

Otros resultados farmacodinámicos

Se registraron los valores medios de los niveles de FGF23 intacto total en suero al Inicio. El ensayo ECLA de FGF23 total mide el FGF23 endógeno en presencia de KRN23, ya sea formando complejos o sin unir en el suero. Los estándares (FGF23 humano recombinante [rhFGF23]) y las muestras se incuban con cantidades en exceso de KRN23 en una matriz de amortiguador y luego se detectan mediante el ensayo. El ensayo mide el complejo KRN23/FGF23, que representa todo el FGF23 endógeno en la muestra. El ensayo es limitado dando que el complejo FGF23/KRN23 endógeno en el suero no proporciona una respuesta lineal paralela a la curva estándar del complejo rhFGF23/KRN23, por lo tanto, todos los resultados para FGF23 total utilizando ECLA son relativos a la curva estándar y solo pueden utilizarse para describir tendencias de aumentos o disminuciones en la concentración de FGF23 endógeno.

Para los sujetos que recibieron tratamiento con KRN23 en el primer ensayo clínico en Fase I/II, el nivel de FGF23 intacto total en suero fue de $94,7 \pm 105,19$ pg/mL al Inicio (Visita 2, Día 0 en el primer ensayo clínico en Fase I/II) antes de cualquier tratamiento con KRN23. Luego de finalizar los tratamientos con KRN23 del estudio, este valor había aumentado hasta $42100,0 \pm 31524,88$ pg/mL al momento de la primera visita en el segundo ensayo clínico en Fase I/II

(Visita 1, Intervalo de dosificación 1, Día 0). El FGF23 intacto total en suero medio generalmente aumentó adicionalmente con una cantidad creciente de dosis de KRN23 en el segundo ensayo clínico en Fase I/II y alcanzó un máximo de 510818,8 ± 354649,07 pg/mL en la Visita 45 (Intervalo de dosificación 12, Día 0) (FIG. 15A).

El ensayo para FGF23 sin unir es difícil de llevar a cabo en presencia de grandes cantidades de FGF23 unido, y es difícil estar seguros de que los niveles de FGF23 libre son realmente de libre en circulación o son meramentedisociaciones en el ensayo. Al utilizar el ensayo tal como se desarrolló, los niveles medios de FGF23 intacto sin unir siguieron un patrón similar al de FGF23 intacto total en la Visita 33 en sujetos tratados con KRN23; los valores medios de la forma sin unir luego disminuyeron en las Visitas 37, 41 y 45 antes de aumentar nuevamente en la Visita 49 (FIG. 15B). El nivel medio de FGF23 intacto sin unir fue de 103,5 ± 62,77 pg/mL al Inicio y aumentó hasta 25283,3 ± 33810,42 pg/mL en la Visita 33 y 25657,9 ± 13461,86 pg/mL en la Visita 49. Aunque el FGF23 intacto sin unir aumentó después de la dosificación de KRN23, representó solo una pequeña fracción del FGF23 intacto total; el valor máximo medio de la forma sin unir es 5% del FGF23 intacto total. Por lo tanto, es difícil determinar si es preciso en este contexto.

El tratamiento con KRN23 condujo a niveles aumentados de fósforo sérico a pesar de los aumentos aparentes en el FGF23 intacto total y sin unir, lo cual sugiere que estando libre o no, el FGF23 libre aparente no estaba activo *in vivo* en este contexto.

A diferencia del efecto del tratamiento con KRN23 en el fósforo sérico y la TmP/GFR, no se observaron tendencias en los valores medios en el tiempo para sujetos tratados con KRN23 para los siguientes parámetros PD: 25(OH)D, calcio total, calcio ionizado, calcitonina y iPTH en suero; o para los otros parámetros PD en orina, incluidos TRP en orina en 2 horas, relación calcio/creatinina en orina en 2 horas, FECa en orina en 2 horas, fósforo en orina en 24 horas, calcio en orina en 24 horas, creatinina en orina en 24 horas y relación calcio/creatinina en orina en 24 horas.

También se midieron el estradiol, la testosterona, la testosterona libre y el SHBG medios en el tiempo para los sujetos tratados con KRN23. No se observaron tendencias para los valores medios en el tiempo en estos parámetros.

20

Biomarcadores óseos

Parámetros de osificación: Los biomarcadores de formación y resorción ósea pueden proporcionar una indicación del efecto del tratamiento. Se midieron los valores medios de BALP,

P1NP y osteocalcina en suero en el tiempo. La P1NP aumentó de 69,6 ± 29,86 ng/mL al inicio del primer ensayo clínico en Fase I/II, hasta un máximo de 170,4 ± 100,79 ng/mL en la Visita 17, lo cual represente un cambio de aumento porcentual de 148,1%. El valor permaneció elevado a 155,2 ± 75,95 ng/mL en la Visita 33/Intervalo de dosificación 9/Día 0. La osteocalcina y BALP en suero también aumentaron pero en menor medida a lo largo del estudio. Estos datos sugieren que el KRN23 aumenta la osificación y que este puede ser el mecanismo por el cual se puede mejorar la calidad ósea, se pueden revertir los cambios por raquitismo y se puede restaurar la forma de los huesos.

Parámetros de resorción ósea: Se midieron los valores medios de CTx y NTx en suero en el tiempo. Para los sujetos tratados con KRN23, se observaron aumentos numéricos en CTx en suero (de 845,1 ± 345,77 pg/mL en la Visita 1/Intervalo de dosificación 1/Día 0 a 1090,5 ± 570,55 pg/mL en la Visita 17/Intervalo de dosificación 5/Día 0 y 1157,2 ± 542,25 pg/mL en la Visita 33/Intervalo de dosificación 9/Día 0). Estos cambios en CTX están en el orden de aproximadamente 73% de cambio con respecto al inicio. El NTx también aumentó (de 246,2 ± 578,65 nm equivalentes de colágeno óseo [BCE]/mL en la Visita 1/Intervalo de dosificación 1/Día 0 a 346,5 ± 611,50 nm BCE en la

Visita 17/Intervalo de dosificación 5/Día 0 y $344,6 \pm 566,55$ nm BCE en la Visita 33/Intervalo de dosificación 9/Día 0).

Estos datos demuestran que el KRN23 aumenta la resorción ósea así como la osificación, y este aumento en la remodelación ósea y el recambio más la normalización en los niveles de fósforo sérico es probablemente el mecanismo fisiológico clave por el cual el KRN23 mejorará la calidad ósea.

Conclusiones de eficacia

- En este estudio el fósforo sérico se considera como el criterio de valoración de eficacia y un parámetro PD clave. Al inicio pretratamiento, todos los sujetos exhibieron niveles de fósforo sérico $<2,5$ mg/dL. Luego de la administración de KRN23n, el tiempo para el efecto PD máximo (pico) se observó los Días 7 y 14. Después de la primera dosis de KRN23, 77,1% (Día 7) y 81,8% (Día 14) de los sujetos exhibieron niveles de fósforo sérico aumentados dentro del rango objetivo de $>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL. Este efecto pico fue relativamente consistente a lo largo del estudio variando de 45,5% a 81,8%. El porcentaje de sujetos dentro del rango objetivo fue generalmente similar el Día 7 y 14. No se informó sobre ningún nivel de fósforo sérico $>4,5$ mg/dL para ningún sujeto en ningún punto de tiempo en el estudio.

Farmacodinamia

- La TmP/GFR es el mecanismo propuesto mediante el cual la

inhibición del exceso de FGF23 mediada por KRN23 aumenta los niveles de fósforo. El KRN23 aumentó la TmP/GFR; la magnitud del aumento en TmP/GFR fue clínicamente significativa y se correlaciona estrechamente con el aumento en el fósforo sérico. El efecto PD observado destaca el mecanismo probable de acción de KRN23 al aumentar la reabsorción de fósforo y el nivel tubular distal de fósforo sérico, logrando así el efecto clínico deseado.

