

MÉTODOS PARA TRATAR LA ENFERMEDAD DE POMPE

CAMPO TÉCNICO

La divulgación se refiere a métodos para tratar la enfermedad de Pompe mediante la administración de α -glucosidasa humana recombinante.

5

ANTECEDENTES

La enfermedad de Pompe (también conocida como enfermedad por almacenamiento de glucógeno de tipo II (GSD-II, por sus siglas en inglés) o enfermedad por deficiencia de maltasa ácida) es una enfermedad hereditaria por almacenamiento lisosómico que es resultado de una deficiencia en la actividad de la α -glucosidasa ácida (GAA, por sus siglas en inglés). Una persona que tiene la enfermedad de Pompe carece o tiene niveles reducidos de α -glucosidasa ácida (GAA), la enzima que descompone el glucógeno en glucosa, principal fuente de energía para los músculos. Esta deficiencia enzimática provoca una acumulación en exceso de glucógeno en los lisosomas, que son organelas intra-celulares que contienen enzimas que habitualmente descomponen el glucógeno y otros desechos o productos residuales celulares. La acumulación de glucógeno en determinados tejidos de un sujeto que padece la enfermedad de Pompe, especialmente los músculos, afecta a la capacidad de las células para actuar con normalidad. En la enfermedad de Pompe, el glucógeno no se metaboliza adecuadamente y se acumula progresivamente en los lisosomas, especialmente en células del músculo esquelético, en la forma de inicio infantil de la enfermedad, en células del músculo cardíaco. La acumulación de glucógeno lesiona las células musculares y nerviosas, así como aquellas en otros tejidos afectados.

El tratamiento actual no paliativo de la enfermedad de Pompe implica la terapia de reemplazo enzimático (ERT, por sus siglas en inglés) usando productos de α -glucosidasa alfa recombinante comercializados con las marcas registradas LUMIZYME® y MYOZYME® y productos de α -glucosidasa alfa comercializados con la marca registrada NEXVIAZYME®. Esta terapia de reemplazo enzimático convencional busca tratar la Enfermedad de Pompe reemplazando la GAA ausente en lisosomas administrando rhGAA, restableciendo de este modo la capacidad de

las células para descomponer el glucógeno lisosómico. LUMIZYME®/MYOZYME® y NEXVIAZYME® son formas convencionales de rhGAA producidas o comercializadas como productos biológicos por Sanofi Genzyme y aprobadas por la Administración de Alimentos y Fármacos de los EE.UU. y se describen con referencia al *Physician's Desk Reference* (2014) (que se incorpora en el presente documento por referencia).

Sin embargo, la ERT comercializada actualmente, en el mejor de los casos, ofrece una mejora limitada en las mediciones de la función muscular, la fuerza y la función respiratoria durante una duración finita seguida de un lento declive de estos parámetros (Toscano y Schoser, (2013) *J Neurol* 260, 951-959; Wyatt et al., (2012) *Health Technol Assess* 16(39)). Existe la necesidad de tratamientos para la enfermedad de Pompe que ofrezcan una mejora a largo plazo.

SUMARIO

En el presente documento se proporciona un método para mejorar y/o estabilizar la función motora y/o la función pulmonar durante al menos 24 meses, al menos 36 meses o al menos 48 meses en un sujeto que tiene la enfermedad de Pompe, comprendiendo el método administrar al sujeto una población de moléculas de α -glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA), simultáneamente o secuencialmente con un estabilizador enzimático; en donde cada molécula de rhGAA comprende siete sitios de N-glicosilación potenciales; en donde el 40 %-60 % de los N-glicanos en las moléculas de rhGAA son N-glicanos de tipo complejo; en donde las moléculas de rhGAA comprenden al menos 0.5 mol de bis-manosa-6-fosfato (bis-M6P) por mol de rhGAA en el primer sitio de N-glicosilación potencial determinado usando cromatografía de líquidos y espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS); y en donde el método mejora y/o estabiliza la función motora, la fuerza muscular y/o la función pulmonar en el sujeto en comparación con el valor basal.

En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto con experiencia con terapia de reemplazo enzimático (ERT).

En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD, por sus siglas en inglés) es de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, o 35 metros a los 12 o 24 meses después del inicio del tratamiento.

En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) es de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46 o 47 metros a los 36 meses después del inicio del tratamiento.

En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, el sujeto tiene una 6MWD basal de: (a) al menos 300 metros; o (b) menos de 300 metros.

En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, la fuerza muscular se mide mediante un ensayo muscular manual (MMT, por sus siglas en inglés); y la mejora con respecto al valor basal en una puntuación de extremidades inferiores de MMT es de al menos 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 puntos a los 12, 24, 36, 48 meses después del inicio del tratamiento.

En algunas realizaciones de métodos para el tratamiento de un sujeto con experiencia con ERT, el sujeto tiene una puntuación de extremidades inferiores de MMT basal de: (a) al menos 25; o (b) menos de 25.

En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, la función pulmonar se mide mediante un ensayo de capacidad vital forzada (FVC, por sus siglas en inglés) en sedestación y el porcentaje predicho de FVC del sujeto es estable en comparación con el valor basal a los 24 meses o 36 meses después del inicio del tratamiento.

En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, el sujeto tiene un porcentaje predicho basal de FVC de: (a) al menos el 50 %; o (b) menos del 50 %.

5 En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT había sido tratado previamente con alglucosidasa alfa. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT había sido tratado previamente con alglucosidasa alfa durante de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 años. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT había sido tratado previamente con alglucosidasa alfa durante al menos aproximadamente 7 años. En algunas realizaciones, el sujeto
10 con experiencia con ERT no es ambulatorio. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT es ambulatorio.

En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto sin tratamiento previo con ERT.

15 En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) es de al menos 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, o 60 metros a los 12, 24, 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento.

20 En algunas realizaciones de los métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) es de al menos 34, 35, 40, 41, 42, 43, 44 o 45 metros a los 36 meses después del inicio del tratamiento.

25 En algunas realizaciones de métodos para el tratamiento de un sujeto sin tratamiento previo con ERT, el sujeto tiene una 6MWD basal de: (a) al menos 300 metros; o (b) menos de 300 metros.

30 En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la fuerza muscular se mide mediante un ensayo muscular manual (MMT, por sus siglas en inglés); y la mejora con respecto al valor basal en una

puntuación de extremidades inferiores de MMT es de al menos 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 puntos a los 12, 24, 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento.

5 En algunas realizaciones de métodos para el tratamiento de un sujeto sin tratamiento previo con ERT, el sujeto tiene una puntuación de extremidades inferiores de MMT basal de: (a) al menos 25; o (b) menos de 25.

10 En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función pulmonar se mide mediante un ensayo de capacidad vital forzada (FVC) en sedestación; y la mejora con respecto al valor basal en el porcentaje predicho de FVC del sujeto es de al menos el 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.5, 6.0, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7 6.8, 7.0, 7.5, 8.0% a los 12, 24, 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento.

15 En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función pulmonar se mide mediante un ensayo de capacidad vital forzada (FVC) en sedestación; y la mejora con respecto al valor basal en el porcentaje predicho de FVC del sujeto es de al menos el 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1 o 6.2 % a los 36 meses después del inicio del tratamiento.

20 En algunas realizaciones de métodos para el tratamiento de un sujeto sin tratamiento previo con ERT, el sujeto tiene un porcentaje predicho basal de FVC de a) al menos el 50 %; o b) menos del 50 %.

25 En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos divulgados en el presente documento, el método reduce además los niveles de al menos un marcador de daño muscular y/o al menos un marcador de acumulación de glucógeno en el sujeto en comparación con el valor basal. En algunas realizaciones, el al menos un marcador de daño muscular es la creatina cinasa (CK) y/o el al menos un marcador de acumulación de glucógeno es el tetrasacárido de hexosa en orina (Hex4).

En algunas realizaciones, la población de moléculas de rhGAA se administra a una dosis de 5 mg/kg a 20 mg/kg, opcionalmente 20 mg/kg.

En algunas realizaciones, la población de moléculas de rhGAA se administra quincenalmente. En algunas realizaciones, la población de moléculas de rhGAA se administra por vía intravenosa.

5 En algunas realizaciones, el estabilizador enzimático es miglustat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde además opcionalmente el miglustat o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra por vía oral. En algunas realizaciones, el miglustat o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra a una dosis de 195 mg o 260 mg.

10 En algunas realizaciones, el miglustat o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra antes de la administración de la población de moléculas de rhGAA, opcionalmente una hora antes de la administración de la población de moléculas de rhGAA. En algunas realizaciones, el sujeto ayuna durante al menos dos horas antes y al menos dos horas después de la administración de miglustat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En algunas realizaciones, las moléculas de rhGAA comprenden una secuencia de aminoácidos al menos un 95 % idéntica a la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones, las moléculas de rhGAA comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 6.

20 En algunas realizaciones, al menos el 30 % de las moléculas de rhGAA comprenden una o más unidades de N-glicano que llevan un resto de manosa-6-fosfato (mono-M6P) o bis-M6P, como se determina usando LC-MS/MS.

25 En algunas realizaciones, las moléculas de rhGAA comprenden de media de 0.5 mol a 7.0 mol de mono-M6P o bis-M6P por mol de rhGAA, como se determina usando LC-MS/MS.

En algunas realizaciones, las moléculas de rhGAA comprenden de media de 2.0 a 8.0 mol de ácido siálico por mol de rhGAA, como se determina usando LC-MS/MS.

En algunas realizaciones, las moléculas de rhGAA comprenden de media al menos 2.5 mol de M6P por mol de rhGAA y al menos 4 mol de ácido siálico por mol de rhGAA, como se determina usando LC-MS/MS.

5 En algunas realizaciones, por mol de rhGAA, las moléculas de rhGAA comprenden de media: (a) de 0.4 a 0.6 mol de mono-M6P en el segundo sitio de N-glicosilación potencial; (b) de 0.4 a 0.6 mol de bis-M6P en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial; o (c) de 0.3 a 0.4 mol de mono-M6P en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial; en donde (a)-(c) se determinan usando LC-MS/MS.

10 En algunas realizaciones, por mol de rhGAA, las moléculas de rhGAA comprenden además de 4 mol a 7.3 mol de ácido siálico; y, por mol de rhGAA, las moléculas de rhGAA comprenden de media: (a) de 0.9 a 1.2 mol de ácido siálico en el tercer sitio de N-glicosilación potencial; (b) de 0.8 a 0.9 mol de ácido siálico en el quinto sitio de N-glicosilación potencial; o (c) de 1.5 a 4.2 mol de ácido siálico en el sexto sitio de N-glicosilación potencial; en donde (a)-(c) se determinan usando LC-MS/MS.

15 En algunas realizaciones, la población de moléculas de rhGAA se formula en una composición farmacéutica que comprende además al menos un tampón, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.

20 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además al menos un tampón seleccionado del grupo que comprende un citrato, un fosfato y una combinación de los mismos, y al menos un excipiente seleccionado del grupo que comprende manitol, polisorbato 80 y una combinación de los mismos; en donde la composición farmacéutica tiene un pH de 5.0 a 7.0.

25 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 5.0 a 6.0.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además agua, un agente acidificante, un agente alcalinizante o una combinación de los mismos.

30 En algunas realizaciones, en la composición farmacéutica, la población de moléculas de rhGAA está presente a una concentración de 5-50 mg/ml, el al menos

un tampón es un tampón de citrato de sodio presente a una concentración de 10-100 mM, el al menos un excipiente es manitol presente a una concentración de 10-50 mg/ml y el polisorbato 80 está presente a una concentración de 0.1-1 mg/ml, y la composición farmacéutica comprende además agua y opcionalmente comprende un agente acidificante y/o un agente alcalinizante; en donde la composición farmacéutica tiene un pH de 6.0.

En algunas realizaciones, en la composición farmacéutica, la población de moléculas de rhGAA está presente a una concentración de 15 mg/ml, el tampón de citrato de sodio está presente a una concentración de 25 mM, el manitol está presente a una concentración de 20 mg/ml y el polisorbato 80 está presente a una concentración de 0.5 mg/ml.

En algunas realizaciones, la rhGAA se produce a partir de células de ovario de hámster chino.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1A muestra un N-glicano con alto contenido de manosa no fosforilado, un N-glicano mono-M6P y un N-glicano bis-M6P. La FIG. 1B muestra la estructura química del grupo M6P. Cada cuadrado representa N-acetilglucosamina (GlcNAc), cada círculo representa manosa y cada P representa fosfato.

La FIG. 2A describe el direccionamiento productivo de rhGAA a través de N-glicanos que llevan M6P a tejidos diana (por ejemplo, tejidos musculares del sujeto con enfermedad de Pompe). La FIG. 2B describe el aclaramiento de fármaco no productivo en tejidos no diana (por ejemplo, hígado y bazo) o mediante la unión de N-glicanos no M6P a tejidos no diana.

La FIG. 3 es un diagrama esquemático de un proceso de ejemplo para la fabricación, captura y purificación de una proteína lisosómica recombinante.

La FIG. 4 muestra una construcción de ADN para transformar células CHO con ADN que codifica rhGAA.

La FIG. 5 es un gráfico que muestra los resultados de la cromatografía de afinidad de CIMPR de rhGAA ATB200 con (Realización 2) y sin (Realización 1) captura en una columna de intercambio aniónico (AEX, por sus siglas en inglés).

Las FIG. 6A - FIG. 6H muestran los resultados de un análisis de N-glicosilación específica de sitio de rhGAA ATB200, usando dos técnicas analíticas de LC-MS/MS diferentes. La FIG. 6A muestra la ocupación de sitios de los siete sitios de N-glicosilación potenciales para ATB200. La FIG. 6B muestra dos análisis del perfil de N-glicosilación del primer sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 6C muestra dos análisis del perfil de N-glicosilación del segundo sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 6D muestra dos análisis del perfil de N-glicosilación del tercer sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 6E muestra dos análisis del perfil de N-glicosilación del cuarto sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 6F muestra dos análisis del perfil de N-glicosilación del quinto sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 6G muestra dos análisis del perfil de N-glicosilación del sexto sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 6H resume el porcentaje relativo de especies monofosforiladas y bisfosforiladas para el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto y sexto sitios de N-glicosilación potenciales.

La FIG. 7 es un gráfico que muestra los perfiles de elución de Polywax de LUMIZYME® (línea más fina, que eluye a la izquierda) y ATB200 (línea más gruesa, que eluye a la derecha).

La FIG. 8 es una tabla que muestra un resumen de las estructuras de N-glicano de LUMIZYME® en comparación con tres preparaciones diferentes de rhGAA ATB200, identificadas como BP-rhGAA, ATB200-1 y ATB200-2.

La FIG. 9A y la FIG. 9B son gráficos que muestran los resultados de la cromatografía de afinidad de CIMPR de LUMIZYME® y MYOZYME®, respectivamente.

La FIG. 10 es un gráfico que compara la afinidad de unión a CIMPR de rhGAA ATB200 (trazo izquierdo) con la de LUMIZYME® (trazo derecho).

La FIG. 11A es un gráfico que compara la actividad de rhGAA ATB200 (trazo izquierdo) con la actividad de rhGAA LUMIZYME® (trazo derecho) en el interior de los fibroblastos normales a diversas concentraciones de GAA. La FIG. 11B es una tabla que compara la actividad de rhGAA ATB200 (trazo izquierdo) con la actividad

de rhGAA LUMIZYME® (trazo derecho) dentro de los fibroblastos de un sujeto que tiene la enfermedad de Pompe en diversas concentraciones de GAA. La FIG. 11C es una tabla que compara la $K_{captación}$ de fibroblastos de sujetos normales y sujetos con enfermedad de Pompe.

5 La FIG. 12 representa la estabilidad de ATB200 en tampones de pH ácido o neutro evaluada en un ensayo de termoestabilidad usando SYPRO Orange, ya que la fluorescencia del colorante aumenta cuando las proteínas se desnaturalizan.

10 La FIG. 13 muestra el contenido de glucógeno tisular de ratones TS o ratones con inactivación de Gaa tratados con un vehículo, alglucosidasa alfa o ATB200/miglustat, determinado usando digestión con amiloglucosidasa. Las barras representan la Media $\pm$ EEM de 7 ratones/grupo. * $p < 0.05$ en comparación con alglucosidasa alfa en comparación múltiple usando el método de Dunnett en análisis ANOVA unidireccional.

15 La FIG. 14 representa vesículas positivas para LAMP1 en fibras musculares de ratones con inactivación de Gaa tratados con un vehículo, alglucosidasa alfa o ATB200/miglustat o ratones TS. Las imágenes se tomaron del vasto lateral y fueron representativas de 7 ratones por grupo. Aumento = 200x (1,000x en los recuadros).

20 La FIG. 15A muestra agregados positivos para LC3 en fibras musculares de ratones con inactivación de Gaa tratados con un vehículo, alglucosidasa alfa o ATB200/miglustat o ratones TS. Las imágenes se tomaron del vasto lateral y fueron representativas de 7 ratones por grupo. Aumento = 400x. La FIG. 15B muestra un análisis por transferencia Western de la proteína LC3 II. Se cargó un total de 30 mg de proteína en cada carril.

25 La FIG. 16 muestra la expresión de Disferlina en fibras musculares de ratones con inactivación de Gaa tratados con un vehículo, alglucosidasa alfa o ATB200/miglustat o ratones TS. Las imágenes se tomaron del vasto lateral y fueron representativas de 7 ratones por grupo. Aumento = 200x.

30 La FIG. 17 representa la tinción co-inmunofluorescente de LAMP1 (verde) (véase, por ejemplo, "B") y LC3 (rojo) (véase, por ejemplo, "A") en fibras individuales aisladas del gastrocnemio blanco de ratones con inactivación de Gaa tratados con

un vehículo, alglucosidasa alfa o ATB200. "C" representa el aclaramiento de desechos autofágicos y la ausencia de lisosomas agrandados. Se examinó un mínimo de 30 fibras de cada animal.

La FIG. 18 representa la estabilización de ATB200 por miglustat a 17 μ M y miglustat 170 μ M, respectivamente, en comparación con ATB200 sola.

Las FIG. 19A – FIG. 19H muestran los resultados de un análisis de N-glicosilación de sitio específico de rhGAA ATB200, incluyendo un perfil de N-glicosilación para el séptimo sitio de N-glicosilación potencial, usando análisis por LC-MS/MS de ATB200 digerida por proteasa. Las FIG. 19A – FIG. 19H proporcionan datos promedio de diez lotes de ATB200 producidos a diferentes escalas.

La FIG. 19A muestra la ocupación de sitios promedio de los siete sitios de N-glicosilación potenciales para ATB200. Los sitios de N-glicosilación se proporcionan de acuerdo con la SEQ ID NO: 1. CV = coeficiente de variación.

Las FIG. 19B - FIG. 19H muestran los análisis de N-glicosilación específica de sitio de los siete sitios de N-glicosilación potenciales para ATB200, con números de sitio proporcionados de acuerdo con la SEQ ID NO: 5. Las barras representan el porcentaje máximo y mínimo de especies de N-glicanos identificadas como un grupo de N-glicanos particular para los diez lotes de ATB200 analizados. La FIG. 19B muestra el perfil de N-glicosilación del primer sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 19C muestra el perfil de N-glicosilación del segundo sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 19D muestra el perfil de N-glicosilación del tercer sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 19E muestra el perfil de N-glicosilación del cuarto sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 19F muestra el perfil de N-glicosilación del quinto sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 19G muestra el perfil de N-glicosilación del sexto sitio de N-glicosilación potencial para ATB200. La FIG. 19H muestra el perfil de N-glicosilación del séptimo sitio de N-glicosilación potencial para ATB200.

Las FIG. 20A – FIG. 20B caracterizan adicionalmente y resumen el perfil de N-glicosilación del ATB200, como también se muestra en las Fig. 19A-19H. La FIG. 20A muestra el mapeo de glicanos de ácido 2-antranílico (2-AA) y el análisis por

LC/MS-MS de ATB200 y resume las especies de N-glicanos identificadas en ATB200 como porcentaje de la fluorescencia total. En la Tabla 6 también se representan datos del mapeo de glicanos 2-AA y del análisis por LC-MS/MS. La FIG. 20B resume la ocupación de sitios promedio y el perfil de N-glicanos promedio, incluyendo la fosforilación, la monofosforilación, la bisfosforilación y la sialilación totales, para los siete sitios de N-glicosilación potenciales para ATB200. ND = no detectado.

La FIG. 21 muestra el esquema de diseño del estudio ATB200-03.

La FIG. 22 muestra las características basales de distancia caminada en 6 minutos (6MWD) y capacidad vital forzada (FVC) en sedestación de los 122 sujetos que participaron en el estudio ATB200-03. Grupo de AT-GAA: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Grupo de alglucosidasa alfa: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 23A representa los datos de 6MWD y FVC, que muestran el valor basal, el cambio con respecto al valor basal ("CFBL", por sus siglas en inglés) en la semana 52, la diferencia y el valor de P, para la población global (n=122). Grupo de AT-GAA: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Grupo de alglucosidasa alfa: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 23B representa los datos de 6MWD y FVC que muestran el cambio con respecto al valor basal a lo largo del tiempo para la población global (n=122). Grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Alglucosidasa alfa/placebo: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 24 representa los datos de 6MWD y FVC, que muestran el valor basal, el CFBL en la semana 52, la diferencia y el valor de P, para la población con experiencia con ERT (n=95). Grupo de AT-GAA: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Grupo de alglucosidasa alfa: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 25 representa los cambios de 6MWD y FVC con respecto al valor basal en la semana 12, la semana 26, la semana 38 y la semana 52, para la población con experiencia con ERT (n=95).

La FIG. 26A representa los datos de 6MWD y FVC, que representan el valor basal, el CFBL en la semana 52, la diferencia y el valor de P, para la población sin tratamiento previo con ERT (n=27). Grupo de AT-GAA: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Grupo de alglucosidasa alfa: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 26B representa los datos de 6MWD y FVC que muestran el cambio con respecto al valor basal a lo largo del tiempo para la población sin tratamiento previo con ERT (n=27). Grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Alglucosidasa alfa/placebo: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 27 representa las características basales de los criterios de valoración secundarios clave y los biomarcadores para la población global y la población con experiencia con ERT. Grupo de AT-GAA: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Grupo de alglucosidasa alfa: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 28 representa los cambios del ensayo muscular manual (MMT, por sus siglas en inglés) inferior con respecto al valor basal en la semana 12, la semana 26, la semana 38 y la semana 52, para la población global (izquierda) y la población con experiencia con ERT (derecha).

La FIG. 29 representa los cambios de marcha, escaleras, Gowers, silla (GSGC, por sus siglas en inglés) con respecto al valor basal en la semana 12, la semana 26, la semana 38 y la semana 52, para la población global (izquierda) y la población con experiencia con ERT (derecha). Grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Alglucosidasa alfa/placebo: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 30 representa el sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes (PROMIS) para los cambios en la función física con respecto al valor basal en la semana 12, la semana 26, la semana 38 y la semana 52, para la población global (izquierda) y la población con experiencia con ERT (derecha).

La FIG. 31 representa el PROMIS para los cambios en la fatiga con respecto al valor basal en la semana 12, la semana 26, la semana 38 y la semana 52, para la población global (izquierda) y la población con experiencia con ERT (derecha).

La FIG. 32 representa los cambios del biomarcador creatina cinasa (CK) con respecto al valor basal en la semana 12, la semana 26, la semana 38 y la semana 52, para la población global (izquierda) y la población con experiencia con ERT (derecha).

La FIG. 33 representa los cambios del biomarcador tetrasacárido de hexosa (Hex4) en orina con respecto al valor basal en la semana 12, la semana 26, la semana 38 y la semana 52, para la población global (izquierda) y la población con experiencia con ERT (derecha).

La FIG. 34 muestra el mapa de calor de los criterios de valoración primarios, secundarios y de biomarcadores para la población global (izquierda) y la población con experiencia con ERT (derecha). Grupo de AT-GAA: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Grupo de alglucosidasa alfa: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo.

La FIG. 35 resume los datos de seguridad del estudio ATB200-03. Grupo de AT-GAA: sujetos que recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat; Grupo de alglucosidasa alfa: sujetos que recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo. TEAE: acontecimiento adverso emergente del tratamiento, por sus siglas en inglés; IAR: reacción asociada a la infusión, por sus siglas en inglés.

La FIG. 36 resume los resultados del estudio ATB200-03.

La FIG. 37 describe los objetivos del estudio y los métodos estadísticos del estudio ATB200-03.

La FIG. 38 describe los criterios de valoración primarios y secundarios del estudio ATB200-03.

La FIG. 39 resume la disposición de los pacientes del estudio ATB200-03.

La FIG. 40 resume los datos demográficos basales del estudio ATB200-03.

5 La FIG. 41 muestra análisis de subgrupos para el cambio con respecto al valor basal en 6MWD y FVC por estado basal en la población global (n=122) (Conjunto A) y pacientes con experiencia con ERT (n=95) (Conjunto B) en el estudio ATB200-03.

10 La FIG. 42 muestra una lista de acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) en $\geq 10\%$ de los pacientes de cualquier grupo en el estudio ATB200-03.

La FIG. 43 muestra el diseño del estudio para el estudio de Fase I/II ATB200-02. El asterisco indica que la ERT previa fue con alglucosidasa alfa 20 mg/kg C.2.S. C.2.S., cada 2 semanas

15 La FIG. 44 muestra un resumen de los criterios de valoración y cohortes informados para el estudio ATB200-02.

20 La FIG. 45 muestra las características basales y la disposición de los pacientes para el estudio ATB200-02. El asterisco indica que 1 paciente sin tratamiento previo con ERT había recibido 1 dosis de alglucosidasa alfa >6 meses antes de entrar en el estudio. M significa metros; H:M significa relación hombre:mujer; N/A significa no aplicable; DE significa desviación estándar.

25 Las FIG. 46A – FIG. 46D muestran el cambio medio con respecto al valor basal (CFBL) en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) a lo largo del tiempo en sujetos con experiencia con ERT (FIG. 46A, 46 C) y sin tratamiento previo con ERT (FIG. 46B, 46D) en el estudio ATB200-02.

Las FIG. 47A – FIG. 47B muestran el cambio medio con respecto al valor basal (CFBL) en el porcentaje predicho de capacidad vital forzada (FVC) en sedestación a lo largo del tiempo en sujetos con experiencia con ERT (FIG. 47A) y sin tratamiento previo con ERT (FIG. 47B) en el estudio ATB200-02.

Las FIG. 48A – FIG. 48B muestran el cambio medio con respecto al valor basal (CFBL) en la puntuación de extremidades inferiores de ensayo muscular manual (MMT) a lo largo del tiempo en sujetos con experiencia con ERT (FIG. 48A) y sin tratamiento previo con ERT (FIG. 48B) en el estudio ATB200-02.

5 Las FIG. 49A – FIG. 49B muestran el porcentaje de cambio medio con respecto a el valor basal (CFBL) en los niveles de tetrasacárido de hexosa (Hex4) en orina (FIG. 49A) y en los niveles de creatina cinasa (CK) en plasma (FIG. 49B) en sujetos con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT en el estudio ATB200-02.

10 La FIG. 50 muestra un resumen de los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) en el estudio ATB200-02. El asterisco indica linfoma difuso de linfocitos B grandes. IAR significa reacción asociada a la infusión; TEAE significa acontecimiento adverso emergente del tratamiento con fecha de inicio en o después de la primera dosis del fármaco de estudio.

15 La FIG. 51 muestra una comparación de los efectos a largo plazo de cipaglucosidasa alfa/miglustat y avalglucosidasa alfa sobre el cambio con respecto al valor basal para la 6MWD y el porcentaje predicho de FVC (sedestación) en sujetos con experiencia con ERT.

20 La FIG. 52 muestra una comparación de los efectos a largo plazo de cipaglucosidasa alfa/miglustat y avalglucosidasa alfa sobre el cambio con respecto al valor basal para la 6MWD y el porcentaje predicho de FVC (sedestación) en sujetos sin tratamiento previo con ERT.

25 Las FIG. 53A – FIG. 53B muestran el porcentaje predicho del ensayo de caminata de 6 minutos (6MWT, por sus siglas en inglés) durante el tratamiento de sujetos con experiencia con ERT con alglucosidasa alfa. La FIG. 53B muestra los datos vueltos a representar de la FIG. 53A sólo a partir del año 2 en adelante.

La FIG. 54 muestra el porcentaje predicho de FVC durante el tratamiento de sujetos con experiencia con ERT con alglucosidasa alfa.

La FIG. 55 muestra un resumen de los criterios de valoración y cohortes para la Cohorte 2 (pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios) del estudio ATB200-02.

La FIG. 56 muestra las características basales y la disposición de los pacientes para la Cohorte 2 (pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios) del estudio ATB200-02. El asterisco indica que la evaluación basal es el último resultado no ausente en o antes de la administración de la primera dosis de la medicación del estudio (dosis de coadministración de cipaglucosidasa alfa 20 mg/kg + 260 mg de miglustat). H:M significa relación hombre:mujer; DE significa desviación estándar.

La FIG. 57 muestra el cambio con respecto al valor basal (CFBL) en el porcentaje predicho de capacidad vital forzada (FVC) en sedestación a lo largo del tiempo en la Cohorte 2 (pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios).

La FIG. 58 muestra un resumen de los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) para la Cohorte 2 (pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios) en el estudio ATB200-02. El asterisco indica urticaria considerada como IAR. IAR significa reacción asociada a la infusión; TEAE significa acontecimiento adverso emergente del tratamiento con fecha de inicio en o después de la primera dosis del fármaco de estudio.

La FIG. 59 muestra las características basales de los siete estudios clínicos identificados por la revisión bibliográfica sistemática (SLR, por sus siglas en inglés)

La FIG. 60 muestra los resultados de eficacia longitudinales frente al ensayo para la 6MWD (m) y FVC (% predicho) según los cambios con respecto al valor basal para cada uno de los estudios identificados.

La FIG. 61 muestra una Red para la 6MWD (m) y FVC en sedestación (% predicho).

La FIG. 62 muestra un diagrama de bosque de las estimaciones del efecto relativo con intervalos de credibilidad del 95 % para la 6MWD en el escenario del caso base (análisis principal).

La FIG. 63 muestra un diagrama de bosque de las estimaciones del efecto relativo con intervalos de credibilidad del 95 % para la FVC en el escenario del caso base (análisis principal).

5 La FIG. 64 muestra un diagrama de bosque de las estimaciones del efecto relativo con intervalos de credibilidad del 95 % para la 6MWD según la duración de la ERT.

La FIG. 65 muestra un diagrama de bosque de las estimaciones del efecto relativo con intervalos de credibilidad del 95 % para la FVC según la duración de la ERT.

10 La FIG. 66 muestra un diagrama de bosque de las estimaciones del efecto relativo con intervalos de credibilidad del 95 % para la 6MWD en el escenario del caso base (análisis de sensibilidad).

15 La FIG. 67 muestra un diagrama de bosque de las estimaciones del efecto relativo con intervalos de credibilidad del 95 % para la FVC en el escenario del caso base (análisis de sensibilidad).

La FIG. 68 muestra el diseño del estudio y la disposición de los pacientes para el estudio ATB200-07.

La FIG. 69 resume los datos demográficos basales del estudio ATB200-07.

20 Las FIG. 70A-70B muestran el cambio medio con respecto al valor basal en el % predicho de 6MWD (FIG. 70A) y en 6MWD (FIG. 70B) para pacientes con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT en el estudio ATB200-07.

La FIG. 71 muestra el cambio medio con respecto al valor basal de % predicho de FVC para los pacientes con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT en el estudio ATB200-07

25 La FIG. 72 muestra el cambio medio con respecto al valor basal en la CK sérica para los pacientes con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT en el estudio ATB200-07

30 La FIG. 73 muestra el cambio medio con respecto al valor basal en la Hex4 en orina para los pacientes con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT en el estudio ATB200-07.

La FIG. 74 muestra el resumen del estudio ATB200-07.

La FIG. 75 es un gráfico que muestra las distribuciones de N-glicanos marcados con 2-AA identificadas por análisis por LC-FLD para alglucosidasa alfa y tres preparaciones de cipaglucoasidasa alfa.

5 La FIG. 76A representa el control de carga de proteínas de una transferencia Western para alglucosidasa alfa tratada con simulación, cipaglucoasidasa alfa tratada con simulación y cipaglucoasidasa alfa tratada con fosfatasa ácida púrpura (PAP). La Fig. 76B muestra una transferencia Western que representa los niveles de proteína GAA de las muestras mostradas en 76A. 76C muestra una variación de una transferencia Western lejano para determinar la unión a CIMPR para las
10 muestras en 76A. 76D es un gráfico que muestra la actividad de la enzima 4MU- α -glucosidasa para las muestras mostradas en 76A.

La Fig. 77A es un gráfico que muestra la captación de rhGAA internalizada en el interior de mioblastos de músculo esquelético a diversas concentraciones de rhGAA. La Fig. 77B compara la actividad GAA de fibroblastos derivados de
15 pacientes con enfermedad de Pompe en el interior para alglucosidasa alfa tratada con simulación, cipaglucoasidasa alfa tratada con simulación y cipaglucoasidasa alfa tratada con PAP a una concentración de GAA de 20 nM. La Fig. 77C es una transferencia Western que representa el contenido de GAA de lisados celulares mostrados en la Fig. 77B después de la captación.
20

La Fig. 78 es un gráfico que muestra el efecto de la administración de cipaglucoasidasa alfa (20 mg/kg, 12 inyecciones quincenales en embolada) a largo plazo frente a alglucosidasa alfa sobre el tamaño de las fibras musculares mediante el diámetro de fibras (FD) mínimo medio en el cuádriceps de ratones con
25 inactivación de Gaa.

La Fig. 79 ilustra un esquema de diseño para el Estudio ATB200-02.

La Fig. 80 ilustra un esquema de diseño para el Estudio ATB200-03.

La Fig. 81 es un gráfico de líneas para la media (EE) de MC del cambio con respecto al valor basal en la puntuación de extremidades inferiores de MMT a lo

largo del tiempo (Población ITT-LOCF) para la población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo los sujetos 4005-2511 en el Estudio ATB200-03.

La Fig. 82 es un gráfico de líneas para la media (EE) de MC del cambio con respecto al valor basal en la puntuación total de PROMIS-Función física a lo largo del tiempo (Población ITT-LOCF) para la población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo los sujetos 4005-2511 en el Estudio ATB200-03.

La Fig. 83 es un gráfico de líneas para la media (EE) de MC del cambio en la puntuación total de PROMIS-Fatiga (Población ITT-LOCF) para la población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo los sujetos 4005-2511 en el Estudio ATB200-03.

La Fig. 84 es un gráfico de líneas para la media (EE) de MC del cambio con respecto al valor basal en la puntuación total de GSGC a lo largo del tiempo (Población ITT-LOCF) para la población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo los sujetos 4005-2511 en el Estudio ATB200-03.