- Durante cada uno de los 12 intervalos de dosificación, los niveles medios de 1,25(OH)2D aumentaron hasta alcanzar un nivel máximo el Día 7 y luego disminuyeron hasta un nivel comparable al del Inicio antes de la siguiente dosificación. La 1,25 vitamina D es otro parámetro PD íntimamente ligado con el mecanismo de acción de KRN23, y también aumentó siguiendo el mismo perfil temporal: aumento rápido posdosis, llegando al máximo el día 7 y volviendo hacia los niveles iniciales al final del intervalo de dosificación.

- Todos los otros parámetros metabólicos: 25(OH)D, calcio total, calcio ionizado, calcitonina y iPTH; mediciones en orina de TRP, relación calcio/creatinina y FECa, y mediciones en orina de 24 horas de fósforo, calcio, creatinina y relación calcio/creatinina no cambiaron significativamente. Por lo tanto, no se observaron efectos inespecíficos; los cambios en los parámetros PD específicos, esencialmente

fósforo sérico y $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, no parecieron alterar el metabolismo del calcio y la PTH.

- Los marcadores de osificación aumentaron significativamente, particularmente P1NP, y los marcadores de resorción ósea, CTx y NTx, también aumentaron aunque en menor grado. Estos resultados demuestran que el KRN23 aumenta la remodelación ósea que puede conducir a una mejora en la calidad ósea en pacientes con XLH.

10 La producción neta máxima de la mineralización ósea requiere los niveles adecuados de fosfato consistentemente a lo largo del ciclo de dosificación en el tratamiento de XLH. La presente invención se basa parcialmente en la observación de que se pueden producir cambios en los niveles de FGF23 unido
15 durante la terapia con KRN23, que conducen a una relación PK/PD compleja con un patrón decreciente típico del efecto del tratamiento durante la última mitad de cada ciclo mensual a pesar de la PK adecuada del fármaco de KRN23 y permaneciendo aún el efecto PD.

20 La producción de FGF23 aumenta durante la terapia con un agente anti-FGF23 que se puede beneficiar con la gestión de PK/PD de una forma inesperada por los datos anteriores. Aunque los datos PK del fármaco de anticuerpo monoclonal de KRN23 muestran que una inyección mensual puede ser una

terapia adecuada, los niveles aumentados de FGF23 unido en plasma pueden proporcionar una disminución en la actividad promotora del fosfato sérico. El agrupamiento del fosfato sérico comprende solo el 1% del fosfato total del cuerpo, y

5 probablemente comenzaría a decaer durante la última mitad del ciclo de 1 mes conduciendo a la potencial reducción en la actividad de osificación neta durante la última mitad del ciclo de dosificación. El nivel de fosfato puede no decaer lo suficiente para apreciar el impacto del equilibrio de fosfato

10 neto en el cuerpo debido a los patrones cambiantes de recuperación de fosfato de los huesos inducida por el cuerpo para soportar el nivel de fosfato decayendo. A pesar del plan previsto de PK esperado para dosificar mensualmente y desaconsejar el uso de la dosificación dos veces al mes, los

15 datos PD que muestran un decaimiento creciente en el fosfato a lo largo de dosis repetidas y la producción mayor de FGF23 unido conduce a la potencial optimización de la dosificación del agente anti-FGF23 a una dosificación q2 semanas. Esto puede ser particularmente ventajoso en niños.

20 El segundo cambio que se produce es que durante el ciclo de dosificación hay un probable decaimiento en la reabsorción de fosfato que probablemente se debe a una expresión menor del transportador de fosfato durante la última mitad del ciclo de dosificación mensual. El patrón cíclico de aumento y

disminución de la expresión del transportador probablemente conduciría a una producción cíclica menos eficiente y luego a la destrucción del cotransportador Na Pi a medida que el ciclo aumenta la expresión del transportador y a medida que el transportador se degrada nuevamente durante el efecto reducido de KRN23. Durante una dosificación dos veces al más, una dosificación más frecuente, se espera que la captura consistente más eficiente del FGF23 resultará en un efecto neto acumulado sobre la reabsorción del fosfato a partir de la expresión del transportador estable aumentada que estará fuera de proporción con el efecto de la dosis mensual de FGF23. Al no provocar la destrucción del transportador cada dos semanas, la PK propia de la proteína del transportador puede resultar en el efecto acumulativo del transportador y un beneficio fuera de la proporción en la reabsorción de fosfato. Por lo tanto, en lugar de un efecto PD proporcional sobre el fosfato sérico, la dosificación más frecuente resultará en un efecto acumulativo sobre la acumulación del transportador NaPi sin decaimiento, y un niveles de fosfato alcanzable más alto.

La solución existente de tratar trastornos relacionados con FGF23 es la dosificación mensual de un anticuerpo de FGF23 (por ejemplo, KRN23) que se basa en datos PK sólidos en la Fase 1 que sugerirían de forma clara que una dosis una vez al

mes es suficiente y que puede ser un dosis efectiva, especialmente en pacientes con menos necesidad de fosfato como los adultos. En pacientes pediátricos o con mayores necesidades de fosfato, los niveles aumentados de FGF23
5 unido, y la curva PD asociada con el fosfato sería proporcionada de forma óptima mediante un intervalo de dosificación de dos veces al mes.

La invención es el nuevo enfoque sobre el efecto inesperado de la dosificación dos veces al mes en lugar de una vez al
10 mes. Se manifestará a través de niveles de fosfato aumentados y más estables para la misma dosis mensual total que está fuera de proporción para el efecto de la dosis mensual tal como se determina mediante el AUC para el fosfato sérico y potencialmente en el beneficio del tratamiento óseo.

15

Ejemplo 3: Inhibición de FGF23 con KRN23 conduce a una remodelación ósea aumentada

Los inventores de la presente invención observaron un efecto específico de la inhibición de FGF23 con un anticuerpo contra
20 FGF23 (por ejemplo, KRN23) en el tratamiento y la reversión de los cambios patológicos de la osteomalacia provocados por XLH en adultos y niños. El tratamiento con KRN23 corrige la homeostasis del fosfato como se sabía anteriormente. Lo que es nuevo e inesperado es que la inhibición de FGF23 activa un

profundo aumento de la remodelación ósea con aumentos observados en los marcadores de la osificación tales como P1NP (propéptido-N del procolágeno tipo 1 en suero) y osteocalcina, también aumenta el marcador de reabsorción ósea

5 CTX (telopéptido reticulado carboxiterminal del colágeno), véanse las tablas 18 a 21, más adelante. La remodelación ósea baja refleja las características de los cambios histopatológicos de la osteomalacia, el largo "tiempo de demora de la mineralización" y el aumento de osteoide y el

10 espesor de la pared osteoide lo cual explica la falta de actividad de osteoclasto debido a la ausencia de hueso mineralizado. Mientras se esperaría que el bloqueo de FGF23 cambie la reabsorción de fosfato renal, la producción de 1,25 VitD y aumenta la mineralización ósea, los datos clínicos

15 también sugieren que el aumento en la remodelación ósea (formación y reabsorción) revertirá la osteomalacia y restaurará la estructura ósea, la densidad y mejorará la calidad ósea evitando el arqueamiento y posibilitando la formación normal del esqueleto.

20 El aumento en la formación y reabsorción ósea es el nuevo mecanismo adicional por el cual la patología ósea subyacente en XLH, y en particular la osteomalacia, podrían curarse. La presente invención también postula que la medición de los marcadores de formación y reabsorción ósea también pueden ser

una forma de monitorear la regeneración de los huesos y el reemplazo de huesos escasamente mineralizados por huesos mineralizados lamelares normales. Dado que esto puede gestionarse activamente, la dosificación de KRN23 o un agente de FGF23 similar podría modularse en función de los marcadores de resorción ósea y síntesis como un puntaje relevante para la cura de los huesos.

El tratamiento previo de XLH consistía en una terapia de complementación con fosfato y calcitriol oral u otros análogos de vitamina D, este tratamiento puede mejorar algunos aspectos de la enfermedad XLH, pero no aumenta la remodelación ósea y, por lo tanto, no es claro que pueda mejorar la osteomalacia en estos pacientes. La osteomalacia es la razón por lo cual los pacientes adultos con XLH presentan dolor óseo, microfracturas y por tensión, retraso en la cura de fracturas. Los datos de biopsia de nuestra investigación previa de la administración del anticuerpo de FGF23 en un modelo de XLH en ratones muestra el cambio de osteomalacia a huesos normales y el cambio en la histomorfometría de la remodelación ósea. Véase Aono et al. (Therapeutic Effects of Anti-FGF23 Antibodies in Hypophosphatemic Rickets/Osteomalacia. J Bone Miner Res. 2009).

La presente invención indica que a efectos de mejorar estas

complicaciones clínicas es necesario activar la remodelación ósea. Este efecto nunca ha sido observado en el tratamiento de referencia actual. Por lo tanto, la presente invención proporciona nuevos métodos para tratar trastornos debido a la

5 señalización anormal de FGF23, tales como XLH, mediante la activación de la remodelación ósea. Por ejemplo, de acuerdo con la FIG. 16, en pacientes con XLH, el aumento de los polipéptidos de FGF23 conduce a una disminución en el fosfato sérico y en $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero, que resulta en una

10 mineralización ósea reducida (osteomalacia). La osteomalacia, a su vez, conduce a la reducción de la actividad de osteoclastos y de la remodelación ósea. Como resultado, los pacientes padecen una escasa calidad ósea y dolor, tales como deformidades óseas, fracturas y cura de fracturas lenta. La

15 administración de un ligando anti-FGF23, tal como KRN23 inhibirá la señalización de FGF23, normalizando el fosfato sérico y $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en suero, conduciendo así al aumento en la mineralización ósea y la corrección de la osteomalacia. Como resultado, los osteoclastos y la actividad de los

20 osteoblastos y la remodelación ósea aumentan, y el hueso de baja calidad se reemplaza por hueso lamelar normal, que conduce finalmente a una salud esquelética restaurada y la cura de fracturas.

Tabla 18. Resumen de Biomarcadores óseos por Visita/Día: PINP Análisis de Eficacia

Visita (Día)/Relativa Día	PINP (ng/mL)				Cambio (ng/mL) con respecto al Inicio			
	Subestudio en huesos				Subestudio en huesos			
	Tratamiento Sin enmasc.			Total	Tratamiento Sin enmasc.			Total
	KRN23	KRN23	Placebo		KRN23	KRN23	Placebo	
Visita2(D0)/0								
N	26	1	1	27				
Media	62,7	100,0	91,0	64,1				
Mediana	65,0	100,0	91,0	69,0				
Desv. Típ.	30,42	NA	NA	30,67				
Rango (Min-Max)	(11,123)	(100,100)	(91,91)	(11,123)				
Visita8(D28)/0								
N	26	1	1	27	26	1	1	27
Media	79,2	99,0	79,0	79,7	16,5	-7,0	-18,0	15,6
Mediana	89,0	99,0	79,0	89,0	16,0	-7,0	-18,0	16,0
Desv. Típ.	33,18	NA	NA	32,65	15,94	NA	NA	16,27
Rango (Min-Max)	(23,157)	(93,93)	(73,73)	(23,157)	(-12,54)	(-7,-7)	(-18,-18)	(-12,54)
Visita14(D56)/0								
N	23	1	1	24	23	1	1	24
Media	93,5	186,0	66,0	97,4	29,6	86,0	-25,0	32,0
Mediana	80,0	186,0	66,0	80,5	21,0	86,0	-25,0	21,5
Desv. Típ.	50,71	NA	NA	53,06	27,80	NA	NA	29,53
Rango (Min-Max)	(32,191)	(186,186)	(66,66)	(32,191)	(-2,96)	(86,86)	(-25,-25)	(-2,96)
Visita20(D84)/0								
N	22	1	1	23	22	1	1	23
Media	113,9	178,0	67,0	116,7	47,3	78,0	-24,0	48,6
Mediana	112,0	178,0	67,0	115,0	39,0	78,0	-24,0	40,0
Desv. Típ.	62,17	NA	NA	62,19	39,07	NA	NA	38,70
Rango (Min-Max)	(28,261)	(178,178)	(67,67)	(28,261)	(-10,140)	(78,78)	(-24,-24)	(-10,140)
Fin de estudio-Visita26(D120)								
N	25	1	1	26	25	1	1	26
Media	119,3	216,0	60,0	123,0	58,6	116,0	-31,0	57,9
Mediana	114,0	216,0	60,0	114,5	41,0	116,0	-31,0	43,5
Desv. Típ.	74,11	NA	NA	75,05	58,86	NA	NA	58,88
Rango (Min-Max)	(24,307)	(216,216)	(60,60)	(24,307)	(-11,204)	(116,116)	(-31,-31)	(-11,204)
Retiro temprano								
N	1	0	0	1	1	0	0	1
Media	69,0			69,0	32,0			32,0
Mediana	69,0			69,0	32,0			32,0
Desv. Típ.	NA			NA	NA			NA
Rango (Min-Max)	(69,69)			(69,69)	(32,32)			(32,32)

Tabla 19.

Resumen de AUEC₀₋₁₂₀ de Cambio en PINP con respecto al Inicio Intervalos de dosificación generales
Conjunto de Análisis de Eficacia

Visita 1 a Visita 49	AUEC ₀₋₁₂₀			
	Subestudio en huesos			
	Tratamiento Sin enmasc. KRN23	KRN23	Placebo	Total KRN23
N	20	1	0	21
Media	26373,33	8904,00		24589,07
Mediana	23998,00	8904,00		23494,00
Desv. Típ.	19160,505	NA		19018,013
Rango (Min-Max)	(2854,5, 73669,0)	(8904,0, 8904,0)		(2854,5, 73669,0)

Tabla 20. Resumen de Biomarcadores óseos por Visita/Día: CTx Análisis de Eficacia

Visita /Día/Día relativo	CTx (ng/mL)				Cambio (ng/mL) con respecto al Inicio			
	Subestudio en huesos				Subestudio en huesos			
	Tratamiento Sin enmasc.				Tratamiento Sin enmasc.			Total
		KRN23	KRN23	Placebo		KRN23	KRN23	Placebo
Visita2 (D0) /0								
N	25	1	1	26	25	1	1	26
Media	750,1	799,0	613,0	752,0				
Mediana	742,0	799,0	613,0	744,0				
Desv. Típ.	397,36	NA	NA	389,45				
Rango (Min-Max)	(214,1899)	(799,799)	(613,613)	(214,1899)				
Visita8 (D28) /0								
N	26	1	1	27	25	1	1	26
Media	803,8	623,0	806,0	797,1	24,0	-176,0	193,0	16,3
Mediana	701,0	623,0	806,0	690,0	-5,0	-176,0	193,0	-6,5
Desv. Típ.	509,79	NA	NA	501,10	160,30	NA	NA	161,68
Rango (Min-Max)	(171,2240)	(623,623)	(806,806)	(171,2240)	(-208,471)	(-176,-176)	(193,193)	(-208,471)
Visita14 (D56) /0								
N	26	1	1	27	25	1	1	26
Media	828,9	653,0	813,0	822,4	76,9	-146,0	300,0	68,3
Mediana	764,0	653,0	813,0	758,0	61,0	-146,0	300,0	58,0
Desv. Típ.	444,32	NA	NA	437,01	168,29	NA	NA	170,58
Rango (Min-Max)	(146,1926),(853,853)	(613,613)	(146,1926)	(-170,481)	(-146,-146)	(300,300)	(-170,481)	
Visita20 (D84) /0								
N	23	1	1	24	22	1	1	23
Media	931,6	1030,0	678,0	933,2	227,2	231,0	65,0	227,3
Mediana	900,0	1030,0	678,0	927,0	162,5	231,0	65,0	184,0
Desv. Típ.	611,08	NA	NA	597,70	280,16	NA	NA	273,72
Rango (Min-Max)	(176,2397)	(1030,1030)	(678,678)	(176,2397)	(-133,927)	(231,231)	(65,65)	(-133,927)
Fin de estudio-Visita26 (D120)								
N	25	1	1	26	24	1	1	25
Media	954,3	774,0	570,0	947,3	187,4	-25,0	-43,0	178,9
Mediana	859,0	774,0	570,0	816,5	108,5	-25,0	-43,0	102,0
Desv. Típ.	513,87	NA	NA	504,73	261,57	NA	NA	259,56
Rango (Min-Max)	(213,2170)	(774,774)	(570,570)	(213,2170)	(-162,888)	(-25,-25)	(-43,-43)	(-162,888)
Retiro temprano								
N	1	0	0	1	1	0	0	1
Media	384,0			384,0	-79,0			-79,0
Mediana	384,0			384,0	-79,0			-79,0
Desv. Típ.	NA			NA	NA			NA
Rango (Min-Max)	(384,384)			(384,384)	(-79,-79)			(-79,-79)

15

Tabla 21.