La Fig. 85 es un gráfico de barras que resume todos los criterios de valoración para la población de ITT excluyendo al sujeto atípico 4005-2511 en el Estudio ATB200-03.

La Fig. 86 es un gráfico de barras que ilustra el bienestar físico global de SGIC en la semana 52 en comparación con el valor basal en el Estudio ATB200-03.

La Fig. 87A es un gráfico de barras que ilustra la proporción de sujetos con cambio con respecto al valor basal en la semana 52 en 6MWD (metros) agrupados por intervalos consolidados (ITT-LOCF excluyendo al sujeto 4005-2511) en el Estudio ATB200-03. La Fig. 87B es un gráfico de barras que ilustra la proporción de sujetos con cambio con respecto al valor basal en la semana 52 en el % Predicho de FVC en Sedestación agrupados por intervalos consolidados (ITT-LOCF excluyendo al sujeto 4005-2511) en el Estudio ATB200-03. La Fig. 87C es un gráfico de barras que ilustra la proporción de sujetos con respuestas compuestas tanto en 6MWD como en el % Predicho de FVC en la semana 52 (ITT-LOCF excluyendo al sujeto 4005-2511) en el Estudio ATB200-03.

La Fig. 88 es un gráfico de líneas para la Media ($\pm$ EE) del cambio con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 a lo largo del tiempo en 6MWD (metros) para la población de OLE-ES excluyendo al sujeto 4005-2511 como se proporciona en el Estudio ATB200-07.

5 La Fig. 89 es un gráfico de líneas para la media ($\pm$ EE) del cambio con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 a lo largo del tiempo en el % predicho de FVC en sedestación para la población de OLE-ES excluyendo al sujeto 4005-2511 como se proporciona en el Estudio ATB200-07.

10 La Fig. 90A es un gráfico de líneas para la Media ($\pm$ EE) del cambio con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 a lo largo del tiempo en CK (U/l) para la población de OLE-ES excluyendo al sujeto 4005-2511 como se proporciona en el Estudio ATB200-07. La Fig. 90B es un gráfico de líneas para la Media ($\pm$ EE) del cambio con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 a lo largo del tiempo en Hex4 (mmol/mol de creatinina) para la población de OLE-ES excluyendo al sujeto
15 4005-2511 como se proporciona en el Estudio ATB200-07.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En el presente documento se proporcionan métodos para tratar la enfermedad de Pompe que comprenden administrar a un individuo una α -glucosidasa humana recombinante (rhGAA) y un estabilizador enzimático, en donde
20 los métodos proporcionan beneficios a largo plazo (por ejemplo, mejora y/o estabilización de la función motora, la fuerza muscular y/o la función pulmonar). Los métodos proporcionados en el presente documento también tienen un perfil de seguridad favorable. Los beneficios prolongados de los métodos proporcionados en el presente documento son una mejora de las opciones actuales de terapia de
25 reemplazo enzimático (ERT) para el tratamiento de la enfermedad de Pompe.

Las opciones de ERT actuales para tratar la enfermedad de Pompe ofrecen mejoras de duración limitada, seguidas de un declive lento. En 2012, se realizó una revisión sistemática de todos los estudios realizados en sujetos con enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD, por sus siglas en inglés) (Toscano y Schoser, (2013)
30 *J Neurol* 260, 951-959). La revisión incluyó datos de 368 sujetos con LOPD de

estudios publicados, incluyendo 27 sujetos juveniles (intervalo de edad: de 2 a 17 años) y 251 sujetos adultos que recibieron alglucosidasa alfa durante al menos los 2 años anteriores. Los resultados indicaron que > 30 % de los sujetos no mostraron una mejora inicial durante el tratamiento con alglucosidasa alfa y siguieron experimentando un deterioro de las funciones musculares y respiratorias a pesar del tratamiento. En el grupo de sujetos que respondieron inicialmente al tratamiento con alglucosidasa alfa, varios estudios adicionales a más largo plazo mostraron que las mejoras por lo general duraban sólo aproximadamente 2 años. A partir de entonces, los sujetos se estabilizaron antes de comenzar a decaer progresivamente.

En 2012, el programa de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del Reino Unido, como parte del Instituto Nacional de Investigación Sanitaria (Wyatt et al., (2012) *Health Technol Assess* 16(39), publicó recomendaciones extraídas de la revisión de los datos longitudinales para 81 pacientes con enfermedad de Pompe (incluyendo las formas de inicio infantil y tardío (niños y adultos) que recibieron el tratamiento de referencia de ERT aprobado actual, alglucosidasa alfa. Se evaluaron marcadores clave de la progresión de la enfermedad de Pompe (capacidad vital forzada, dependencia de ventilación, movilidad, Ensayo de marcha de 6 minutos, fuerza muscular e índice de masa corporal) y se modelaron a lo largo del tiempo del tratamiento con terapia de alglucosidasa alfa. Los resultados de esta evaluación indicaron que se produjeron mejoras en la FVC, la distancia caminada en 6 minutos y la fuerza muscular de los pacientes con LOPD durante los 2 primeros años después del comienzo de la ERT con alglucosidasa alfa, y que se produjo un declive con la continuación del tratamiento más allá de este plazo. Adicionalmente, un estudio de 3 años en 38 sujetos con LOPD que recibieron alglucosidasa alfa mostró que los sujetos demostraron una mejora de la función motora en el primer año de tratamiento, que se mantuvo en general estable en el segundo año y comenzó a decaer en el tercer año (Regnery et al., (2012) *Journal of Inherited Metabolic Disease* 35: 837–845).

Además, un informe que proporciona un seguimiento de 10 años de un estudio de Fase 3 de LUMIZYME® (Sanofi Genzyme) mostró que después de

experimentar cierta mejora de la función motora y pulmonar durante el primer par de años de tratamiento, los sujetos comenzaron a decaer lentamente con el tratamiento en curso (van der Ploeg et al., (2017) *European journal of neurology* 24.6: 768-e31). En el estudio, desde el tercer al sexto año de tratamiento, hubo un descenso promedio de aproximadamente el 10 % en el porcentaje predicho de la distancia caminada en 6 minutos, y aproximadamente el 80 % de los sujetos experimentaron un declive.

El problema de tolerabilidad más grave de la alglucosidasa alfa es la aparición de reacciones asociadas a la infusión (RAI), que, en algunos casos pueden incluir anafilaxia potencialmente mortal u otras respuestas alérgicas graves (Resumen de las características del producto MYOZYME®, diciembre de 2018). El tratamiento de estos acontecimientos incluye la reducción de la dosis, la las tasas de infusión reducidas y la prolongación de los tiempos de infusión, así como la interrupción o suspensión de la dosis. También se usa regularmente la premedicación con antihistamínicos y corticoides (antes de la infusión) para prevenir y reducir la aparición y la gravedad de las IAR y las hipersensibilidades relacionadas con la infusión de alglucosidasa alfa. A pesar de estas medidas, los pacientes con enfermedad de Pompe pueden seguir experimentando IAR, y algunos no pueden tolerar infusiones regulares de la ERT aprobada actualmente.

En 2017, el Consorcio Europeo de Pompe, una red de expertos de 11 países europeos en el campo de la enfermedad de Pompe, realizó una revisión sistemática de la bibliografía (van der Ploeg et al., (2017) *European journal of neurology* 24.6: 768-e31). A partir de los datos obtenidos de un estudio clínico y 43 estudios observacionales, que abarcan un total de 586 sujetos adultos individuales, el consorcio evaluó las pruebas de un efecto de la ERT a nivel de grupo. El consenso actual del Consorcio Europeo de Pompe es interrumpir el tratamiento con ERT tras la aparición de IAR graves o un empeoramiento clínico progresivo de los síntomas de la enfermedad, así como la aparición de títulos elevados de anticuerpos neutralizantes (Ab), que inactivan eficazmente el tratamiento con ERT existente. La recomendación de consenso del Consorcio Europeo de Pompe también incluyó la

consideración de reiniciar el tratamiento con ERT si la progresión de la enfermedad y el empeoramiento clínico reaparecen después de haber detenido la ERT.

La captación celular de una molécula de rhGAA se ve facilitada por el hidrato de carbono especializado, manosa-6-fosfato (M6P), que se une al receptor de manosa-6-fosfato independiente de cationes (CIMPR, por sus siglas en inglés) presente en las células diana, tales como las células musculares. Tras la unión, la molécula de rhGAA es recogida por las células diana y posteriormente se transporta a los lisosomas dentro de las células. Sin embargo, la mayoría de los productos de rhGAA convencionales carecen de un alto contenido total de N-glicanos que llevan mono-M6P y bis-M6P (es decir, N-glicanos que llevan un resto de M6P o N-glicanos que llevan dos restos de M6P, respectivamente), lo que limita su captación celular a través de CIMPR y el suministro lisosómico, haciendo que la terapia de reemplazo enzimático convencional no sea suficientemente eficaz. Por ejemplo, aunque los productos de rhGAA convencionales a dosis de 20 mg/kg o superiores mejoran algunos aspectos de la enfermedad de Pompe, no son capaces de tratar adecuadamente, entre otras cosas, (i) la disfunción celular subyacente, (ii) restablecer la estructura muscular o (iii) reducir el glucógeno acumulado en muchos tejidos diana, tales como los músculos esqueléticos, para revertir la progresión de la enfermedad. Además, dosis mayores pueden imponer cargas adicionales al sujeto, así como a los profesionales médicos que tratan al sujeto tal como alargar el tiempo de infusión necesario para administrar rhGAA por vía intravenosa.

La glicosilación de GAA o rhGAA puede modificarse enzimáticamente *in vitro* por la fosfotransferasa y enzimas de descubrimiento descritas por Canfield, et al., Patente de los EE.UU. N.º 6,534,300, para generar grupos M6P. Sin embargo, la glicosilación enzimática no se puede controlar adecuadamente y puede producir rhGAA que tenga propiedades inmunitarias y farmacológicas no deseables. Las rhGAA modificadas enzimáticamente pueden contener sólo oligosacáridos con alto contenido de manosa que potencialmente podrían fosforilarse enzimáticamente *in vitro* con una fosfotransferasa o una enzima descubridora. Los modelos de glicosilación producidos por el tratamiento enzimático *in vitro* de GAA son

problemáticos debido a los restos manosa terminales adicionales, particularmente restos manosa terminales no fosforilados que afectan negativamente a la farmacocinética de la rhGAA modificada. Cuando un producto enzimáticamente modificado de este tipo se administra *in vivo*, estos grupos manosa aumentan el aclaramiento no productivo de la GAA, aumentan la absorción de la GAA modificada enzimáticamente por las células inmunitarias y reducen la eficacia terapéutica de la rhGAA debido a la menor cantidad de GAA que llega a los tejidos diana, tales como miocitos de músculo esquelético. Por ejemplo, restos manosa no fosforilados terminales son ligandos conocidos para los receptores de manosa en el hígado y el bazo, lo que conduce a un rápido aclaramiento de la rhGAA enzimáticamente modificada y a un direccionamiento reducido de rhGAA al tejido diana. Además de ello, el modelo de glicosilación de GAA enzimáticamente modificada que tiene N-glicanos con alto contenido de manosa con restos manosa no fosforilados terminales se asemeja a las glicoproteínas producidas en levaduras y mohos, y aumenta el riesgo de desencadenar respuestas inmunitarias o alérgicas tales como reacciones alérgicas (anafilácticas) graves o de hipersensibilidad potencialmente mortales, debido a la rhGAA enzimáticamente modificada.

En comparación con los productos de rhGAA recombinante convencionales y la rhGAA fosforilada *in vitro*, la rhGAA utilizada en la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación tiene un perfil de N-glicanos optimizado para la biodistribución y la captación lisosómica potenciadas, minimizando de este modo el aclaramiento no productivo de la rhGAA una vez administrada. La presente divulgación proporciona a los pacientes con Pompe estables o en declive una terapia eficaz que invierte la progresión de la enfermedad a nivel celular, incluyendo el aclaramiento del glucógeno lisosómica de forma más eficiente que el tratamiento de referencia actual. Los pacientes tratados con la terapia de dos componentes de la presente divulgación que comprende rhGAA y un estabilizador enzimático (por ejemplo, miglustat) presentan mejoras significativas de la salud, incluyendo mejoras y/o estabilización de la fuerza muscular, la función motora y/o la función pulmonar, y/o incluyendo una reversión de la progresión de la enfermedad.

Además, una comparación de tres ensayos clínicos aleatorizados (LOTS: alglucosidasa alfa frente a placebo; COMET: avalglucosidasa alfa frente a alglucosidasa alfa; y PROPEL: cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa) comparten la 6MWD y el % predicho de FVC como criterios de valoración primarios o secundarios clave. Usando datos de pacientes del ensayo clínico aleatorizado (RCT, por sus siglas en inglés) PROPEL, más los datos agregados publicados de otros RCT, ensayos de Fase I/II y ensayos de extensión abiertos, se realizó una metarregresión en red multinivel, ajustando para diversas covariables basales, incluyendo la duración del ERT previo. El escenario del caso base tenía covariables que se asemejaban a las de la población de PROPEL (sin tratamiento previo y con experiencia con ERT) y analizaba el cambio de 6MWD y FVC con respecto al valor basal a las 52 semanas. Cipaglucosidasa alfa/miglustat se vio favorecida frente a alglucosidasa alfa y avalglucosidasa alfa para la 6MWD y la FVC, con efectos relativos de 6MWD de 16.3 metros (intervalo de confianza del 95 %: 9.6-24.3) y 29.5 metros (7.4-52.6), respectivamente, y efectos relativos de FVC del 3.1 % (2.4-3.8) y 2.8 % (1.0-4.6), respectivamente. Para los sujetos sin tratamiento previo, los efectos relativos de cipaglucosidasa alfa/miglustat siguieron siendo significativos para ambos criterios de valoración, excepto cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a Aval para la FVC: 0.4 % (-0.8-1.7). Estos resultados sugieren que cipaglucosidasa alfa/miglustat puede diferenciarse clínicamente en pacientes con LOPD en criterios de valoración motores y respiratorios clave, particularmente en la población con experiencia con ERT.

DEFINICIONES

Los términos utilizados en la presente memoria descriptiva generalmente tienen sus significados habituales en la técnica, dentro del contexto de la presente divulgación y en el contexto específico en donde se usa cada término. A continuación, o en cualquier otra parte en la memoria descriptiva, se analizan algunos términos o expresiones para proporcionar una orientación adicional al experto para describir las composiciones y métodos de la divulgación y cómo producirlos y usarlos. Los artículos "un" y "una" se refieren a uno o más de uno (es

decir, al menos a uno) del objeto gramatical del artículo. El término "o" significa, y se usa indistintamente con, el término "y/o", a menos que el contexto indique claramente otra cosa. En esta memoria descriptiva, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Además, el uso del término "incluye", así como otras formas, tales como "incluyen" e "incluido", no son limitantes. Se entenderá que cualquier intervalo descrito en el presente documento incluye los puntos finales y todos los valores entre los puntos finales. En la presente memoria descriptiva, excepto cuando el contexto requiere otra cosa debido al lenguaje expreso o la implicación necesaria, la palabra "comprender" o variaciones tales como "que comprende" se usa en un sentido inclusivo, es decir, para especificar la presencia de las características indicadas, pero sin excluir la presencia o adición de otras características en diversas realizaciones de la divulgación.

El término "GAA" se refiere a α -glucosidasa ácida humana (GAA), enzima que cataliza la hidrólisis de enlaces α -1,4 y α -1,6-glucosídicos de glucógeno lisosómico, así como a variantes de inserción, relación o sustitución de las secuencias de aminoácidos de GAA y fragmentos de una secuencia de GAA más larga que ejerce actividad enzimática. La α -glucosidasa ácida humana está codificada por el gen GAA (ID del Gen del National Centre for Biotechnology Information (NCBI) 2548), que se ha mapeado en el brazo largo del cromosoma 17 (ubicación 17q25.2-q25.3). Una secuencia de ejemplo de aminoácidos de GAA es NP 000143.2, que se incorpora por referencia. Esta divulgación abarca también secuencias de ADN que codifican la secuencia de aminoácidos de NP 000143.2. En el gen de GAA humana se han identificado actualmente más de 500 mutaciones, muchas de las cuales se asocian a la enfermedad de Pompe. Las mutaciones que dan como resultado el plegamiento incorrecto o el procesamiento incorrecto de la enzima α -glucosidasa ácida incluyen T1064C (Leu355Pro) y C2104T (Arg702Cys). Además, las mutaciones de GAA que afectan a la maduración y el procesamiento de la enzima incluyen Leu405Pro y Met519Thr. Se necesita el hexapéptido WIDMNE conservado (SEQ ID N: 7) en los restos de aminoácido 516-521 para la actividad de la proteína α -glucosidasa ácida. Como se usa en el presente

documento, se pretende que la abreviatura "GAA" se refiera a la enzima α -glucosidasa ácida humana, mientras que se pretende que la abreviatura en cursiva "GAA" se refiera al gen humano que codifica la enzima α -glucosidasa ácida humana. Se pretende que la abreviatura "Gaa" se refiera a genes no humanos que codifican enzimas α -glucosidasas ácidas no humanas, incluyendo, pero sin limitación, genes de rata o ratón, y se pretende que la abreviatura "Gaa" se refiera a enzimas α -glucosidasas ácidas no humanas.

Se pretende que el término "rhGAA" se refiera a la enzima α -glucosidasa ácida humana recombinante y se usa para distinguir la GAA sintética y/o producida por recombinación (por ejemplo, GAA producida a partir de células CHO u otras células hospedadoras transformadas con ADN que codifica GAA) a partir de GAA endógena. En consecuencia, la rhGAA no incluye la GAA endógena. El término "rhGAA" abarca una población de moléculas individuales de rhGAA. En el presente documento se proporcionan características de la población de moléculas de rhGAA. Se pretende que la expresión "producto de rhGAA convencional" se refiera a productos que contienen α -glucosidasa alfa, tal como LUMIZYME® o MYOZYME®, o α -glucosidasa alfa, tal como NEXVIAZYME®.

La expresión "modificada genéticamente" o el término "recombinante" se refieren a células, tales como células CHO, que expresan un producto génico particular, tal como rhGAA, después de la introducción de un ácido nucleico que comprende una secuencia codificante que codifica el producto génico, junto con elementos reguladores que controlan la expresión de la secuencia codificante. La introducción del ácido nucleico puede lograrse mediante cualquier método conocido en la técnica, incluyendo el direccionamiento génico y la recombinación homóloga. Como se usa en el presente documento, la expresión incluye además células que se han modificado por ingeniería para expresar o sobreexpresar un gen endógeno o un producto génico que no es expresado normalmente por dicha célula, por ejemplo, mediante tecnología de activación génica.

Como se usa en el presente documento, se pretende que la expresión " α -glucosidasa alfa" se refiera a una α -glucosidasa ácida humana recombinante

identificada como [199-arginina,223-histidina]prepro- α -glucosidasa (humana); Número de Registro de los Resúmenes Químicos 420794-05-0. La alglucosidasa alfa se aprobó para su comercialización en los Estados Unidos por Sanofi Genzyme, como los productos LUMIZYME® y MYOZYME®.

5 Como se usa en el presente documento, se pretende que la expresión "avalglucosidasa alfa" se refiera a una α -glucosidasa ácida humana recombinante identificada como avalglucosidasa alfa-ngpt; Número de Registro de los Resúmenes Químicos 1802558-87-7. La Avalglucosidasa alfa está aprobada para su comercialización en los Estados Unidos por Sanofi Genzyme, como el producto
10 NEXVIAZYME®.

Como se usa en el presente documento, se pretende que el término "ATB200" se refiera a una α -glucosidasa ácida humana recombinante descrita en la Solicitud de Pat. Internacional N.º PCT/2015/053252, la Pat. de los EE.UU. N.º 10,208,299 y la Pat. de los EE.UU. N.º 10,961,522, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. ATB200
15 también se denomina "cipaglucosidasa alfa". En algunas realizaciones, "ATB200" se refiere a una rhGAA con un alto contenido de N-glicanos que llevan mono-M6P y bis-M6P, que se produce a partir de una estirpe celular GA-ATB200 y se purifica usando métodos descritos en el presente documento.

20 Como se usa en el presente documento, se pretende que el término "glicano" se refiera a un oligosacárido unido covalentemente a un resto de aminoácido en una proteína o polipéptido. Como se usa en el presente documento, se pretende que la expresión "N-glicano" o "glicano unido a N" se refiera a una cadena de polisacárido unida a un resto de asparagina en una proteína o polipéptido mediante un enlace
25 covalente a un átomo de nitrógeno del resto de asparagina. En algunas realizaciones, las unidades de N-glicano unidas a una rhGAA se determinan mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) utilizando un instrumento tal como el espectrómetro de masas Thermo Scientific™ Orbitrap Velos Pro™, el espectrómetro de masas Thermo Scientific™

Orbitrap Fusion™ Lumos Tribid™ o el espectrómetro de masas Waters Xevo® G2-XS QTof.

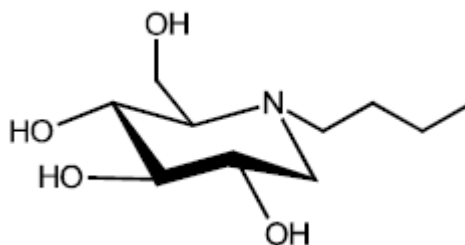
Como se usa en el presente documento, se pretende que la expresión "glicano que lleva mono-M6P" o "glicano que lleva bis-M6P" se refiera a una unidad de N-glicano de la clase mono-fosforilada (mono-M6P) o bis-fosforilada (bis-M6P) como parte de todos los tipos de N-glicano, a menos que se indique específicamente que es del tipo de N-glicano de alto contenido de manosa o de la clase de N-glicano híbrido.

Como se usa en el presente documento, la capacidad vital forzada, o "FVC", es la cantidad de aire que puede exhalarse por la fuerza de los pulmones de un sujeto después de que el sujeto realice la respiración más profunda posible.

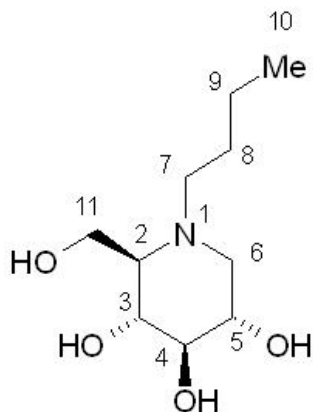
Como se usa en el presente documento, un "ensayo de caminata de seis minutos" (6MWT) es un ensayo para medir la distancia que un individuo es capaz de caminar durante un total de seis minutos sobre una superficie dura y plana. El ensayo se realiza haciendo que el individuo camine lo más lejos posible en seis minutos.

Como se usa en el presente documento, un "ensayo de caminata de diez metros" (10MWT, por sus siglas en inglés) es un ensayo para medir el tiempo que tarda una persona con calzado para caminar en caminar diez metros sobre una superficie plana.

Como se usa en el presente documento, el compuesto miglustat, también conocido como N-butil-1-desoxinojirimicina NB-DNJ o (2R,3R,4R,5S)-1-butil-2-(hidroximetil)piperidin-3,4,5-triol, es un compuesto que tiene la siguiente fórmula química:



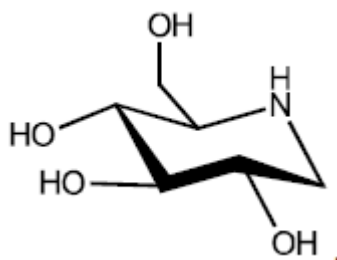
Como alternativa se muestra como:



Una formulación de miglustat se comercializa con el nombre comercial ZAVESCA® como monoterapia para la enfermedad de Gaucher de tipo 1. En algunas realizaciones, el miglustat se denomina AT2221.

Como se describe a continuación, en la presente divulgación también pueden usarse sales farmacéuticamente aceptables de miglustat. Cuando se usa una sal de miglustat, la dosificación de la sal se ajustará de tal manera que la dosis de miglustat recibida por el paciente sea equivalente a la cantidad que habría recibido si se hubiera usado la base libre de miglustat.

Como se usa en el presente documento, el compuesto duvoglustat, también conocido como 1-desoxinojirimicina o DNJ o (2R,3R,4R,5S)-2-(hidroximetil)piperidin-3,4,5-triol, es un compuesto que tiene la siguiente fórmula química:



Como se usa en el presente documento, la expresión "estabilizador enzimático" se refiere a una molécula que se une específicamente a la α -glucosidasa ácida y tiene uno o más de los siguientes efectos:

- potencia la formación de una conformación molecular estable de la proteína;
- potencia el tráfico adecuado de la proteína desde el retículo endoplásmico a otra ubicación celular, preferentemente una ubicación celular nativa, para evitar la degradación de la proteína asociada al retículo endoplásmico;
- impide la agregación de proteínas conformacionalmente inestables o mal plegadas;
- restablece y/o potencia al menos parcialmente la función, estabilidad y/o actividad de tipo silvestre de la proteína;
- mejora el fenotipo o la función de la célula que alberga la α -glucosidasa ácida; y/o
- estabiliza la α -glucosidasa ácida *in vitro* y/o *in vivo* (por ejemplo, en el torrente sanguíneo de un paciente).

Los estabilizadores enzimáticos también se conocen en ocasiones como "chaperonas farmacológicas".

Por lo tanto, un estabilizador enzimático para la α -glucosidasa es una molécula que se une a la α -glucosidasa ácida, dando como resultado un plegamiento, tránsito, no agregación y/o actividad adecuados de la α -glucosidasa ácida. En al menos una realización, el estabilizador enzimático es miglustat. Otro ejemplo no limitante de un estabilizador enzimático para la α -glucosidasa ácida es duvoglustat.

Como se usa en el presente documento, se pretende que la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiera a entidades y composiciones moleculares que son fisiológicamente tolerables y que generalmente no producen reacciones adversas cuando se administran a un ser humano. Preferentemente, como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa que ha sido aprobada por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que ha sido enumerada en la Farmacopea de Estados Unidos u otras farmacopeas

reconocidas en general para su uso en animales y, más particularmente, en seres humanos. Como se usa en el presente documento, el término "portador" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra un compuesto. Se conocen en la técnica portadores farmacéuticamente adecuados y, en al menos una realización, se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martin, 18.^a Edición, u otras ediciones.

Se pretende que la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento, signifique una sal que es, dentro del alcance del criterio médico correcto, adecuada para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin la toxicidad, irritación y respuesta alérgica indebidas y similares, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, generalmente dispersable o soluble en agua o aceite, y eficaz para su uso previsto. La expresión incluye sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y sales de adición de base farmacéuticamente aceptables. Se encuentran listas de sales adecuadas, por ejemplo, en S. M. Berge et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66, págs. 1-19, incorporado en el presente documento por referencia. La expresión "sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de las bases libres y que no son biológicamente o de otro modo no deseables, formadas con ácidos inorgánicos. La expresión "sal de adición de base farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de los ácidos libres y que no son biológicamente o de otro modo no deseables, formadas con bases inorgánicas.

Como se usa en el presente documento, el término "tampón" se refiere a una solución que contiene un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado que ayuda a impedir cambios en el pH.

Como se usan en el presente documento, se pretende que las expresiones "dosis terapéuticamente eficaz" y "cantidad eficaz" se refieran a una cantidad de α -

glucosidasa y/o de miglustat y/o de una terapia de dos componentes de los mismos, que es suficiente para dar como resultado una respuesta terapéutica en un sujeto.

La respuesta terapéutica puede incluir también respuestas moleculares tales como la acumulación de glucógeno, la proliferación lisosómica y la formación de zonas autofágicas. Las respuestas terapéuticas pueden evaluarse comparando las respuestas fisiológicas y moleculares de las biopsias musculares antes y después del tratamiento con una rhGAA descrita en el presente documento. Por ejemplo, la cantidad de glucógeno presente en las muestras de biopsia puede usarse como marcador para determinar la respuesta terapéutica. Otro ejemplo incluye biomarcadores tales como la proteína asociada al lisosoma 1 (LAMP-1), la cadena ligera 3 (LC3) de proteína asociada a microtúbulos 1 y la Disferlina, que pueden usarse como indicadores de disfunción del almacenamiento lisosómico. Los biomarcadores adicionales incluyen biomarcadores de lesión o daño muscular tales como creatina cinasa (CK), lactato deshidrogenasa (LDH), alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), y/o marcadores de acumulación de glucógeno tales como tetrasacárido de hexosa (Hex4) en orina. Por ejemplo, las biopsias musculares recogidas antes y después del tratamiento con una rhGAA descrita en el presente documento pueden teñirse con un anticuerpo que reconozca uno de los biomarcadores. La respuesta terapéutica puede incluir también una disminución de la fatiga o una mejora de otros resultados informados por los pacientes (por ejemplo, actividades de la vida diaria, bienestar, etc.).

Como se usa en el presente documento, se pretende que la expresión "terapia de reemplazo enzimático" o "ERT" se refiera a la introducción de una enzima purificada no nativa en un individuo que tiene una deficiencia de dicha enzima. La proteína administrada se puede obtener de fuentes naturales o por expresión recombinante. La expresión también se refiere a la introducción de una enzima purificada en un individuo que de otro modo requeriría o se beneficiaría de la administración de una enzima purificada. En al menos una realización, dicho individuo padece insuficiencia enzimática. La enzima introducida puede ser una enzima recombinante purificada, producida *in vitro*, o una proteína purificada a partir

de un tejido o fluido aislado, tal como, por ejemplo, placenta o leche animal, o de plantas.

Como se usa en el presente documento, se pretende que la expresión "terapia de dos componentes" se refiera a cualquier terapia en la que dos o más terapias individuales se administran de forma simultánea o secuencial. En alguna realización, los resultados de la terapia de dos componentes están potenciados en comparación con el efecto de cada terapia cuando se realiza individualmente. La potenciación puede incluir cualquier mejora del efecto de las diversas terapias que pueda dar un resultado ventajoso en comparación con los resultados conseguidos por las terapias cuando se realizan solas. El efecto o los resultados potenciados pueden incluir una mejora sinérgica, en donde el efecto potenciado es mayor que los efectos aditivos de cada terapia cuando se realiza sola; una potenciación aditiva, en donde el efecto potenciado es sustancialmente igual al efecto aditivo de cada terapia cuando se realiza sola; o menos que un efecto aditivo, en donde el efecto potenciado es menor que el efecto aditivo de cada terapia cuando se realiza sola, pero sigue siendo mejor que el efecto de cada terapia cuando se realiza sola. El efecto mejorado se puede medir por cualquier medio conocido en la técnica mediante el cual se pueda medir la eficacia o el resultado de la terapia.

La expresión "enfermedad de Pompe" se refiere a una LSD autosómica recesiva caracterizada por una actividad de alfa-glucosidasa ácida (GAA) deficiente que altera el metabolismo de glucógeno lisosómico. La deficiencia enzimática provoca la acumulación glucogénica lisosómica y produce debilitamiento progresivo de los músculos esqueléticos, función cardíaca reducida, insuficiencia respiratoria y/o deterioro del SNC en las últimas fases de la enfermedad. Las mutaciones genéticas en el gen GAA resultan en una expresión menor o producen formas mutantes de la enzima con una estabilidad alterada y/o una actividad biológica que provoca, en última instancia, la enfermedad (véase en general Hirschhorn R, 1995, Glycogen Storage Disease Type II: Acid α -Glucosidase (Acid Maltase) Deficiency, The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, Scriver et al., eds., McGraw-Hill, Nueva York, 7.^a ed., páginas 2443-2464). Las tres formas clínicas

reconocidas de la enfermedad de Pompe (infantil, juvenil y en adultos) se correlacionan con el nivel de actividad residual de la α -glucosidasa (Reuser A J et al., 1995, Glycogenosis Type II (Acid Maltase Deficiency), Muscle & Nerve Supplement 3, S61-S69). La enfermedad de Pompe infantil (tipo I o A) es la más común y la más grave, caracterizada por retraso en el desarrollo, hipertrofia cardíaca hipotónica e insuficiencia cardiorrespiratoria en el segundo año de vida. La enfermedad de Pompe juvenil (de tipo II o B) es de gravedad intermedia y está caracterizada por unos síntomas musculares predominantes sin cardiomegalia. Los individuos con Pompe juvenil suelen morir antes de cumplir 20 años por insuficiencia respiratoria. La enfermedad de Pompe en adultos (tipo III o C) presenta a menudo una miopatía lentamente progresiva en la adolescencia o tan tarde como la sexta década (Felicia K J et al., 1995, Clinical Variability in Adult-Onset Acid Maltase Deficiency: Report of Affected Sibs and Review of the Literature, Medicine 74, 131-135). En la enfermedad de Pompe, se ha demostrado que la α -glucosidasa se modifica extensamente de manera postraduccional por glicosilación, fosforilación y procesamiento proteolítico. Se requiere la conversión del precursor de 110 kilodalton (kDa) en formas maduras de 76 y 70 kDa por proteólisis en el lisosoma para una catálisis de glucógeno óptima. Como se usa en el presente documento, la expresión "enfermedad de Pompe" se refiere a todos los tipos de enfermedad de Pompe. Las formulaciones y las pautas posológicas divulgadas en la presente solicitud pueden emplearse para tratar, por ejemplo, la enfermedad de Pompe de tipo I, de tipo II o de tipo III.

Actualmente se considera que la enfermedad de Pompe es un espectro continuo de fenotipos, en el que los fenotipos clínicamente más graves y de progresión rápida son la enfermedad de Pompe de inicio infantil clásica (IOPD, por sus siglas en inglés) y los fenotipos menos graves y de progresión lenta son la enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD, por sus siglas en inglés). La enfermedad de Pompe de inicio tardío puede manifestarse en la infancia o en la edad adulta y no presenta afectación cardíaca clínicamente aparente (Leslie y Bailey, 2017). La enfermedad de Pompe de inicio tardío se denomina con frecuencia

enfermedad de Pompe de inicio juvenil cuando aparece en la subpoblación pediátrica de la categoría de LOPD. La LOPD tiene una velocidad de progresión más lenta en comparación con la IOPD clásica, y la mayoría de los pacientes experimentan debilidad progresiva de la cintura de las extremidades e insuficiencia respiratoria debido a la afectación de los músculos de las extremidades proximales inferiores y superiores, los músculos paraespinales y el diafragma. Las manifestaciones clínicas incluyen dificultad para caminar, subir escaleras y limitaciones progresivas de las actividades motoras de la vida diaria con progresión a una necesidad de apoyo ambulatorio seguida de dependencia de la silla de ruedas (Reuser, et al. 2001). Las manifestaciones clínicas de la enfermedad se ven agravadas por la afectación respiratoria, inicialmente en forma de trastornos respiratorios del sueño y ortopnea (dificultad para respirar en decúbito supino). La naturaleza progresiva de la enfermedad de Pompe generalmente da como resultado el uso de ventilación mecánica asistida invasiva. Las anomalías bioquímicas incluyen un aumento del nivel de creatina cinasa (CK) sérica, un biomarcador de lesión muscular, y de tetrasacárido de hexosa (Hex4) urinario, un biomarcador de sustrato de la enfermedad (An, et al. 2005; Young, et al. 2009). La esperanza de vida de los pacientes con LOPD puede variar desde la infancia temprana hasta la edad adulta tardía, dependiendo de la edad de inicio, la velocidad de progresión de la enfermedad, el grado de afectación de los músculos respiratorios y la presencia de comorbilidades (Hagemans, et al. 2004). Si no se trata, la esperanza de vida de los adultos con enfermedad de Pompe se reduce considerablemente (Gungor, et al. 2011).