Resumen de AUEC_{0-49h} de Cambio en CTx con respecto al Inicio Intervalos de dosificación generales
Conjunto de Análisis de Eficacia

Visita 1 a Visita 49	AUEC _{0-49h}			
	Subestudio en huesos			
	Tratamiento Sin enmasc. KRN23			Total KRN23
		KRN23	Placebo	
N	19	1	0	20
Media	48870,26	-3024,00		46275,55
Mediana	40327,00	-3024,00		39745,00
Desv. Típ.	76325,295	NA		75190,381
Rango (Min-Max)	(-58443,0, 222166,0)	(-3024,0, -3024,0)		(-58443,0, 222166,0)

20

Ejemplo 4: Un estudio aleatorizado, sin enmascaramiento, de determinación de dosis en Fase 2 para evaluar la farmacodinamia y la seguridad del anticuerpo anti-FGF23, KRN23, en pacientes pediátricos con hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH)

Justificación:

La hipofosfatemia ligada al cromosoma X (XLH) es un trastorno de pérdida de fosfato renal, y la forma más común de heredable raquitismo. En pacientes con XLH, los niveles altos de factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF23) en circulación alteran la reabsorción normal de fosfato en los riñones. La hipofosfatemia y los niveles de 1,25-dihidroxitamina D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) bajos-normales en circulación son hallazgos bioquímicos típicos. Los niveles bajos de fósforo sérico resultan en hipomineralización del hueso y anomalías asociadas que incluyen raquitismo, arqueamiento de las piernas y baja estatura. La terapia del tratamiento de referencia actual (SOC, por sus siglas en inglés) consiste en múltiples dosis diarias de fosfato oral combinadas con dosis apropiadas de metabolitos de vitamina D activos. La terapia SOC, cuando se toma con un alto grado de cumplimiento y seguimiento, puede mejorar la enfermedad esquelética pero a menudo no trata completamente las

anomalías óseas y de crecimiento ni se dirige a la causa patofisiológica de la enfermedad: la pérdida de fosfato renal inducida por altos niveles de FGF23. La terapia SOC también requiere el seguimiento cuidadoso para evitar riesgos
5 potenciales tales como nefrocalcinosis, hipercalciuria e hiperparatiroidismo. Claramente se necesitan terapias más eficaces, seguras y convenientes.

El KRN23 es un anticuerpo IgG1 monoclonal completamente humano recombinante que se está desarrollando para tratar la
10 XLH mediante la unión e inhibición de la actividad de FGF23, restaurando así la homeostasis normal del fosfato. Se han llevado a cabo tres ensayos clínicos en adultos con XLH. Un estudio en Fase 1 estableció el perfil farmacocinético (PK) de KRN23. Un estudio en Fase 1/2 y un estudio de extensión
15 asociado evaluó la farmacodinamia (PD) de KRN23 sobre el metabolismo del fosfato y mediciones relacionadas del sistema de control mineral fosfato-calcio. Los datos de seguridad para estos estudios mostraron que KRN23 en dosis simple y repetidas mensualmente de hasta 1,0 mg/kg fue tolerado bien
20 por sujetos adultos con XLH. El KRN23 aumentó de forma suficiente los niveles de fósforo sérico, de forma que se esperarían mejoras en la fisiología, estructura y función ósea. Estos datos respaldan el inicio de estudios adicionales para evaluar el beneficio terapéutico de KRN23 en niños que

padecen las manifestaciones físicas y sanitarias más graves asociadas XLH. Actualmente, no hay tratamientos aprobados y existe una gran necesidad médica no atendida en pacientes pediátricos con XLH.

5 Los adultos y niños con XLH tienen el mismo defecto subyacente pero están en una estadio diferente de la enfermedad. En la niñez, los niveles normales de fósforo son más altos para promover la osificación, mientras que en los adultos, el rango normal es más bajo coincidente con la
10 demanda reducida para la osificación. Por lo tanto, puede ser preferible una dosificación más pequeña, más frecuente para pacientes pediátricos con hipofosfatemia para maximizar el efecto del tratamiento sin meseta, para llevar los niveles de fósforo sérico próximos al rango normal y minimizar las
15 concentraciones residuales. Este estudio en Fase 2 examinará la PD y la seguridad del KRN23 administrado en múltiples dosis y regímenes de dosificación en pacientes pediátricos con XLH.

El estudio constará de dos períodos: un Período de Titulación
20 de dosis individual de 16 semanas y un Período de Tratamiento de 48 semanas. Se evaluará la respuesta a la dosis de KRN23 en 3 niveles iniciales de dosis. También se compararán los regímenes de dosificación mensuales (Q4) y bisemanales (es decir, cada dos semanas; Q2). La dosificación de KRN23 se

ajustará individualmente cada 4 semanas según sea necesario, de acuerdo con los niveles de fósforo sérico. La meta es lograr niveles de fósforo sérico estables en el rango objetivo, mientras se minimizan los cambios en el sistema de control de calcio. Los datos recogidos en este estudio establecerán la estrategia de dosificación, y proporcionarán la información para la selección del diseño y criterio de valoración para un ensayo clínico en Fase 3 en niños con XLH.

10 *Objetivos*

Los objetivos del estudio son:

- Identificar una dosis y régimen de dosificación de KRN23, basado en la seguridad y el efecto PD, en pacientes pediátricos con XLH
- Establecer el perfil de seguridad de KRN23 para el tratamiento de niños con XLH incluido riesgo de mineralización ectópica, efectos cardiovasculares y perfil de inmunogenicidad
- Caracterizar el PK/PD de las dosis de KRN23 evaluadas en los regímenes de dosificación mensual (Q4) y bisemanal

(Q2)

en pacientes pediátricos con XLH

- Determinar los efectos PD del tratamiento con KRN23
5 sobre los marcadores de salud ósea en pacientes pediátricos
con
XLH
- Obtener una evaluación preliminar de los efectos
10 clínicos de KRN23 sobre la salud ósea y deformidad,
resistencia muscular y función motriz
- Obtener una evaluación preliminar de los efectos de
KRN23 sobre los resultados informados por el paciente,
15 incluidos dolor, incapacidad y calidad de vida en pacientes
pediátricos con XLH

Diseño del estudio y Metodología:

Este estudio es un estudio aleatorizado, con múltiples
20 centros, sin enmascaramiento, de determinación de dosis en
Fase 2. El estudio se llevará a cabo en niños prepúberes con
5-12 años con XLH para evaluar la PD y la seguridad de KRN23
administrado a través de inyección subcutánea (SC)
mensualmente (Q4, 28 días $\pm$ 3 días) o bisemanalmente (Q2, 14

días $\pm$ 2 días) para un total de 64 semanas. El estudio consta de un Período de titulación de dosis individual de 16 semanas y posteriormente un Período de Tratamiento de 48 semanas. En el estudio participarán aproximadamente 30 pacientes
5 pediátricos con XLH y evidencia radiográfica de enfermedad ósea. Los sujetos deberán suspender la terapia con fosfato oral y metabolito de vitamina D antes de la aleatorización y a lo largo de la duración del estudio.