Como se usa en el presente documento, "significativo" se refiere a la significación estadística. El término hace referencia a las pruebas estadísticas de que existe una diferencia entre dos grupos de tratamiento. Puede definirse como la probabilidad de tomar la decisión de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es realmente verdadera. La decisión con frecuencia se toma usando un valor de $p < 0.05$ derivado de un análisis estadístico adecuado para la comparación. Véase, por ejemplo, el Ejemplo 9.

Un "sujeto" o "paciente" es preferentemente un ser humano, aunque también pueden tratarse otros mamíferos y animales no humanos que tengan trastornos que implican la acumulación de glucógeno. Un sujeto puede ser un feto, un neonato, un niño, joven o un adulto con enfermedad de Pompe u otro trastorno de almacenamiento o acumulación de glucógeno. Un ejemplo de un individuo que se está tratando es un individuo (feto, neonato, niño, joven, adolescente o ser humano adulto) que tiene GSD-II (por ejemplo, GSD-II infantil, GSD-II juvenil o GSD-II de inicio en adultos). El individuo puede tener actividad de GAA residual o actividad no mensurable. Por ejemplo, el individuo que tiene GSD-II puede tener actividad de GAA que es menor que aproximadamente 1% de la actividad normal de GAA (GSD-II infantil), actividad de GAA que es aproximadamente 1-10% de la actividad normal de GAA (GSD-II juvenil) o actividad de GAA que es aproximadamente 10-40% de la actividad normal de GAA (GSD-II en adultos). En algunas realizaciones, el sujeto o paciente es un paciente con "experiencia con ERT" o "con cambio de ERT", refiriéndose a un paciente con enfermedad de Pompe que ha recibido previamente terapia de reemplazo enzimático. En algunas realizaciones, un paciente "con experiencia con ERT" o "con cambio de ERT" es un paciente con enfermedad de Pompe que ha recibido o está recibiendo alglucosidasa alfa durante 24 meses o más. En algunas realizaciones, un paciente "con experiencia con ERT" o "con cambio de ERT" es un paciente con enfermedad de Pompe que está en declive con la ERT actualmente aprobada (por ejemplo, MYOZYME® o LUMIZYME®). En algunas realizaciones, el sujeto es un paciente adulto (por ejemplo, mayor de 18 años) con un diagnóstico confirmado de enfermedad de Pompe de inicio tardío (deficiencia de α -glucosidasa ácida (GAA)), que ha recibido previamente terapia de reemplazo enzimático (ERT). En algunas realizaciones, el sujeto es un adulto (por ejemplo, mayor de 18 años) con enfermedad de Pompe de inicio tardío (deficiencia de alfa-glucosidasa ácida lisosómica [GAA]) que pesa ≥ 40 kg cuya enfermedad ha progresado con la terapia de reemplazo enzimático (ERT). En algunas realizaciones, el sujeto o paciente es un paciente "sin tratamiento previo con ERT", refiriéndose a un paciente con enfermedad de Pompe que no ha recibido

previamente terapia de reemplazo enzimático. En determinadas realizaciones, el sujeto o paciente es ambulatorio (por ejemplo, un paciente con cambio de ERT ambulatorio o un paciente sin tratamiento previo con ERT ambulatorio). En determinadas realizaciones, el sujeto o paciente es no ambulatorio (por ejemplo, un paciente con cambio de ERT no ambulatorio). El estado ambulatorio o no ambulatorio puede determinarse mediante un ensayo de caminata de seis minutos (6MWT). En algunas realizaciones, un paciente ambulatorio es un paciente con enfermedad de Pompe que es capaz de caminar al menos 200 metros en el 6MWT. En algunas realizaciones, un paciente no ambulatorio es un paciente con enfermedad de Pompe que no puede caminar sin ayuda o que está postrado en una silla de ruedas. En algunas realizaciones, el sujeto está usando anticonceptivos eficaces. En algunas realizaciones, el sujeto y/o la pareja del sujeto están usando métodos anticonceptivos altamente eficaces, tales como los que dan lugar a una baja tasa de fallos (por ejemplo, < 1 % al año) cuando se usan de forma consistente y correcta. Los ejemplos de métodos anticonceptivos muy eficaces incluyen, pero sin limitación: la abstinencia total; la anticoncepción hormonal combinada (con estrógenos y progestágenos) asociada a la inhibición de la ovulación; la anticoncepción hormonal oral, intravaginal y transdérmica sólo con progestágenos asociada a la inhibición de la ovulación; el dispositivo intrauterino oral, inyectable e implantable; el sistema intrauterino de liberación de hormonas; la oclusión tubárica bilateral; y la vasectomía. En algunas realizaciones, el sujeto es posmenopáusico. En algunas realizaciones, el sujeto no está en edad fértil. En algunas realizaciones, el sujeto es permanentemente estéril. En algunas realizaciones, el sujeto no está embarazada. En algunas realizaciones, el sujeto no está amamantando.

En algunas realizaciones, un paciente tiene un diagnóstico de enfermedad de Pompe de inicio tardío, basado en la documentación de al menos uno de los siguientes: (1) deficiencia de la enzima GAA; y/o (2) genotipado del gen que codifica la α -glucosidasa ácida humana (GAA). En algunas realizaciones, el paciente tiene 18 años o más. En algunas realizaciones, el paciente ha recibido previamente terapia de reemplazo enzimático (ERT). En algunas realizaciones, el paciente está

en declive con la ERT actualmente aprobada (por ejemplo, MYOZYME® o LUMIZYME®). En algunas realizaciones, si tienen potencial reproductivo, los pacientes tanto masculinos como femeninos han acordado usar un método anticonceptivo altamente eficaz durante toda la duración del tratamiento y hasta 90 días después de su última dosis. En algunas realizaciones, los pacientes que están tomando agonistas de los receptores β_2 o β -bloqueantes no selectivos (por ejemplo, propranolol, nadolol, carvedilol) mantienen una dosis estable según corresponda y determine el médico tratante.

Los términos "tratar" y "tratamiento", como se usan en el presente documento, se refieren a la mejora de uno o más síntomas asociados a la enfermedad, el retardo en el inicio de uno o más síntomas de la enfermedad y/o la reducción en la gravedad o frecuencia de uno o más síntomas de la enfermedad. Por ejemplo, el tratamiento puede referirse a la mejora del estado cardíaco (por ejemplo, aumento de los volúmenes diastólico final y/o sistólico final, o a la reducción o mejora de la miocardiopatía progresiva que se encuentra normalmente en GSD-II) o de la función pulmonar (por ejemplo, aumento de la capacidad vital durante el llanto sobre la capacidad basal y/o normalización de la desaturación de oxígeno durante el llanto); mejoras en el neurodesarrollo y/o las habilidades motoras (por ejemplo, aumento en la puntuación de la AIMS (escala de movimientos involuntarios anormales, por sus siglas en inglés)); la reducción de las concentraciones de glucógeno en tejido del individuo afectado por la enfermedad; o cualquier combinación de estos efectos. En una realización preferida, el tratamiento incluye la mejora del estado cardíaco, particularmente en la reducción de miocardiopatía asociada a GSD-II.

Los términos "mejorar", "aumentar" o "reducir", como se usan en el presente documento, indican valores relativos a una medición basal o a los valores correspondientes de un tratamiento de control, tales como una medición en el mismo individuo antes del inicio del tratamiento descrito en el presente documento, una medición en un individuo de control (o en múltiples individuos de control) en ausencia del tratamiento descrito en el presente documento, o una medición

después de un tratamiento de control. Un individuo de control es un individuo que padece la misma forma de GSD-II (ya sea infantil, juvenil o de inicio en adultos) que el individuo que se está tratando, que es de aproximadamente la misma edad que el individuo que se está tratando (para garantizar que sean equiparables las fases de la enfermedad en el individuo tratado y el o los individuos de control). En algunas realizaciones, un tratamiento de control comprende la administración de alglucosidasa alfa y un placebo para un estabilizador enzimático (véase el Ejemplo 9).

Como se usa en el presente documento, las expresiones "estabilizar la función motora", "estabilizar la función pulmonar" y expresiones similares se refieren a reducir o detener el declive de la función motora y pulmonar y/o restablecer la función motora y/o pulmonar. Dado que se espera que los pacientes con enfermedad de Pompe no tratados tengan una disminución significativa de la función motora y pulmonar a lo largo del tiempo, las potenciaciones en la tasa de deterioro de la función motora y/o pulmonar y/o las potenciaciones en la función motora y/o pulmonar demuestran un beneficio de la terapia como se describe en el presente documento. Además, dado que los pacientes con enfermedad de Pompe con experiencia con ERT con frecuencia continúan en declive de la función motora y/o pulmonar a lo largo del tiempo, la estabilización de la función motora y/o pulmonar usando el tratamiento descrito en el presente documento puede incluir la reducción y/o detención del declive de la función motora y/o pulmonar en comparación con los pacientes que reciben el tratamiento con ERT anterior (por ejemplo, MYOZYME® o LUMIZYME®).

Como se usa en el presente documento, se pretende que los términos "aproximadamente" y "alrededor de" se refieran a un grado de error aceptable para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Por ejemplo, el grado de error puede indicarse por el número de cifras significativas proporcionadas por la medición, como se entiende en la técnica, e incluye, pero sin limitación, una variación de ± 1 en la cifra significativa más precisa presentada para la medición. Los grados de error de ejemplo típicos están dentro del 20 por ciento

(%), preferentemente dentro del 10 % y, más preferentemente, dentro del 5 % de un valor dado o intervalo de valores. Las cantidades numéricas proporcionadas en el presente documento son aproximadas a menos que se indique lo contrario, lo que significa que el término "aproximadamente" o "alrededor de" se puede inferir cuando no se indica expresamente.

Todas las referencias, artículos, publicaciones, patentes, publicaciones de patentes y solicitudes de patentes citadas en el presente documento se incorporan por referencia en su totalidad a todos los efectos. Sin embargo, la mención de cualquier referencia, artículo, publicación, patente, publicación de patente y solicitud de patente citados en el presente documento no constituye, ni debe considerarse, un reconocimiento o cualquier forma de sugerencia de que constituyen el estado de la técnica válido o forman parte del conocimiento general común en cualquier país del mundo.

Los encabezamientos de sección utilizados en el presente documento tienen únicamente fines organizativos y no deben considerarse limitantes de la materia objeto descrita.

A-GLUCOSIDASA ÁCIDA HUMANA RECOMBINANTE (rhGAA)

En algunas realizaciones, la α -glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA) es una enzima que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 6. En algunas realizaciones, la rhGAA está codificado por una secuencia de nucleótidos como se expone en la SEQ ID NO: 2.

Tabla 1. Secuencias de nucleótidos y secuencias de proteínas

SEQ ID NO	Secuencias
1	MGVRHPPCSHRLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPV LEETHPAHQQGA SRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEA RGCCYIPAKQGLQGA

SEQ ID NO	Secuencias
5	QMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTL RLDVMMETENRLH FTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVHRQLDG RVLLNTTVAPLF FADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPG ANLYGSHPFYLA
10	LEDGGSAGVFLNLSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEP KSVVQQYLDVVG PFMPPYWGLGFHLCRWGYSSAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDL DYMDSRRDFTFNKDG FRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPHYDEGLRRGV FITNETGQPLIGKV
15	WPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNF IRGSEDGCPNNELEN PPYVPGVVGGLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALV KARGTRPFVISR
20	STFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGAD VCGFLGNTSEELCVR WTQLGAFYPPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTTRYALL PHLYTLFHQAHVAG ETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYF PLGTWYDLQTVPI
25	EALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQG PGLTTTESRQQP MALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVN ELVRVTSEGAGLQ

SEQ ID NO	Secuencias
	LQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQFLVSWC
2	cagttgggaaagctgaggtgtcgccggggccgcgggtggaggtcggggatgaggcagcaggtaggacagtgacctcgggtgacgcgaaggacccccggccacctctaggttctcctcgccgccgtgttcagcgagggaggctctgggcctgccgcagctgacggggaaactgaggcacggagcgggcctgtaggagctgtccaggccatctccaacctatgggagtgaggacccgcctgtctccaccggtcctggccgtctgcgccctcgctccttggaaccgctgcactcctggggcacatcctactccatgattcctgtgtgttccccgagagctgagtggtctctccccagtcctggaggagactacccagctcaccagcagggagccagcagaccaggggccccgggatgccaggcacacccccggccgtcccaagcagtgcccacacagtgcgacgtccccccaacagccgcttcgattgcgccctgacaaggccatcaccaggaacagtgcgaggccccgcggctgtgtctacatccctgcaaagcaggggctgcaggagcccagatggggcagccctggtgtcttctccaccagctacccagctacaagctggaagaacctgagctcctctgaaatgggctacacggccaccctgaccgtaccacccccaccttcttcccaaggacatcctgacctgcggctggacgtgatgatggagactgagaaccgcctccactcacgatcaaagatccagctaacaggcgctacgaggtgcccttgagacccccgctgtccacagccggcaccgtccccactctacagcgtggagttctccgaggagcccttcggggtgatcgtgcaccggcagctggacggccgcgtgtgtgaacacgacggtggcgccccctgttcttgcggaccagttccttcagctgtccacctcgctgccctgcgagtatatcacaggcctcgccgagcacctcagtcacctgatgctcagcaccagctggaccaggatcacctgtggaaccgggaccttgcgccacgccccgtgcgaacctctacgggtctcaccccttctacctggcgctggaggacggcgggctggcacacgggggtgttctgctaaacagcaatgccatggatgtggtcctgcagccgagccctgcccttagctggaggtcgacaggtgggatcctggatgtctacatcttctgggccagagcccaagagcgtggtgcagcagtacctggacgttgtgggatacccgttcatgccgccatactggggcctgggcttcacctgtgccgctggggctactcctccaccgctatcacccgccagggtggtggagaacatgaccaggggccacttccccctggacgtccaatggaacgacctggactacatggactcccgaggaggacttcacgttcaacaaggatggcttccgggacttccggccatggtgcaggagctgcaccagggcggccggcgctacatgatgatcgtggatcctgccatcagcagctcgggccctgccgggagctacaggccctacgacgagg

SEQ ID NO	Secuencias
5	tctgcggaggggggtttcatcaccaacgagaccggccagccgctgattgggaaggtatggccc gggtccactgccttccccgacttcaccaaccccacagccctggcctggtgggaggacatggtgg ctgagttccatgaccagggtgcccttcgacggcatgtggattgacatgaacgagcctccaactcat cagaggctctgaggacggctgccccacaatgagctggagaaccaccctacgtgcctgggggt ggttggggggaccctccaggcggccaccatctgtgcctccagccaccagtttctctccacacact acaacctgcacaacctctacggcctgaccgaagccatcgctcccacagggcgctggtgaagg ctcgggggacacgcccatttgtatctcccgctcgaccttctgtggccacggccgatacgccggc
10	cactggacgggggacgtgtggagctcctgggagcagctcgctcctccgtgccagaaatcctgc agttaacctgctgggggtgcctctgggtcggggccgacgtctgcggtcctctgggcaacacctcag aggagctgtgtgctgctggaccagctgggggccttctaccccttcatgcggaaccacaacag cctgctcagctgccccaggagccgtacagcttcagcgagccggcccagcaggccatgaggaa ggccctcacctgcgctacgcactcctccccacctctacacactgttccaccaggcccacgtcg
15	cgggggagaccgtggcccgcccccttctcctggagttccccaaggactctagcacctggactgtg gaccaccagctcctgtggggggaggccctgctcatcaccacagtgctccaggccgggaaggcc gaagtgactggctacttcccccttgggcacatggtacgacctgcagacgggtgccaatagaggccct tggcagcctcccacccccacctgcagctccccgtgagccagccatccacagcgagggggcagtg ggtgacgtgcccggccccctggacaccatcaacgtccacctccgggctgggtacatcatcccc
20	ctgcagggccctggcctcacaaccacagagtcccgccagcagcccatggccctggctgtggcc ctgaccaagggtggagaggcccgaggggagctgttctgggacgatggagagagcctggaagt gctggagcgaggggcctacacacagggtcatcttctggccaggaataacacgatctgaatga gctggtacgtgtgaccagtgaggagctggcctgcagctgcagaagggtgactgtcctgggcgtg gccacggcgccccagcaggtcctctccaacggtgtccctgtctccaacttcacctacagccccga
25	caccaaggctcctggacatctgtgtctcgctgttgatgggagagcagtttctcgctcagctggtgttagc cgggaggagtggttagtctctccagagggaggctgggtccccagggaagcagagcctgtgtgc gggcagcagctgtgtgcgggcctgggggttgcattgtgtcacctggagctgggcactaaccattcc aagccgcgcgcatcgctgtttccacctcctgggcccggggctctggcccccaacgtgtctaggaga gctttctccctagatcgccactgtgggcccggggcctggagggtgctctgtgttaataagattgtaag
30	

SEQ ID NO	Secuencias
5	gtttgccctcctcacctgttgccggcatgcgggtagtattagccacccccctccatctgttcccagca ccggagaagggggtgctcaggtggaggtgtggggatgcacctgagctcctgcttcgcgctgct gctctgccccaacgcgaccgcttcccggctgccagagggctggatgcctgccggtccccgagc aagcctgggaactcaggaataacacaggactgggagattctaaatcttaagtgaattatttaa taaaaggggcatttgaatc
10	3 MGVRHPPCSHRLAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPV LEETHPAHQQGA SRPGPRDAQAHGPRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEA RGCCYIPAKQGLQGA QMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILTL RLDVMMETENRLH
15	FTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVHRQLDG RVLLNTTVAPLF FADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPG ANLYGSHPFYLA
20	LEDGGSAGHVFLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEP KSVVQQYLDVVG PFMPYWGLGFHLCRWGYSSAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDL DYMDSRRDFTFNKDG
25	FRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPHYDEGLRRGV FITNETGQPLIGKV WPGSTAFPDTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNF IRGSEDGCPNNELEN
30	PPYVPGVVGGLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIASHRALV KARGTRPFVISR STFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGAD VCGFLGNTSEELCVR

SEQ ID NO	Secuencias
5	WTQLGAFYPPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTTRYALL PHLYTLFHQAHVAG ETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYF PLGTWYDLQTVPI EALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQG PGLTTTESRQQP MALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNTIVN ELVRVTSEGAGLQ LQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQF LVSWC
4	MGVRHPPCSHRL LAVCALVSLATAALLGHILLHDFLLVPRELSGSSPV LEETHPAHQQGA SRPGPRDAQAH PGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQEQCEA RGCCYIPAKQGLQGA QMGQPWCFFPPSYPSYKLENLSSEMGYTATLTRTTPTFFPKDILT RLDVMMETENRLH FTIKDPANRRYEVPLETPHVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVRRQLDG RVLLNTTVAPLF FADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPG ANLYGSHPFYLA LEDGGSAGVFLSNSAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFLGPEP KSVVQQYLDVVG PFMPYWGGLGFHL CRWGYSSAITRQVVENMTRAHFPLDVQWNDL DYMDSRRDFTFNKDG FRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPHYDEGLRRGV FITNETGQPLIGKV

SEQ ID NO	Secuencias
5	WPGSTAFPDFTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNEPSNF IRGSEDGCPNNELEN PPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLYGLTEAIAASHRALV KARGTRPFVISR STFAGHGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGAD VCGFLGNTSEELCVR WTQLGAFYPPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTTRYALL PHLYTLFHQAHVAG ETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEVTGYF PLGTWYDLQTPPV EALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQG PGLTTTESRQQP MALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNNTIVN ELVRVTSEGAGLQ LQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSLLMGEQF LVSWC
5	QQGASRPGPRDAQAHGPRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQE QCEARGCCYIPAKQG LQGAQMGPWCFFPPSYPSYKLENLSSEMGYTATLTRTTPTFFPK DILTLRLDVMMETE NRLHFTIKDPANRRYEVPLETPRVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVHR QLDGRVLLNNTTV APLFFADQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLA PTPGANLYGSHP FYLALEDGGSAGHVFLNNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGILDVYIFL GPEPKSVVQQYLD

SEQ ID NO	Secuencias
5	VVGYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAITRQVVENMTRAHFPLDVQ WNDLDYMDSRDFTF NKDGFRDFPAMVQELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPYDEGL RRGVFITNETGQPL IGKWWPGSTAFPDTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDMNE PSNFIRGSEDGCPNN ELENPPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLSTHYNLHNLGLTEAIAASH 10 RALVKARGTRPF VISRSTFAGHGGRYAGHWTGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLV GADVCGFLGNTSEE LCVRWTQLGAFYPPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLR YALLPHLYTLFHQA 15 HVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLITPVLQAGKAEV TGYFPLGTWYDLQ TVPIEALGSLPPPPAAPREPAIHSEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIP LQGPGLTTTES RQQPMALAVALTKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARN 20 NTIVNELVRVTSEG AGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDCVSLLM GEQFLVSWC
6	QQGASRPGPRDAQAHPGRPRAVPTQCDVPPNSRFDCAPDKAITQE QCEARGCCYIPAKQGLQGAQMGPWCFFPPSYPSYKLENLSSEM 25 GYTATLTRTTPTFFPKDILTLRLDVMMETENRLHFTIKDPANRRYEVP LETPHVHSRAPSPLYSVEFSEEPFGVIVRRQLDGRVLLNTTVAPLFFA DQFLQLSTSLPSQYITGLAEHLSPLMLSTSWTRITLWNRDLAPTPGAN LYGSHPFYLALEDGGSAGHVLLNSNAMDVVLQPSPALSWRSTGGIL 30 DVYIFLGPEPKSVVQQYLDVVGYPFMPPYWGLGFHLCRWGYSSTAI

SEQ ID NO	Secuencias
5	TRQVVENMTRAHFPLDVQWNDLDYMDSRRDFTFNKDGFRDFPAMV QELHQGGRRYMMIVDPAISSSGPAGSYRPHYDEGLRRGVFITNETGQ PLIGKVWPGSTAFPDTNPTALAWWEDMVAEFHDQVPFDGMWIDM NEPSNFIRGSEDGCPNNELENPPYVPGVVGGTLQAATICASSHQFLS THYNLHNLYGLTEAIAISHRALVKARGTRPFVISRSTFAGHGGRYAGHW TGDVWSSWEQLASSVPEILQFNLLGVPLVGADVCGFLGNTSEELCV RWTQLGAFYPFMRNHNSLLSLPQEPYSFSEPAQQAMRKALTLRYAL 10 LPHLYTLFHQAHVAGETVARPLFLEFPKDSSTWTVDHQLLWGEALLI TPVLQAGKAEVTGYFPLGTWYDLQTVPVEALGSLPPPPAAPREPAIH SEGQWVTLPAPLDTINVHLRAGYIIPLQGPGLTTTESRQQPMALAVAL TKGGEARGELFWDDGESLEVLERGAYTQVIFLARNTIVNELVRVTS EGAGLQLQKVTVLGVATAPQQVLSNGVPVSNFTYSPDTKVLDICVSL 15 LMGEQFLVSWC

En algunas realizaciones, la rhGAA tiene una secuencia de aminoácidos de GAA como se expone en la SEQ ID NO: 1, como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º 8,592,362 y tiene un número de registro de GenBank AHE24104.1 (GI:568760974). En algunas realizaciones, la rhGAA tiene una secuencia de aminoácidos de GAA codificada en la SEQ ID NO: 2, la secuencia de ARNm que tiene el número de registro del GenBank Y00839.1. En algunas realizaciones, la rhGAA tiene una secuencia de aminoácidos de GAA como se expone en la SEQ ID NO: 3. En algunas realizaciones, la rhGAA tiene una secuencia de aminoácidos de GAA como se expone en la SEQ ID NO: 4, y tiene el número de registro NP_000143.2 del National Center for Biotechnology Information (NCBI) o el número de registro P10253 de UniProtKB.

En algunas realizaciones, la rhGAA se expresa inicialmente como una proteína que tiene la secuencia de 952 aminoácidos de longitud completa de GAA de tipo silvestre como se expone en la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 4, y la rhGAA experimenta un procesamiento intracelular que elimina una porción de los

aminoácidos, por ejemplo, los primeros 56 aminoácidos. En consecuencia, la rhGAA que es secretada por la célula hospedadora puede tener una secuencia de aminoácidos más corta que la rhGAA expresada inicialmente dentro de la célula. En algunas realizaciones, la proteína más corta tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 5, que sólo difiere de la SEQ ID NO: 1 en que los primeros 56 aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 que comprenden el péptido señal y el péptido precursor se han eliminado, dando como resultado una proteína que tiene 896 aminoácidos. En algunas realizaciones, la proteína más corta tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6, que sólo difiere de la SEQ ID NO: 4 en que los primeros 56 aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 que comprenden el péptido señal y el péptido precursor se han eliminado, dando como resultado una proteína que tiene 896 aminoácidos. También son posibles otras variaciones en el número de aminoácidos, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o más supresiones, sustituciones y/o inserciones con respecto a la secuencia de aminoácidos descrita por la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 6. En algunas realizaciones, el producto rhGAA incluye una mezcla de moléculas de α -glucosidasa ácida humana recombinante que tienen diferentes longitudes de aminoácidos.

En algunas realizaciones, la rhGAA comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 6. Se pueden usar diversos algoritmos y/o programas de alineación para calcular la identidad entre dos secuencias, entre los que se incluyen FASTA, o BLAST, que están disponibles como parte del paquete de análisis de secuencias GCG (University of Wisconsin, Madison, Wis.), y se pueden usar con, por ejemplo, una parametrización predeterminada. Por ejemplo, se contemplan polipéptidos que tienen al menos un 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad con polipéptidos específicos descritos en esta memoria y que preferentemente exhiben en esencia las mismas funciones, así como polinucleótidos que codifican este tipo de polipéptidos. A no ser que se indique otra cosa, una puntuación de similitud se basará en el uso de BLOSUM62. Cuando se

usa BLASTP, el porcentaje de similitud se basa en la puntuación de positivos de BLASTP y el porcentaje de identidad de secuencia se basa en la puntuación de identidades de BLASTP. Las "identidades" de BLASTP muestran el número y la fracción de los restos totales en los pares de secuencias de puntuación elevada que son idénticos, y los "Positivos" de BLASTP muestran el número y la fracción de los restos para los cuales las puntuaciones de alineación tienen valores positivos y que son similares entre sí. Las secuencias de aminoácidos que tienen estos grados de identidad o similitud o cualquier grado intermedio de identidad o similitud con las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento se contemplan y abarcan por esta divulgación. Las secuencias polinucleotídicas de polipéptidos similares se deducen usando el código genético y se pueden obtener por medios convencionales, en particular, traduciendo de forma inversa su secuencia de aminoácidos usando el código genético.

En algunas realizaciones, la rhGAA experimenta modificaciones postraduccionales y/o químicas en uno o más restos de aminoácidos de la proteína. Por ejemplo, los restos de metionina y triptófano pueden sufrir oxidación. Como otro ejemplo, la glutamina N-terminal en la SEQ ID NO: 6 puede modificarse adicionalmente para formar piroglutamato. Como otro ejemplo, los restos de asparagina pueden sufrir desamidación a ácido aspártico. Como otro ejemplo más, los restos de ácido aspártico pueden sufrir isomerización a ácido isoaspártico. Como otro ejemplo más, los restos de cisteína no apareados en la proteína pueden formar enlaces disulfuro con cisteína y/o glutatión libre. En consecuencia, en algunas realizaciones, la enzima se expresa inicialmente como una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5 o una secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 2, y la enzima experimenta una o más de estas modificaciones postraduccionales y/o químicas. Dichas modificaciones están también comprendidas dentro del alcance de la presente divulgación.

GLICOSILACIÓN LIGADA A N DE rhGAA

Existen siete sitios de glicosilación ligada a N potenciales en una única molécula de rhGAA. Estos sitios de glicosilación potenciales están en las siguientes posiciones de la SEQ ID NO: 6: N84, N177, N334, N414, N596, N826 y N869. De forma similar, para la secuencia de aminoácidos de longitud completa de SEQ ID NO: 4, estos sitios de glicosilación potenciales están en las siguientes posiciones: N140, N233, N390, N470, N652, N882 y N925. Otras variantes de rhGAA pueden tener sitios de glicosilación similares, dependiendo de la localización de los restos de asparagina. Generalmente, las secuencias de Asn-X-Ser o Asn-X-Th en la secuencia de aminoácidos de la proteína indican sitios de glicosilación potenciales, con la excepción de que X no puede ser HIS o PRO.

Las moléculas de rhGAA descritas en el presente documento pueden tener, en promedio, 1, 2, 3 o 4 grupos manosa-6-fosfato (M6P) en sus N-glicanos. Por ejemplo, sólo un N-glicano en una molécula de rhGAA puede llevar M6P (mono-fosforilado o mono-M6P), un único N-glicano puede llevar dos grupos M6P (bis-fosforilado o bis-M6P), o dos N-glicanos diferentes en la misma molécula de rhGAA pueden llevar cada uno grupos M6P únicos. En algunas realizaciones, las moléculas de rhGAA descritas en el presente documento tienen en promedio 3-4 mol de grupos M6P en sus N-glicanos por mol de rhGAA. Las moléculas de α -glucosidasa ácida humana recombinante pueden tener también N-glicanos que no llevan grupos M6P. En otra realización, en promedio la rhGAA comprende más de 2.5 mol de M6P por mol de rhGAA y más de 4 mol de ácido siálico por mol de rhGAA. En algunas realizaciones, en promedio la rhGAA comprende aproximadamente 3-3.5 mol de M6P por mol de rhGAA. En algunas realizaciones, en promedio la rhGAA comprende aproximadamente 4-5.4 mol de ácido siálico por mol de rhGAA. En promedio, al menos aproximadamente el 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 % o 20 % de los N-glicanos totales en la rhGAA pueden estar en forma de un N-glicano mono-M6P, y en promedio, al menos de aproximadamente el 0.5, 1, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 % de los N-glicanos totales en la rhGAA están en forma de un N-glicano bis-M6P y en promedio menos del 25 % de

la rhGAA total no contiene ningún N-glicano fosforilado que se una a CIMPR. En algunas realizaciones, en promedio de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 14 % de los N-glicanos totales en la rhGAA están monofosforilados. En algunas realizaciones, en promedio de aproximadamente el 7 % a aproximadamente el 25 % de los N-glicanos totales en la rhGAA están bisfosforilados. En algunas realizaciones, en promedio la rhGAA comprende al menos aproximadamente 1.0, 1.1, 1.2 o 1.3 mol de bis-M6P por mol de rhGAA.

La rhGAA descrita en el presente documento puede tener en promedio de 0.5 a 7.0 mol de M6P por mol de rhGAA o cualquier valor intermedio o subintervalo del mismo, incluyendo 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 o 7.0 mol de M6P por mol de rhGAA. La rhGAA se puede fraccionar para proporcionar preparaciones de rhGAA con diferentes números promedio de N-glicanos que llevan mono-M6P o bis-M6P, lo que permite una mayor personalización de la rhGAA dirigida a los lisosomas en los tejidos diana mediante la selección de una fracción particular o mediante la combinación selectiva de diferentes fracciones.

En algunas realizaciones, hasta el 60 % de los N-glicanos en la rhGAA puede estar totalmente sialilados, por ejemplo, hasta el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % o 60 % de los N-glicanos pueden estar totalmente sialilados. En algunas realizaciones, no más del 50 % de los N-glicanos de la rhGAA están totalmente sialilados. En algunas realizaciones, del 4 % al 20 % de los N-glicanos totales están totalmente sialilados. En otras realizaciones, no más del 5 %, 10 %, 20 % o 30 % de los N-glicanos de la rhGAA llevan ácido siálico y un resto terminal de galactosa (Gal). Este intervalo incluye todos los valores intermedios y subintervalos, por ejemplo, del 7 % al 30 % de los N-glicanos totales en la rhGAA pueden llevar ácido siálico y galactosa terminal. En otras realizaciones, no más del 5 %, 10 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 % o 20 % de los N-glicanos en la rhGAA tienen una galactosa terminal solamente y no contienen ácido siálico. Este intervalo incluye todos los valores y subintervalos intermedios, por ejemplo, del 8 % al 19 % de los N-glicanos totales en la rhGAA en la composición pueden tener galactosa terminal solamente y no contener ácido siálico.

En algunas realizaciones, del 30 % al 60 %, del 35 % al 60 %, del 40 % al 60 %, del 45 % al 60 %, del 50 % al 60 % o del 55 % al 60 % de los N-glicanos totales en la rhGAA son N-glicanos de tipo complejo; o no más del 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 % o 7 % de los N-glicanos totales en la rhGAA son N-glicanos de tipo híbrido; no más del 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % o 30 % de los N-glicanos totales en la rhGAA son N-glicanos de tipo de alto contenido de manosa que no están fosforilados; al menos el 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 % o 15 % de los N-glicanos totales en la rhGAA son N-glicanos de tipo de alto contenido de manosa monofosforilados; y/o al menos el 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 % o 20 % de los N-glicanos totales en la rhGAA son N-glicanos bisfosforilados de tipo de alto contenido de manosa. Estos valores incluyen todos los valores intermedios y subintervalos. Una rhGAA puede cumplir uno o más de los intervalos de contenido descritos anteriormente.

En algunas realizaciones, la rhGAA puede tener, en promedio, de 2.0 a 8.0 moles de restos de ácido siálico por mol de rhGAA. Este intervalo incluye todos los valores intermedios y subintervalos, incluyendo 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 y 8.0 mol de restos de ácido siálico por mol de rhGAA. Sin pretender quedar vinculados a teoría alguna, se cree que la presencia de unidades de N-glicano que llevan restos de ácido siálico puede evitar el aclaramiento no productivo de la rhGAA por parte de los receptores de asialoglicoproteína.