Habrán 3 cohortes en este estudio (n= 10 por cohorte); cada
10 una con un grupo de dosificación Q4 (n= 5) y Q2 (n= 5). Se aleatorizará a los sujetos 1:1 para los regímenes de dosificación Q4 o Q2 dentro de cada cohorte; la aleatorización será estratificada por sexo del sujeto. A efectos de mantener un nivel de equilibrio de sexos, no más
15 de 20 pacientes de cada sexo pueden participar en el estudio. La participación en las cohortes comenzará de forma secuencial. La primera cohorte examinará la dosis más bajas (0,2 mg/kg Q4 y 0,1 mg/kg Q2) y comenzarán la participación primero. Como medida de precaución agregada en esta
20 población pediátrica, la segunda cohorte (0,4 mg/kg Q4 y 0,2 mg/kg Q2) no puede comenzar hasta que el cuarto sujeto en la primera cohorte complete la visita de la Semana 4. La tercera cohorte recibirá la administración de las dosis más altas (0,6 mg/kg Q4 y 0,3 mg/kg Q2).

El Período de Titulación de 16 semanas inicial pretende identificar la dosis de KRN23 necesaria para lograr el efecto PD máximo objetivo. La meta es identificar una dosis de KRN23 individualizada que mantiene los niveles de fósforo sérico en el rango objetivo, sin embargo, el nivel de dosis no debe superar los 2,0 mg/kg para el régimen Q4 y 1,0 mg/kg para el régimen Q2. El rango de fósforo sérico en ayunas objetivo para este estudio es 3,5-4,5 mg/dL (1,13-1,45 mmol/L), en función del efecto PD máximo de KRN23.

La dosis se ajustará cada 4 semanas, según sea necesario, en función de los niveles de fósforo sérico en ayunas (máximos) posdosis a 2 semanas. Se utilizará el esquema de titulación de dosis de KRN23 (Tabla 22) como guía en caso que el nivel de fósforo sérico en ayunas máximo esté fuera de rango objetivo. Si el nivel de fósforo sérico está subiendo pero aún no ha alcanzado el rango objetivo aceptable al final del Período de Titulación, la titulación puede continuar en el Período de Tratamiento hasta que se alcance el rango objetivo siempre que no haya problemas de seguridad.

Tabla 22: Esquema de titulación de dosis de KRN23

	Fósforo sérico (Posdosis a 2 semanas)	Ajuste de dosis ¹
5	<3,5mg/dL ² <1,13mmol/L	En 2 semanas, aumentar la dosis 0,1 mg/kg para Q2 0 0,2 mg/kg para Q4
	3,5-4,5 mg/dL 1,13-1,45mmol/L	Repetir dosis anterior
	>4,5mg/dL (1,45mmol/L) y ≤ ULN ajustado por edad	En 2 semanas, reducir la dosis 0,1 mg/kg para Q2 0 0,2 mg/kg para Q4
10	> ULN ajustado por edad	Saltear las siguientes 2 dosis para Q2 0 saltar la siguiente dosis para Q4, luego reiniciar la dosificación en el último nivel de dosificación

¹ Los ajustes de dosis para sujetos asignados al régimen Q2 solamente se harán después de 2 mediciones máximas consecutivas.

² Si el nivel de fósforo sérico de un sujeto no ha aumentado, definiéndose como un cambio no mayor que 0,1 mg/dL, después de 2 escalamientos de dosis consecutivos, incluso si no se ha alcanzado el rango objetivo, entonces la dosis anterior se considerará como la dosis optimizada del sujeto y no se escalará adicionalmente.

Al final de Período de Titulación, la población de 30 sujetos constará esencialmente de dos grupos de 15 sujetos, cada uno

con una dosificación individualmente optimizada de KRN23 a una frecuencia de Q4 semanas o Q2 semanas. Se planifica un análisis de seguridad y datos PD seleccionados al final del Período de Titulación (Semana 16). Se planifica un segundo análisis luego de las primeras 24 semanas del Período de Tratamiento (Semana 40) para comparar los resultados del tratamiento con el inicio (predosis). La Figura 17 proporciona un esquema del diseño general del estudio.

10 *Cantidad de sujetos:*

Participarán aproximadamente 30 sujetos pediátricos en el estudio. Los sujetos que se retiran o son retirados del estudio pueden ser reemplazados caso por caso.

15 *Diagnóstico y Criterios de Inclusión y Exclusión:*

Los individuos que reúnen las condiciones para participar en este estudio deben cumplir con todos los siguientes criterios:

- 1) Hombre o mujer, con 5 - 12 años, incluso, con placas de crecimiento abiertas
- 2) Estadio de Tanner de 2 o menos basado en desarrollo mamario y testicular (evaluado solo en niños ≥ 8 años)
- 3) Diagnóstico de XLH respaldado por UNO de los siguientes:

Mutación *PHEX* confirmada en el paciente o un miembro de la familia relacionado directamente con herencia ligada por el cromosoma X adecuada

Nivel de iFGF23 en suero ≥ 30 pg/mL mediante ensayo Kainos

5 4) Hallazgos bioquímicos asociados con XLH incluidos:

Fósforo sérico $\leq 2,8$ mg/dL (0,904 mmol/L)*

Creatinina en suero dentro del rango normal ajustado por edad*

10 5) Estatura baja tal como se define por una altura de pie $<25\%$ del percentil para la edad y sexo (según CDC 2000)

6) Evidencia radiográfica de enfermedad ósea activa incluido raquitismo en las muñecas y/o rodillas, Y/O arqueamiento femoral/tibial

15 7) Voluntad de proporcionar acceso a registros médicos anteriores para la recolección de datos de crecimiento, bioquímicos y radiográficos históricos y la historia de la enfermedad.

20 8) Proporcionar consentimiento oral o escrito (si es posible) y consentimiento informado escrito por un representante autorizado legalmente luego de explicar la naturaleza del estudio, y antes de cualquier procedimiento relacionado con la investigación

9) Deberá, en opinión del investigador, tener la voluntad y

ser capaz de completar todos los aspectos del estudio, cumplir con el programa de visitas del estudio y cumplir con las evaluaciones.

- 5 Los individuos que cumplen con cualquiera de los criterios de exclusión no reunirán las condiciones para participar en el estudio:
- 1) Uso de metabolito de vitamina D farmacológico o análogo (por ejemplo, calcitriol, doxercalciferol, y paricalcitol) en
10 los 14 días anteriores a la Visita de Selección 2; el lavado se producirá durante el Período de Selección
 - 2) Uso de fosfato oral en los 7 días anteriores a la Vista de Selección 2; el lavado se producirá durante el Período de Selección
 - 15 3) Uso de antiácidos de hidróxido de aluminio (por ejemplo, Maalox® y Mylanta®), corticoesteroides sistémicos y tiazidas en los 7 días anteriores a la Vista de Selección 1
 - 4) Uso de hormona de crecimiento en 1 año antes de la Visita de Selección 1
 - 20 5) Uso de bisfosfonatos durante 6 meses o más en los 2 años anteriores a la Visita de Selección 1
 - 6) La presencia de nefrocalcinosis en la ecografía renal graduada ≥ 3 en función de la siguiente escala:
0 = Normal

1 = Ligera banda hiperecogénica alrededor de las pirámides medulares

2 = Banda hiperecogénica más intensa con ecos llenando ligeramente toda la pirámide

5 3 = Ecos uniformemente intensos a lo largo de la pirámide

4 = Formación de cálculo: foco solitario de ecos en la punta de la pirámide

7) Cirugía ortopédica planificada o recomendada, incluidas grapas, placas en 8 u osteotomía, dentro del período del
10 ensayo clínico

8) Hipocalcemia o hipercalcemia, definida como niveles de calcio en suero fuera de los límites normales ajustados por la edad*

9) Evidencia de hiperparatiroidismo terciario tal como lo
15 determina el Investigador

10) Uso de medicamentos para suprimir la PTH (por ejemplo, Sensipar[®], cinacalcet) en los 2 meses anteriores a la

Vista de Selección 1

11) Presencia o antecedentes de cualquier afección que, en
20 opinión del investigador, pone al sujeto en alto riesgo de cumplir escasamente con el tratamiento o de no completar el estudio.