En una o más realizaciones, la rhGAA tiene un determinado perfil de N-glicosilación en determinados sitios de N-glicosilación potenciales. En algunas realizaciones, la rhGAA tiene siete sitios de N-glicosilación potenciales. En algunas realizaciones, al menos el 20 % de la rhGAA se fosforila en el primer sitio de N-glicosilación potencial (por ejemplo, N84 para la SEQ ID NO: 6 y N140 para la SEQ ID NO: 4). Por ejemplo, al menos el 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA puede fosforilarse en el primer sitio de N-glicosilación potencial. Esta fosforilación puede ser el resultado de unidades mono-M6P y/o bis-M6P. En algunas realizaciones, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%,

90%, o 95% de la rhGAA lleva una unidad de mono-M6P en el primer sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA lleva una unidad de bis-M6P en el primer sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio aproximadamente 1.4 mol de M6P (mono-M6P y bis-M6P) por mol de rhGAA en el primer sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende aproximadamente en promedio al menos 0.5 mol de bis-M6P por mol de rhGAA en el primer sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio aproximadamente 0.25 mol de mono-M6P por mol de rhGAA en el primer sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio de aproximadamente 0.2 mol a aproximadamente 0.3 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el primer sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende una primera ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 6A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 6B. En al menos una realización, la rhGAA comprende una primera ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 19A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 19B o la Fig. 20B.

En algunas realizaciones, al menos el 20 % de la rhGAA se fosforila en el segundo sitio de N-glicosilación potencial (por ejemplo, N177 para la SEQ ID NO: 6 y N223 para la SEQ ID NO: 4). Por ejemplo, al menos el 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA puede fosforilarse en el segundo sitio de N-glicosilación. Esta fosforilación puede ser el resultado de unidades mono-M6P y/o bis-M6P. En algunas realizaciones, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA lleva una unidad de mono-M6P en el segundo sitio de N-glicosilación. En algunas realizaciones, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA lleva una unidad de bis-M6P en el segundo sitio de N-

glicosilación. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio aproximadamente 0.5 mol de M6P (mono-M6P y bis-M6P) por mol de rhGAA en el segundo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio de aproximadamente 0.4 a aproximadamente 0.6 mol de mono-M6P por mol de rhGAA en el segundo sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende una segunda ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 6A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 6C. En al menos una realización, la rhGAA comprende una segunda ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 19A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 19C o la Fig. 20B.

En una o más realizaciones, al menos el 5 % de la rhGAA se fosforila en el tercer sitio de N-glicosilación potencial (por ejemplo, N334 para la SEQ ID NO: 6 y N390 para la SEQ ID NO: 4). En otras realizaciones, menos del 5 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 % de la rhGAA se fosforila en el tercer sitio de N-glicosilación potencial. Por ejemplo, el tercer sitio de N-glicosilación potencial puede tener una mezcla de N-glicanos con un alto contenido de manosa no fosforilados, N-glicanos complejos di-, tri-, y tetra-antenarios y N-glicanos híbridos como especies principales. En algunas realizaciones, al menos el 3 %, 5 %, 8 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % de la rhGAA se sialila en el tercer sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio de aproximadamente 0.9 a aproximadamente 1.2 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el tercer sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende una tercera ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 6A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 6D. En al menos una realización, la rhGAA comprende una tercera ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 19A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 19D o la Fig. 20B.

En una o más realizaciones, al menos el 20 % de la rhGAA se fosforila en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial (por ejemplo, N414 para la SEQ ID NO: 6 y

N470 para la SEQ ID NO: 4). Por ejemplo, al menos el 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA puede fosforilarse en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial. Esta fosforilación puede ser el resultado de unidades mono-M6P y/o bis-M6P. En algunas realizaciones, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA lleva una unidad de mono-M6P en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, al menos el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA lleva una unidad de bis-M6P en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, al menos el 3 %, 5 %, 8 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 % de la rhGAA se sialila en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio aproximadamente 1.4 mol de M6P (mono-M6P y bis-M6P) por mol de rhGAA en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio de aproximadamente 0.4 a aproximadamente 0.6 mol de bis-M6P por mol de rhGAA en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio de aproximadamente 0.3 a aproximadamente 0.4 mol de mono-M6P por mol de rhGAA en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende una cuarta ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 6A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 6E. En al menos una realización, la rhGAA comprende una cuarta ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 19A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 19E o la Fig. 20B.

En una o más realizaciones, al menos el 5 % de la rhGAA se fosforila en el quinto sitio de N-glicosilación potencial (por ejemplo, N596 para la SEQ ID NO: 6 y N692 para la SEQ ID NO: 4). En otras realizaciones, menos del 5 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 % de la rhGAA se fosforila en el quinto sitio de N-glicosilación potencial. Por ejemplo, el quinto sitio de N-glicosilación potencial puede tener N-glicanos complejos diantenarios fucosilados como especies principales. En algunas

realizaciones, al menos el 3%, 5%, 8%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, o 95% de la rhGAA está sialilado en el quinto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio de aproximadamente 0.8 a aproximadamente 0.9 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el quinto sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende una quinta ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 6A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 6F. En al menos una realización, la rhGAA comprende una quinta ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 19A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 19F o la Fig. 20B.

En una o más realizaciones, al menos el 5 % de la rhGAA se fosforila en el sexto sitio de N-glicosilación (por ejemplo, N826 para la SEQ ID NO: 6 y N882 para la SEQ ID NO: 4). En otras realizaciones, menos del 5 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 % de la rhGAA se fosforila en el sexto sitio de N-glicosilación. Por ejemplo, el sexto sitio de N-glicosilación puede tener una mezcla de N-glicanos complejos di-, tri- y tetra-antenarios como especies mayoritarias. En algunas realizaciones, al menos el 3%, 5%, 8%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% de la rhGAA está sialilado en el sexto sitio de N-glicosilación. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio de aproximadamente 1.5 a aproximadamente 4.2 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el sexto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio aproximadamente 0.9 mol de ácido siálico acetilado por mol de rhGAA en el sexto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende un promedio de al menos 0.05 mol de especies de glicanos con restos de poli-N-acetil-D-lactosamina (poli-LacNAc) por mol de rhGAA en el sexto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, más del 10 % de la rhGAA comprende un glicano que lleva un resto de poli-LacNAc en el sexto sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende una sexta ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se

representa en la Fig. 6A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 6G. En al menos una realización, la rhGAA comprende una sexta ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 19A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 19G o la Fig. 20B.

5 En una o más realizaciones, al menos el 5 % de la rhGAA se fosforila en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial (por ejemplo, N869 para la SEQ ID NO: 6 y N925 para la SEQ ID NO: 4). En otras realizaciones, menos del 5 %, 10 %, 15 %, 20 % o 25 % de la rhGAA se fosforila en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, menos del 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 % o 65 % de la
10 rhGAA tiene algún glicano en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, al menos el 30 %, 35 % o 40 % de la rhGAA tiene un glicano en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio al menos 0.5 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA
15 comprende en promedio al menos 0.8 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio aproximadamente 0.86 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende un promedio de al menos 0.3 mol de especies de glicanos que
20 llevan restos de poli-LacNAc por mol de rhGAA en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, casi la mitad de la rhGAA comprende un glicano que lleva un resto de poli-LacNAc en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, todos los N-glicanos identificados en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial son N-glicanos complejos. En al menos una realización,
25 la rhGAA comprende una séptima ocupación de sitio de N-glicosilación potencial como se representa en la Fig. 6A o como se representa en la Fig. 19A y un perfil de N-glicosilación como se representa en la Fig. 19H o en la Fig. 20B.

En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio 3-4 mol de restos de M6P por mol de rhGAA y aproximadamente de 4 a aproximadamente
30 7.3 mol de ácido siálico por mol de rhGAA. En algunas realizaciones, la rhGAA

comprende además en promedio al menos aproximadamente 0.5 mol de bis-M6P por mol de rhGAA en el primer sitio de N-glicosilación potencial, de aproximadamente 0.4 a aproximadamente 0.6 mol de mono-M6P por mol de rhGAA en el segundo sitio de N-glicosilación potencial, de aproximadamente 0.9 a aproximadamente 1.2 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el tercer sitio de N-glicosilación potencial, de aproximadamente 0.4 a aproximadamente 0.6 mol de bis-M6P por mol de rhGAA en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial, de aproximadamente 0.3 a aproximadamente 0.4 mol de mono-M6P por mol de rhGAA en el quinto sitio de N-glicosilación potencial, de aproximadamente 0.8 a aproximadamente 0.9 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el quinto sitio de N-glicosilación potencial y de aproximadamente de 1.5 a aproximadamente 4.2 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el sexto sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende además en promedio al menos 0.5 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En algunas realizaciones, la rhGAA comprende en promedio al menos 0.8 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende además en promedio aproximadamente 0.86 mol de ácido siálico por mol de rhGAA en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial. En al menos una realización, la rhGAA comprende siete sitios de N-glicosilación potenciales con perfiles de ocupación y N-glicosilación como se representan en las Fig. 6A-6H. En al menos una realización, la rhGAA comprende siete sitios de N-glicosilación potenciales con perfiles de ocupación y N-glicosilación como se representan en las Fig. 19A-19H y las Fig. 20A-20B.

Se divulgan métodos de fabricación de rhGAA en la Solic. de Pat. Internacional N.º PCT/2015/053252, la Pat. de los EE.UU. N.º 10,208,299 y la Pat. de los EE.UU. N.º 10,961,522, cuya divulgación íntegra se incorpora en el presente documento por referencia.

Una vez dentro del lisosoma, la rhGAA puede degradar enzimáticamente el glucógeno acumulado. Sin embargo, los productos de rhGAA convencionales tienen niveles totales bajos de N-glicanos que llevan mono-M6P y bis-M6P y, por lo

tanto, se dirigen deficientemente a las células musculares diana dando como resultado un suministro inferior de rhGAA a los lisosomas. La mayoría de las moléculas de rhGAA en estos productos convencionales no tienen N-glicanos fosforilados, careciendo por ello de afinidad por el CIMPR. Los N-glicanos con alto contenido de manosa no fosforilados también pueden ser aclarados por el receptor de manosa, dando como resultado un aclaramiento no productivo de la ERT (Fig. 2B). Por el contrario, como se muestra en la Fig. 2A, una rhGAA descrita en el presente documento puede contener una mayor cantidad de N-glicanos que llevan mono-M6P y bis-M6P, conduciendo a una captación productiva de la rhGAA en tejidos específicos tales como el músculo.

PRODUCCIÓN Y PURIFICACIÓN DE RHGAA GLICOSILADA UNIDAD A N

Como se describe en la Solic. de Pat. internacional N.º PCT/2015/053252, la Pat. de los EE.UU. N.º 10,208,299 y la Pat. de los EE.UU. N.º 10,961,522, cuya totalidad se incorpora en el presente documento por referencia, pueden usarse células tales como células de ovario de hámster chino (CHO) para producir la rhGAA descrita en las mismas. La expresión de rhGAA con alto contenido de M6P en células CHO es más ventajosa que la modificación del perfil de glicanos de una rhGAA de manera postraducciona, al menos en parte porque sólo la primera puede convertirse mediante la degradación de glicanos en una forma de rhGAA con una hidrólisis de glucógeno óptima, potenciando de este modo la eficacia terapéutica.

En algunas realizaciones, la rhGAA se produce preferentemente en una o más estirpes de células CHO transformadas con una construcción de ADN que codifica la rhGAA descrita en el presente documento. Dichas estirpes de células CHO pueden contener múltiples copias de un gen, tales como 5, 10, 15 o 20 o más copias, de un polinucleótido que codifica GAA. Las construcciones de ADN, que expresan variantes alélicas de la α -glucosidasa ácida u otras secuencias de aminoácidos de α -glucosidasa ácida variante tales como aquellas que son al menos un 90 %, 95 %, 98 % o 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 6, pueden construirse y expresarse en células CHO. Los expertos en la materia pueden

seleccionar vectores alternativos adecuados para transformar células CHO para la producción de dichas construcciones de ADN.

Se describen métodos para fabricar dichas estirpes de células CHO en la Solic. de Pat. Internacional N.º PCT/2015/053252, la Pat. de los EE.UU. N.º 10,208,299 y la Pat. de los EE.UU. N.º 10,961,522, cuya totalidad se incorpora en el presente documento por referencia. Brevemente, estos métodos implican transformar una célula CHO con ADN que codifica GAA o una variante de GAA, seleccionar una célula CHO que integra de forma estable el ADN que codifica GAA en su cromosoma o cromosomas y que expresa de forma estable GAA, y seleccionar una célula CHO que expresa GAA que tiene un alto contenido de N-glicanos que llevan mono-M6P o bis-M6P y, opcionalmente, seleccionar una célula CHO que tiene N-glicanos con un alto contenido de ácido siálico y/o que tiene N-glicanos con un alto contenido de manosa y bajo grado de no fosforilación. Las estirpes de células CHO seleccionadas pueden usarse para producir rhGAA y composiciones de rhGAA cultivando la estirpe de células CHO y recuperando dicha composición del cultivo de células CHO. En algunas realizaciones, una rhGAA producida a partir de las estirpes celulares CHO seleccionadas contiene un alto contenido de N-glicanos que llevan mono-M6P o bis-M6P que se dirigen al CIMPR. En algunas realizaciones, una rhGAA producida como se describe en el presente documento tiene niveles bajos de N-glicanos complejos con galactosa terminal. En algunas realizaciones, las estirpes de células CHO seleccionadas se denominan GA-ATB200 o ATB200-X5-14. En algunas realizaciones, las estirpes de células CHO seleccionadas abarcan un subcultivo o derivado de dicho cultivo de células CHO. En algunas realizaciones, una rhGAA producida a partir de las estirpes de células CHO seleccionadas se denomina ATB200.

Una rhGAA producida como se describe en el presente documento puede purificarse siguiendo los métodos descritos en la Pat. de los EE.UU. N.º 10,227,577 y en la Solicitud provisional de los EE.UU. N.º 62/506,569, ambas incorporadas en el presente documento por referencia en su totalidad. En la Fig. 3 se muestra un

proceso de ejemplo para producir, capturar y purificar una rhGAA producida a partir de estirpes de células CHO.

Brevemente, el biorreactor 601 contiene un cultivo de células, tales como células CHO, que expresan y secretan rhGAA en el medio de cultivo líquido circundante. El biorreactor 601 puede ser cualquier biorreactor adecuado para cultivar las células, tal como un biorreactor de perfusión, discontinuo o alimentado discontinuo. El medio de cultivo se elimina del biorreactor después de un período de tiempo suficiente para que las células produzcan rhGAA. Dicha eliminación de medio puede ser continua para un biorreactor de perfusión o puede ser discontinua para un reactor discontinuo o alimentado discontinuo. El medio puede filtrarse mediante el sistema de filtración 603 para eliminar las células. El sistema de filtración 603 puede ser cualquier sistema de filtración adecuado, incluyendo un sistema de filtración de flujo tangencial alterno (ATF, por sus siglas en inglés), un sistema de filtración de flujo tangencial (TFF, por sus siglas en inglés) y/o un sistema de filtración centrífuga. En diversas realizaciones, el sistema de filtración utiliza un filtro que tiene un tamaño de poro de entre aproximadamente 10 nanómetros y aproximadamente 2 micrómetros.

Después de la filtración, el filtrado se carga en un sistema 605 de captura de proteínas. El sistema 605 de captura de proteínas puede incluir una o más columnas de cromatografía. Si se usa más de una columna de cromatografía, entonces las columnas se pueden colocar en serie para que la siguiente columna pueda comenzar a cargarse una vez que se cargue la primera columna. Como alternativa, el proceso de eliminación de medios se puede detener durante el tiempo en que se cambian las columnas.

En diversas realizaciones, el sistema 605 de captura de proteínas incluye una o más columnas de intercambio aniónico (AEX) para la captura directa de productos de rhGAA, particularmente la rhGAA que tiene un alto contenido de M6P. La rhGAA capturada por el sistema 605 de captura de proteínas se eluye de la columna o columnas cambiando el pH y/o el contenido de sal en la columna. En la Tabla 2 se proporcionan condiciones de ejemplo para una columna de AEX.

Tabla 2. Condiciones de ejemplo para una columna de AEX

	Procedimiento	Tampón	Caudal (cm/h)	Volumen (CV)	Temperatura (°C)
5	Higienización antes del uso	NaOH 0.1-10 M	≤ 25- 2500	≥ 1-3 (≥ 10- 120 min)	15 – 25
	Pre-Equilibrado	Tampón fosfato (PB) 20-2000 mM, pH 6.9- 7.3	≤ 25- 2500	≥ 1-5	15 – 25
10	Equilibrado	PB 4-400 mM, pH 6.9-7.3	≤ 25- 2500	≥ 1-5	2 – 15
	Carga	NA	≤ 10- 1000	NA	2 – 15
15	Lavado1	PB 4-400 mM, pH 6.9-7.3	≤ 25- 2500	≥ 2-10	2 – 15
	Lavado2	PB 4-400 mM, pH 6.9-7.3	≤ 25- 2500	≥ 2-10	15 – 25
20	Elución	PB 4-400 mM, NaCl 20-2000 mM, pH 6.1- 6.5	≤ 25- 2500	NA	15 – 25
	Separación	PB 4-400 mM, NaCl 0.1-10 M, pH 6.1-6.5	≤ 25- 2500	≥ 1-5	15 – 25
25	Higienización después del uso	NaOH 0.1-10 M	≤ 25- 2500	≥ 1-3 (≥ 10- 120 min)	15 – 25
	Almacenamiento	NaOH 0.01-1.0 M	≤ 25- 2500	≥ 1-5	15 – 25

La rhGAA eluida puede someterse a etapas de purificación y/o etapas de control de calidad adicionales. Por ejemplo, la rhGAA eluida puede someterse a una

etapa de destrucción de virus 607. Una destrucción de virus 607 puede incluir una o más de una destrucción a pH bajo, una destrucción con detergente u otra técnica conocida en la materia. La rhGAA de la etapa de destrucción de virus 607 puede introducirse en un segundo sistema de cromatografía 609 para purificar adicionalmente el producto de rhGAA. Como alternativa, la rhGAA eluida del sistema 605 de captura de proteínas puede alimentarse directamente al segundo sistema de cromatografía 609. En diversas realizaciones, el segundo sistema de cromatografía 609 incluye una o más columnas de cromatografía de afinidad por metales inmovilizados (IMAC) para la eliminación adicional de impurezas. En la Tabla 3 a continuación se proporcionan condiciones de ejemplo para una columna de IMAC.