12) Presencia de una enfermedad o afección actual que interferiría con la participación en el estudio o afectaría

la seguridad

- 13) Positivo para anticuerpo del virus de la inmunodeficiencia humana, antígeno de superficie de la hepatitis B y/o anticuerpo de la hepatitis C
- 5 14) Antecedentes de infección recurrente o predisposición a infección, o inmunodeficiencia conocida
- 15) Uso de un anticuerpo monoclonal terapéutico en los 90 días anteriores a la Visita de Selección 1 o antecedentes de reacciones alérgicas o anafilácticas a cualquier anticuerpo
- 10 monoclonal
- 16) Presencia o antecedentes de cualquier hipersensibilidad a excipientes de KRN23 que, en opinión del investigador, ponen al sujeto en riesgo aumentado de padecer efectos adversos.
- 17) Uso de cualquier producto de investigación o dispositivo
- 15 médico de investigación en los 30 días anteriores a la selección, o necesidad de cualquier agente de investigación antes de completar todas las evaluaciones del estudio programadas.
- * Criterios que serán determinados en función de valores en
- 20 ayuno de toda la noche (min. 8 horas) recogidos en la Visita de Selección 2.

Producto de investigación, Dosis y modo de administración: El KRN23 es una solución estéril, transparente, incolora y libre

de conservantes en viales de 5 mL de uso único que contienen 1 mL de KRN23 a una concentración de 10 mg/mL o 30 mg/mL. Los sujetos recibirán el fármaco de estudio a través de inyección SC en el, parte superior de brazos y muslos; se rotará el sitio de la inyección con cada inyección. Los sujetos comenzarán a participar secuencialmente en las cohortes, comenzando con el grupo de dosis más baja, y se aleatorizarán hacia un régimen de dosificación (Q2 o Q4) (Figura 2.1), luego se titularán individualmente para lograr un rango de fósforo sérico en ayunas durante la noche objetivo de 3,5-4,5 mg/dL (1,13-1,45 mmol/L). La dosis máxima permitida en este protocolo es 2,0 mg/kg para el régimen Q4 y 1,0 mg/kg para el régimen Q2.

15 *Terapia de referencia, Dosis y modo de administración:* El diseño del estudio es sin enmascaramiento; todos los sujetos recibirán el producto de la investigación. No se administrará placebo ni terapia de referencia en este estudio.

20 *Duración del tratamiento:* El estudio consta de dos períodos: un Período de Titulación de dosis individual de 16 semanas seguido por un Período de Tratamiento de 48 semanas. La duración planificada del tratamiento en este estudio es de 64 semanas.

Criterios de evaluación.

Farmacodinámicos*:

- Fósforo sérico
- 5 • 1,25(OH)₂D en suero
- Fósforo en orina
- Reabsorción de fosfato: relación entre tasa de reabsorción máxima tubular renal de fosfato y tasa de filtración glomerular (TmP/GFR) y reabsorción tubular de fosfato (TRP)
- 10 • Biomarcadores óseos: propéptido-N del procolágeno tipo 1 (P1NP), telopéptido reticulado carboxiterminal del colágeno tipo 1 (CTx) y fosfatasa alcalina (ALP)

La sangre y la orina serán recogidas después de un ayuno
 15 mínimo durante toda la noche de 8 horas y antes de la administración del fármaco (si corresponde) por régimen de dosificación.

Eficacia - Salud ósea:

- 20 • Crecimiento: se medirán la altura de pie, altura sentado, longitud de brazo y longitud de pierna.

Los percentiles de crecimiento basados en la altura de puede serán derivados antes y luego del tratamiento si los datos de

antecedentes están disponibles

• Gravedad del raquitismo y anomalías epifisiales (placa de crecimiento): lecturas centrales de

radiografías bilateral posteroanterior (PA) de mano/muñeca y
 5 anteroposterior (AP) de rodilla utilizando un sistema de
 puntaje específico para la enfermedad cualitativo Radiograph
 Global Impression of Change (RGI-C) y una versión modificada
 de un escala desarrollada para raquitismo nutricional

• Deformidad de la extremidad inferior evaluada por la
 10 distancia intercondilar y la distancia intermaleolar.

Las anomalías específicas relacionados con deformidad de
 extremidad inferior y arqueamiento observadas en películas de
 piernas de pie también se evaluarán utilizando el sistema de
 puntaje cualitativo RGI-C

15 • Densidad o Contenido Mineral Óseo en el compartimento
 cortical y trabecular evaluada por tomografía computarizada
 XtremeCT del antebrazo y la tibia (llevada a cabo en sitios
 seleccionados dependiendo de la disponibilidad de equipo)

20 Eficacia - Resultados clínicos:

• Capacidad para caminar: Distancia total de prueba de seis
 minutos de caminata (6MWT, por sus siglas en inglés) y
 porcentaje normal previsto

• Función motriz macroscópica: Prueba de Proficiencia motriz

de Bruininks-Oseretsky – Segunda Edición

(BOT-2) subpruebas para evaluar la velocidad al correr, la agilidad y la resistencia

- 5 • Resistencia muscular: dinamometría de mano sostenida bilateral (HHD, por sus siglas en inglés) en los siguientes grupos musculares: motricidad gruesa, flexores de la rodilla, tensores de la rodilla, flexores de la cadera, extensores de la cadera y abductores de la cadera
- 10 • Incapacidad funcional y dolor: Pediatric Orthopedic Society of North America Pediatric Outcomes Data Collection Instrument (POSNAPODCI, siglas en inglés para Instrumento de recolección de datos de resultados pediátricos de la Sociedad Ortopédica Pediátrica de América del Norte)
- 15 • Calidad de vida relacionada con la salud: SF-10 para Encuesta de Salud en Niños (SF-10)

Farmacocinética:

- 20 • KRN23 en suero (nivel predosis)

Evaluaciones de seguridad: La seguridad se evaluará mediante la incidencia, frecuencia y gravedad de eventos adversos (AE) y eventos adversos graves (SAE), incluidos cambios

clínicamente significativos con respecto al inicio en los puntos de tiempo programados. Las variables de seguridad generales incluyen:

- Signos vitales y peso
 - 5 • Antecedentes de intervención y exámenes físicos
 - GFR
 - Química, hematología y urinálisis, incluidos parámetros bioquímicos adicionales de KRN23/XLH de interés (25(OH)D, amilasa, creatinina, y iFGF23 [total, unido y sin unir] en
 - 10 suero)
 - Toxicidades de evaluación y limitación de dosis de anticuerpos anti-KRN23
 - Medicamentos concomitantes
- 15 Las evaluaciones de seguridad de mineralización ectópica incluyen:
- Ecografía renal
 - ECHO y ECG
 - Calcio, fósforo y iPTH en suero ; calcio y creatinina en
 - 20 orina

Comité de monitoreo de datos (DMC, por su siglas en inglés):

Un DMC independiente que incluye miembros con experiencia en enfermedades óseas metabólicas y en la realización de ensayos

clínicos con niños actuará en calidad de consejero para monitorear la seguridad de los sujetos de forma rutinaria a lo largo del ensayo. El DMC también se reunirá para la revisión trimestral de datos.

5

Métodos estadísticos: Se proporcionará una descripción completa de las evaluaciones estadísticas en el Plan de Análisis Estadístico.

- 10 *Tamaño de la muestra:* Un tamaño de muestra de 10 por cohorte proporcionará al menos 90% de potencia para detectar un aumento del fósforo sérico desde el inicio de al menos 0,8mg/dL, asumiendo una desviación típica de 0,7 mg/dL o menor, en el nivel de significancia bilateral de 0,05.
- 15 Además, un tamaño de muestra total de 30 sujetos (15 sujetos por régimen Q4 o Q2) proporcionará al menos 90% de potencia para detectar una diferencia de 0,5 mg/dL entre los dos regímenes de dosificación asumiendo una desviación típica de 0,4 y un nivel de significancia bilateral de 0,05. Los
- 20 controls de fosfato y mineral están potenciados adecuadamente en basa a la experiencia clínico a la fecha con KRN23. El grado de potencia para la salud ósea dependerá del grado del efecto esperado que es desconocido. Sin embargo, la potencia para un control de fosfato adecuado deberá proporcionar el

potencial para mejorar la salud ósea en base a la experiencia previa con la terapia de reemplazo con fosfato oral.

Farmacodinamia y Análisis de eficacia: Los análisis de PD y eficacia que comparan los dos regímenes de dosificación se llevarán a cabo en la Semana 40 y en la Semana 64 siendo la Semana 0 el inicio. Además, los datos de PD y seguridad se resumirán para cada cohorte y cada régimen de dosificación en una cohorte después de que cada cohorte ha completado el Período de Titulación (Semana 16). Se utilizará Estadística Descriptiva para resumir los datos. Para las variables continuas, se proporcionarán la media, el error típico, la mediana y el máximo. Para los datos diferenciados, se proporcionarán la frecuencia y las distribuciones porcentuales. Se resumirán y evaluarán los cambios en el tiempo y la asociación de la eficacia con las variables PD.

Análisis de seguridad: Todos los sujetos que reciban cualquier cantidad de fármaco del estudio serán incluidos en el análisis de seguridad. Se evaluará la seguridad de cada cohorte y cada régimen de dosificación en una cohorte.

El estudio de múltiples dosis, de escalamiento de dosis en Fase 1/2 del Ejemplo 1 se llevó cabo en sujetos adultos con XLH. El KRN23 fue tolerado tras la administración SC de 4

dosis escaladas intrasujeto (0,05 mg/kg → 0,1 mg/kg → 0,3 mg/kg → 0,6 mg/kg) administradas una vez cada 28 días. La proporción de sujetos tratados con KRN23 con niveles de fósforo sérico en el rango objetivo ($>2,5$ a $\leq 3,5$ mg/dL) aumentó con el nivel de dosis de KRN23 pero no superó el límite superior del normal (4,5 mg/dL) en ningún sujeto en ningún punto de tiempo. Se observó una relación PK-PD directa entre las concentraciones de KRN23 en suero y los niveles de fósforo sérico en el estudio. En un estudio de extensión asociado del Ejemplo 2, las dosis de hasta 1,0 mg/kg de KRN23 administradas mensualmente se toleraron bien en sujetos adultos con XLH durante un período de 48 semanas.

Los adultos y niños con XLH tienen el mismo defecto subyacente pero están en una estadio diferente de la enfermedad. En la niñez, los niveles normales de fósforo son más altos para promover la osificación, mientras que en los adultos, el rango normal es más bajo coincidente con la demanda reducida para la osificación. El tratamiento exitoso de XLH exige un aumento sostenido en los niveles de fósforo sérico (Carpenter et al. 2011). Puede ser preferible una dosificación más pequeña, más frecuente para pacientes pediátricos con hipofosfatemia para maximizar el efecto del tratamiento, manteniendo los niveles de fósforo sérico próximos al rango normal y minimizar las concentraciones

residuales. Por lo tanto, los objetivos clave de este estudio son determinar el régimen de dosificación de KRN23 óptimo para pacientes pediátricos con XLH e identificar una dosis aceptable que posibilitará la mejora en el raquitismo y en las consecuencias clínicas asociadas, mientras se evita la hipercalciuria, la hipercalcemia y el hiperparatiroidismo.

La meta de hallazgo de dosis de este estudio es identificar un dosis individualizada de KRN23 que mantenga los niveles de fósforo sérico en el rango objetivo. El hallazgo de dosis se llevará a cabo de forma progresiva en tres cohortes de dosificación diferenciadas, evaluando cada una un nivel de dosis inicial y un régimen de dosificación diferentes (Q4 o Q2). Las dosis iniciales para todas las tres cohortes están por debajo de las dosis más altas estudiadas en adultos con XLH (1 mg/kg administrado mensualmente). El escalamiento de dosis se titulará individualmente en función de los efectos PD en el fósforo sérico, seguridad y tolerabilidad. La dosificación se iniciará y titulará de forma escalonada, controlada durante un período de 16 semanas hasta alcanzar niveles de fósforo sérico en un rango objetivo por debajo del límite superior ajustado por edad del normal.

Dado que los requisitos de fósforo en los niños en crecimiento son mayores que en adultos, el diseño proporciona un suministro para aumentar el nivel de

dosificación hasta 2,0 mg/kg para el régimen Q4 y 1,0 mg/kg para el régimen Q2. Los estudios previsto con KRN23 en pacientes adultos con XLH no exhibieron ningún efecto “inespecífico”, por lo tanto, se espera que el perfil de seguridad esté relacionado solo con el efecto PD, esencialmente el fósforo sérico aumentado. Dado que el rango objetivo de fósforo sérico está definido bastante por debajo del límite superior del normal, la probabilidad de un problema de seguridad relacionado con la dosis es baja. Los datos de eficacia en el control de fosfato de estos estudios anteriores también sugiere que se produce un meseta en el efecto entre 0,6-1,0 mg/kg que puede no ser el caso en pacientes pediátricos donde el metabolismo del fosfato es claramente diferente. Por lo tanto, el protocolo permite una flexibilidad limitada para adaptar la dosis incrementalmente más altas, si las dosis esperadas basadas en datos de adultos no son adecuadas para alcanzar un aumento aceptable en el fósforo sérico dentro del rango de seguridad aceptado. El rango objetivo para el fósforo sérico en ayunas para este estudio es 3,5-4,5 mg/dL(1,13-1,45 mmol/L), basado en el efecto PD máximo de KRN23, que es aproximadamente 14 días posdosis. El rango objetivo representa el rango inferior a medio de valores normales en niños. Este nivel es suficiente para mejorar el raquitismo y otros defectos óseos, mientras

se minimiza el riesgo de mineralización ectópica. La dosis se ajustará cada 4 semanas, según sea necesario, en base a los niveles de fósforo sérico en ayunas (máximos) posdosis de 2 semanas de acuerdo con el esquema de titulación detallado más adelante. El esquema de titulación (Tabla 23) se utilizará como guía para el ajuste de dosis en caso que el nivel de fósforo sérico en ayunas máximo caiga fuera del rango objetivo. Si el nivel de fósforo sérico aumenta pero aún no ha alcanzado el rango objetivo aceptable al finalizar el Período de Titulación, la titulación puede continuar en el Período de Tratamiento hasta alcanzar el rango objetivo siempre que no haya problemas de seguridad.

Tabla 23: Esquema de titulación de dosis de KRN23

15	Fósforo sérico (Posdosis a 2 semanas)	Ajuste de dosis¹
	<3,5mg/dL ² <1,13mmol/L	En 2 semanas, aumentar dosis 0,1 mg/kg para Q2 0 0,2mg/kg para Q4
	3,5–4,5 mg/dL 1,13–1,45mmol/L	Repetir dosis anterior
20	>4,5mg/dL (1,45mmol/L) y ≤ ULN ajustado por edad	En 2 semanas, reducir dosis 0,1 mg/kg para Q2 0 0,2mg/kg para Q4
	> ULN ajustado por edad	Saltear las siguientes 2 dosis para Q2 0 saltear la siguiente dosis para Q4, luego reiniciar la dosificación en el último nivel de dosificación

1 Los ajustes de dosis para sujetos asignados al régimen Q2
solamente se harán después de 2 mediciones máximas
consecutivas.

2 Si el nivel de fósforo sérico de un sujeto no ha
5 aumentado, definiéndose como un cambio no mayor que 0,1
mg/dL, después de 2 escalamientos de dosis consecutivos,
incluso si no se ha alcanzado el rango objetivo, entonces la
dosis anterior se considerará como la dosis optimizada del
sujeto y no se escalará adicionalmente.

10

La duración planificada del tratamiento en este estudio es de
64 semanas. El estudio consta de dos períodos: un Período de
Titulación de dosis individual de 16 semanas seguido por un
Período de Tratamiento de 48 semanas.

15

Ejemplo 5: Resultados preliminares del Estudio pediátrico en
Fase 2

Este ejemplo ilustra que la dosificación Q2W de KRN23
20 proporciona aumentos estables y continuos en los niveles de
fósforo sérico, mientras que un régimen de dosificación Q4W
produce concentraciones máximas y residuales de fósforo
sérico mayores.

En este ejemplo, había 18 pacientes con XLH en el grupo de

tratamiento Q2W, con 3 cohortes: (1) con una dosis inicial de 0,1 mg/kg, (2) con una dosis inicial de 0,2 mg/kg y (3) con una dosis inicial de 0,3 mg/kg. También había 18 pacientes en el grupo de tratamiento Q4W, con 3 cohortes: (1) con una
5 dosis inicial de 0,2 mg/kg, (2) con una dosis inicial de 0,4 mg/kg y (3) con una dosis inicial de 0,6 mg/kg. Los pacientes variaban en edad de 5 - 12 años, con una media de edad de 8,2 años.

Tal como se indicó en el ejemplo 4, la duración planificada
10 de este estudio es de 64 semanas y consta de dos períodos: un Período de Titulación de dosis individual de 16 semanas, seguido por un Período de Tratamiento de 48 semanas. Los niveles de fósforo sérico en el grupo de tratamiento Q2W en las 16 semanas de tratamiento se muestran en la FIG. 18, que
15 ilustra un aumento relativamente continuo y estable en los niveles de fósforo sérico durante las 16 semanas de tratamiento con KRN23. En cambio, los niveles de fósforo sérico en el grupo de tratamiento Q4W exhibieron concentraciones máximas y residuales mayores, tal como se
20 ilustra en la FIG. 19. Una comparación en paralelo de los niveles de fósforo sérico en el grupo de tratamiento Q2W con respecto al grupo de tratamiento Q4W en todas las cohortes se ilustra en la FIG. 20. Se muestra una ilustración numérica de las niveles de fósforo sérico en los grupos de tratamiento

Q2W y Q4W en 24 semanas en la Tabla 24, a continuación.

Tabla 24: Niveles de fósforo sérico por Régimen - General

5		Régimen	S0	S14	S16	S22	S24
	N	Q2	18	17	18	11	9
		Q4	18	17	17	12	10
	Media de F sérico; mg/dL	Q2	2,486	3,071	3,050	3,218	3,400
		Q4	2,272	3,300	2,529	3,325	2,830
	Media de F sérico; Δ con respecto al Inicio	Q2	-	0,571	0,567	0,673	0,700
10		Q4	-	1,012	0,229	1,033	0,460
	En el rango objetivo; N (%)	Q2	-	5 (29,4%)	9 (50%)	6 (54,5%)	7 (77,8%)
		Q4	-	12 (70,6%)	0 (0%)	9 (75,0%)	2 (20,0%)

De forma similar a las observaciones con los niveles de
 15 fósforo sérico, los niveles de TmP/GFR en el grupo de
 tratamiento Q2W también aumentaron de forma más continua y
 estable en comparación con el grupo de tratamiento Q4W. Los
 niveles de TmP/GFR en el grupo de tratamiento Q2W en 16
 semanas de tratamiento se muestran en la FIG. 21, mientras
 20 que los niveles TmP/GFR en el grupo de tratamiento Q4W se
 muestran en la 22. Una comparación en paralelo de los niveles
 de TmP/GFR en el grupo de tratamiento Q2W con respecto al
 grupo de tratamiento Q4W en todas las cohortes se ilustra en
 la FIG. 23. Se muestra una ilustración numérica de las

niveles de fósforo sérico en los grupos de tratamiento Q2W y Q4W en 24 semanas en la Tabla 25, a continuación.

Tabla 25: Niveles de TmP/GFR por Régimen - General

	Régimen	S0	S14	S16	S24
N	Q2	18	17	18	7
	Q4	17	16	16	8
Media de TmP/GFR; mg/dL	Q2	2,249	3,136	3,126	3,479
	Q4	1,987	3,418	2,298	2,644
Media de TmP/GFR; Δ con respecto al Inicio	Q2	-	0,864	0,876	1,054
	Q4	-	1,327	0,249	0,503

Los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ siguieron un perfil similar al del fósforo sérico. Se muestra una ilustración numérica de los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en los grupos de tratamiento Q2W y Q4W en 28 semanas en la Tabla 26, a continuación.

Tabla 26: Niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ por Régimen - General

	Régimen	S0	S14	S16	S28
N	Q2	18	17	18	7
	Q4	17	16	16	8
Media de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$; pg/mL	Q2	40,083	65,607	59,776	86,460
	Q4	40,578	77,775	50,639	47,933

También se midieron los niveles del biomarcador óseo fosfatasa alcalina sérica (ALP) y exhibieron una disminución en el tiempo para ambos regímenes de tratamiento, tal como se

ilustra en la FIG. 24.

En cuanto a la seguridad, no se observaron eventos adversos graves en las 16 semanas de tratamiento y no hubo eventos adversos que condujeran a la suspensión de la participación.

5 Esto sugiere que KRN23 es seguro y se tolera bien las primeras 16 semanas de los regímenes de dosificación Q2W y Q4W. Tampoco hubo cambios observables en los niveles de calcio en suero y orina, y cambios mínimos en la iPTH media, de forma similar a lo observado en adultos. Finalmente, se
10 observó que los niveles de FGF23 aumentaron a lo largo del tratamiento con KRN23, tal como se ilustra en la Tabla 27, a continuación.

Tabla 27: Niveles de iFGF23 por Régimen - General

15

	Régimen	Inicio	S8	S16	S28
N	Q2	18	18	18	4
	Q4	18	18	18	5
Media de iFGF23; pg/mL	Q2	163,6	144655,6	231368,9	314650,0
	Q4	165,7	101815,6	149015,0	131994,0

20 En conclusión, la respuesta a la dosis en los niveles de fósforo sérico parece ser similar en pacientes adultos y pediátricos, con concentraciones máximas y residuales notorias observadas en el régimen Q4W en comparación con un aumento mucho más continuo y más estable en el régimen Q2W.

Los resultados en este ejemplo indican además un aumento de aproximadamente 1 mg/dL en los niveles de fósforo sérico en respuesta a 1 mg/kg de KRN23 terapéutico. Además, los niveles de TmP/GFR y $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en general siguieron el mismo perfil
5 que los niveles de fósforo sérico en respuesta la dosificación Q2W y Q4W, con aumentos más estables y continuos en el tiempo en el grupo de tratamiento Q2W.

Las divulgaciones, incluidas las reivindicaciones, figuras
10 y/o dibujos, de todas y cada una de las patentes, solicitudes de patentes y publicaciones citadas en la presente se incorporan a la presente por referencia por la presente en su totalidad.

A menos que se defina de otra forma, todos los términos
15 científicos y técnicos utilizados en la presente tienen el mismo significado comúnmente conocido por un experto en la técnica a quien corresponde la presente invención. Aunque en la puesta en práctica o evaluación de la presente invención se pueden utilizar métodos y materiales similares o
20 equivalentes a los descritos en la presente, los métodos y materiales adecuados se describen en la presente. Todas las publicaciones, patentes y publicaciones de patentes mencionadas se incorporan por referencia a la presente en su totalidad a todos los efectos.

Las publicaciones descritas en la presente se proporcionan solo para su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en la presente debe interpretarse como una admisión de que la presente invención no está
5 habilitada para anticiparse a dicha publicación en virtud de la invención anterior.

Aunque la invención se ha descrito en conexión con realizaciones específicas de la misma, se entenderá que es posible realizar modificaciones adicionales y que está
10 solicitud pretende cubrir todas las variaciones, usos o adaptaciones de la invención siguiendo, en general, los principios de la invención e incluyendo dichas desviaciones de la presente divulgación que son conocidas o habituales en la práctica dentro de la técnica a la cual pertenece la
15 invención y tales como pueden aplicarse a las características esenciales establecidas anteriormente en la presente y tales como se describen en el alcance de las reivindicaciones adjuntas.