Tabla 3. Condiciones de ejemplo para una columna de IMAC

Procedimiento	Tampón	Caudal (cm/h)	Vol (CV)
Aclarado	PB 4-400 mM, pH 6.3-6.7	≤ 25 -2500	≥ 1 -5
Higienización antes del uso	NaOH 0.01-1.0 M	≤ 25 -2500	≥ 1 -3 (10 - 30 min)
Equilibrado	PB 4-400 mM, pH 6.5	≤ 25 -2500	≥ 1 -5
Lavado con WFI	Agua para inyección (WFI)	≤ 25 -2500	≥ 1 -3
Quelación	Acetato de cobre 0.01-1.0 M	≤ 25 -2500	≥ 1 -5
Lavado con WFI	WFI	≤ 25 -2500	≥ 2 -10
Lavado con tampón ácido	Acetato sódico 2-200 mM, NaCl 0.05-5 M, pH 3.5-4.5	≤ 25 -2500	≥ 2 -10
Equilibrado	PB 4-400 mM, pH 6.3-6.7	≤ 25 -2500	≥ 1 -5
Ejecución de blanco con tampón de elución	PB 4-400 mM, glicina 15-1500 mM, pH 6.1-6.5	≤ 25 -2500	≥ 2 -20
Equilibrado	PB 4-400 mM, pH 6.3-6.7	≤ 25 -2500	≥ 1 -5

	Carga	NA	$\leq 25-2500$	$\geq 1-5$
	Lavado1	PB 4-400 mM, pH 6.3-6.7	$\leq 25-2500$	$\geq 2-10$
5	Lavado2	PB 4-400 mM, NaCl 0.1-10 M, propilenglicol al 5-30 %, pH 6.3-6.7	$\leq 25-2500$	$\geq 2-10$
	Lavado3	PB 4-400 mM, pH 6.3-6.7	$\leq 25-2500$	$\geq 2-10$
	Elución	PB 4-400 mM, glicina 15-1500 mM, pH 6.1-6.5	$\leq 25-2500$	NA
10	Separación	PB 4-400 mM, imidazol 50-5000 mM, pH 6.3-6.7	$\leq 25-2500$	$\geq 1-5$
	Higienización después del uso	NaOH 0.01-1 M	$\leq 25-2500$	$\geq 1-3$ (10 - 30 min)
	Aclarado	PB 4-400 mM, pH 6.3-6.7	$\leq 25-2500$	$\geq 1-5$
15	Almacenamiento	etanol al 5-30%	$\leq 25-2500$	$\geq 1-5$

Después de cargar la rhGAA en el segundo sistema de cromatografía 609, la proteína recombinante se eluye de la columna o columnas. La rhGAA eluida puede someterse a una etapa de destrucción de virus 611. Al igual que con la destrucción de virus 607, la destrucción de virus 611 puede incluir una o más de una destrucción a pH bajo, una destrucción con detergente u otra técnica conocida en la materia. En algunas realizaciones, solo se utiliza una de la destrucción de virus 607 o 611, o las destrucciones de virus se realizan en la misma etapa en el proceso de purificación.

La rhGAA de la etapa de destrucción de virus 611 puede introducirse en un tercer sistema de cromatografía 613 para purificar adicionalmente el producto de proteína recombinante. Como alternativa, la proteína recombinante eluida del segundo sistema de cromatografía 609 puede alimentarse directamente al tercer sistema de cromatografía 613. En diversas realizaciones, el tercer sistema de cromatografía 613 incluye una o más columnas de cromatografía de intercambio catiónico (CEX) y/o columnas de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) para

la eliminación adicional de impurezas. Después, el producto de rhGAA se eluye del tercer sistema de cromatografía 613. En la Tabla 4 a continuación se proporcionan condiciones de ejemplo para una columna de CEX.

Tabla 4. Condiciones de ejemplo para una columna de CEX

Procedimiento	Tampón	Caudal (cm/h)	Vol (CV)
Higienización antes del uso	NaOH 0.1-10 M	$\leq 25-2500$	$\geq 1-3$ ($\geq 10-120$ min)
Equilibrado	Citrato sódico 2-200 mM, pH 4.0-5.0	$\leq 30-3000$	$\geq 2-10$
Carga	NA	$\leq 30-3000$	NA
Lavado	Citrato sódico 2-200 mM, pH 4.0-5.0	$\leq 30-3000$	$\geq 2-10$
Elución	Citrato sódico 2-200 mM, NaCl 15-1500 mM, pH 4.0-5.0	$\leq 30-3000$	$\geq 2-10$
Separación	Citrato sódico 2-200 mM, NaCl 0.1-10 M, pH 4.0-5.0	$\leq 30-3000$	$\geq 1-5$
Higienización después del uso	NaOH 0.1-10 M	$\leq 25-2500$	$\geq 1-3$ ($\geq 10-120$ min)
Almacenamiento	NaOH 0.01-1.0 M	$\leq 30-3000$	$\geq 1-5$

El producto de rhGAA también puede someterse a un procesamiento adicional. Por ejemplo, puede usarse otro sistema de filtración 615 para eliminar virus. En algunas realizaciones, dicha filtración puede utilizar filtros con tamaños de poro entre 5 y 50 μm . Otro procesamiento del producto puede incluir una etapa 617 de ajuste de producto, en la que el producto de proteína recombinante puede esterilizarse, filtrarse, concentrarse, almacenarse y/o tener componentes adicionales para añadir a la formulación de producto final.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

En diversas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la rhGAA descrita en el presente documento, ya sea sola o en combinación con otros agentes terapéuticos, y/o un portador farmacéuticamente aceptable.

En una o más realizaciones, una composición farmacéutica descrita en el presente documento comprende una sal farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, la sal farmacéuticamente aceptable utilizada en el presente documento es una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable.

La sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable puede incluir, pero sin limitación, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos incluyendo, pero sin limitación, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido adípico, ácido ascórbico, ácido aspártico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido butírico, ácido alcanfórico, ácido alcanforsulfónico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido diglucónico, ácido etanosulfónico, ácido glutámico, ácido glicólico, ácido glicerofosfórico, ácido hemisúlfico, ácido hexanoico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido 2-hidroxietanosulfónico (ácido isetiónico), ácido láctico, ácido hidroximaleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido mesitilenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido naftalenosulfónico, ácido nicotínico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido oxálico, ácido pamoico, ácido pectínico, ácido fenilacético, ácido 3-fenilpropiónico, ácido piválico, ácido propiónico, ácido pirúvico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfanílico, ácido tartárico, ácido p-toluenosulfónico, ácido undecanoico y similares.

En algunas realizaciones, la sal farmacéuticamente aceptable utilizada en el presente documento es una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable. La sal de adición de base farmacéuticamente aceptable puede incluir, pero sin limitación, amoníaco o hidróxido, carbonato o bicarbonato de amonio o un catión metálico tal como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Las sales derivadas de bases atóxicas orgánicas

farmacéuticamente aceptables, incluyen, pero sin limitación, sales de aminas primarias, secundarias, y terciarias, compuestos de amina cuaternaria, aminas sustituidas, incluyendo las aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, dietilamina, trietilamina, isopropilamina, tripropilamina, tributilamina, etanolamina, dietanolamina, 2-dimetilaminoetanol, 2-dietilaminoetanol, diciclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, hidrabricina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina, compuestos de tetrametilamonio, compuestos de tetraetilamonio, piridina, N,N-dimetilanilina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, diciclohexilamina, bibencilamina, N,N-dibencilfenetilamina, 1-efenamina, N,N'-dibenciletilendiamina, resinas de poliamina y similares.

En algunas realizaciones, la rhGAA o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede formularse en forma de una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, la composición puede incluir también un agente solubilizante y un anestésico local para disminuir el dolor en el sitio de la inyección. Los ingredientes de la composición farmacéutica pueden suministrarse por separado o se mezclan entre sí en una forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, en forma de un polvo liofilizado seco o concentrado exento de agua en un recipiente sellado herméticamente tal como una ampolla o bolsita en la que se indica la cantidad del principio activo. Cuando la composición es para administrarse mediante infusión, puede dispensarse con una botella de infusión que contiene agua estéril de calidad farmacéutica, solución salina o dextrosa/agua. En algunas realizaciones, la infusión puede tener lugar en un hospital o clínica. En algunas realizaciones, la infusión puede tener lugar fuera del hospital o la clínica, por ejemplo, en la residencia del sujeto. Cuando la composición se administra mediante inyección, puede

proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina con el fin de que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

En algunas realizaciones, la rhGAA o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se administra cada 2 semanas en forma de una infusión intravenosa que dura aproximadamente 4 horas. En algunas realizaciones, el volumen total de infusión se determina por el peso corporal del paciente. La velocidad de infusión puede reducirse y la duración de la infusión puede aumentarse si el paciente experimenta una IAR.

En algunas realizaciones, la velocidad de infusión inicial es de 1 mg/kg/hora. En algunas realizaciones, la velocidad de infusión se aumenta gradualmente en 2 mg/kg/hora cada 30 minutos si no hay signos de reacciones asociadas a la infusión (RAI) hasta que se alcanza una velocidad máxima de 7 mg/kg/hora; después, la velocidad de infusión se mantiene a 7 mg/kg/hora hasta completar la infusión. En algunas realizaciones, la duración total aproximada de la infusión es de 4 horas.

Las infusiones deben administrarse de forma escalonada usando una bomba de infusión. Las velocidades de infusión pueden aumentarse desde la velocidad inicial cada 30 minutos +/- 5 minutos hasta alcanzar la velocidad máxima, como se muestra en la Tabla 5 a continuación, basándose en el peso del paciente.

Tabla 5: Volúmenes y velocidades de infusión recomendados para una dosis de 20 mg/kg

Intervalo de peso de sujetos (kg)	Volumen de infusión total (ml)	Etapas 1 1 mg/kg/h (ml/h)	Etapas 2 3 mg/kg/h (ml/h)	Etapas 3 5 mg/kg/h (ml/h)	Etapas 4 7 mg/kg/h (ml/h)
40 – 50	250	13	38	63	88
50.1 – 60	300	15	45	75	105
60.1 – 100	500	25	75	125	175
100.1 – 120	600	30	90	150	210
120.1 – 140	700	35	105	175	245

140.1 – 160	800	40	120	200	280
160.1 – 180	900	45	135	225	315
180.1 – 200	1,000	50	150	250	350

El problema de tolerabilidad más grave de la rhGAA o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma es la aparición de reacciones asociadas a la infusión (IAR), que, en algunos casos, pueden incluir anafilaxia potencialmente mortal u otras respuestas alérgicas graves. En algunas realizaciones, antes de la administración de la rhGAA o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, se administran pretratamientos con antihistamínicos, antipiréticos y/o corticoesteroides. Si se usó un pretratamiento con terapia de reemplazo enzimático (ERT), antes de la administración de la rhGAA o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, se administran pretratamientos con antihistamínicos, antipiréticos y/o corticoesteroides.

En algunas realizaciones, la rhGAA o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede formularse para la administración oral. Las composiciones administrables por vía oral pueden formularse en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, geles, jarabes, colutorios o polvo seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso, opcionalmente con agentes aromatizantes y colorantes para aplicaciones de liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, pulsátil o controlada. También pueden usarse composiciones sólidas tales como comprimidos, cápsulas, pastillas para chupar, píldoras, bolos, polvo, pastas, gránulos, grageas, balas o preparaciones de premezcla. Pueden prepararse composiciones sólidas y líquidas para uso oral de acuerdo con los métodos bien conocidos en la técnica. Dichas composiciones pueden contener también uno o más portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden estar en forma sólida o líquida. Pueden prepararse comprimidos o cápsulas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, pero sin limitación, agentes aglutinantes, cargas, lubricantes, disgregantes o agentes humectantes. Se conocen en la técnica excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados e incluyen, pero

sin limitación, almidón pregelatinizado, polivinilpirrolidona, povidona, hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), hidroxipropil etilcelulosa (HPEC), hidroxipropil celulosa (HPC), sacarosa, gelatina, goma arábica, lactosa, celulosa microcristalina, hidrogenofosfato de calcio, estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo, talco, sílice, maíz, almidón de patata o tapioca, almidón glicolato de sodio, lauril sulfato de sodio, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio dibásico, glicina croscarmelosa de sodio y silicatos complejos. Los comprimidos se pueden recubrir mediante métodos bien conocidos en la técnica.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica descrita en el presente documento puede formularse de acuerdo con la Pat. de los EE.UU. N.º 10,512,676 y la Solicitud provisional de los EE.UU. N.º 62/506,574, ambas incorporadas en el presente documento por referencia en su totalidad. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el pH de una composición farmacéutica descrita en el presente documento es de aproximadamente 5.0 a aproximadamente 7.0 o de aproximadamente 5.0 a aproximadamente 6.0. En algunas realizaciones, el pH varía de aproximadamente 5.5 a aproximadamente 6.0. En algunas realizaciones, el pH de la composición farmacéutica es de 6.0. En algunas realizaciones, el pH puede ajustarse a un pH objetivo usando ajustadores de pH (es decir, agentes alcalinizantes y agentes acidificantes) tales como hidróxido de sodio y/o ácido clorhídrico.

La composición farmacéutica descrita en el presente documento puede comprender un sistema tampón tal como un sistema de citrato, un sistema de fosfato y/o una combinación de los mismos. El citrato y/o el fosfato pueden ser un citrato de sodio o fosfato de sodio. Otras sales incluyen sales de potasio y amonio. En una o más realizaciones, el tampón comprende un citrato. En realizaciones adicionales, el tampón comprende citrato de sodio (por ejemplo, una mezcla de citrato de sodio deshidratado y monohidrato de ácido cítrico). En una o más realizaciones, las soluciones tampón que comprenden un citrato pueden comprender citrato de sodio y ácido cítrico. En algunas realizaciones, hay presente tanto un tampón de citrato como de fosfato.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica descrita en el presente documento comprende al menos un excipiente. El excipiente puede actuar como agente de tonicidad, agente de carga y/o estabilizador. Los agentes de tonicidad son componentes que ayudan a garantizar que la formulación tenga una presión osmótica similar o igual a la sangre humana. Los agentes de carga son ingredientes que añaden masa a las formulaciones (por ejemplo, liofilizados) y proporcionan una estructura adecuada a la torta. Los estabilizadores son compuestos que pueden prevenir o minimizar la formación de agregados en las superficies interfaciales hidrófobas aire-agua. Un excipiente puede actuar como agente de tonicidad y agente de carga al mismo tiempo. Por ejemplo, el manitol puede actuar como agente de tonicidad y también proporcionar beneficios como agente de carga.

Los ejemplos de agentes de tonicidades incluyen cloruro de sodio, manitol, sacarosa y trehalosa. En algunas realizaciones, el agente de tonicidad comprende manitol. En algunas realizaciones, la cantidad total de uno o más agentes de tonicidad varía en una cantidad de aproximadamente 10 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml. En realizaciones adicionales, la cantidad total de uno o más agentes de tonicidad varía en una cantidad de aproximadamente 10, 11, 12, 13, 14 o 15 mg/ml a aproximadamente 16, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 mg/ml.

En algunas realizaciones, el excipiente comprende un estabilizador. En algunas realizaciones, el estabilizador es un tensioactivo. En algunas realizaciones, el estabilizador es polisorbato 80. En una o más realizaciones, la cantidad total de estabilizador varía de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 1.0 mg/ml. En realizaciones adicionales, la cantidad total de estabilizador varía de aproximadamente 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 o 0.5 mg/ml a aproximadamente 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 o 1.0 mg/ml. En más realizaciones adicionales, la cantidad total de estabilizador es de aproximadamente 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 o 1.0 mg/ml.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende uno o más de los siguientes excipientes: dihidrato de citrato de sodio, monohidrato de ácido cítrico, manitol o polisorbato-80.

5 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende (a) una rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoasidasa alfa), (b) al menos un tampón seleccionado del grupo que consiste en un citrato, un fosfato y una combinación de los mismos, y (c) al menos un excipiente seleccionado del grupo que consiste en manitol, polisorbato 80 y una combinación de los mismos, y tiene un pH de (i) de aproximadamente 5.0 a aproximadamente 6.0, o (ii) de aproximadamente 5.0 a
10 aproximadamente 7.0. En algunas realizaciones, la composición comprende además agua. En algunas realizaciones, la composición puede comprender además un agente acidificante y/o un agente alcalinizante.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende (a) una rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoasidasa alfa) a una concentración de
15 aproximadamente 5-50 mg/ml, aproximadamente 5-30 mg/ml o aproximadamente 15 mg/ml, (b) tampón de citrato de sodio a una concentración de aproximadamente 10-100 mM o aproximadamente 25 mM, (c) manitol a una concentración de aproximadamente 10-50 mg/ml o aproximadamente 20 mg/ml, (d) polisorbato 80, presente a una concentración de aproximadamente 0.1-1 mg/ml, aproximadamente
20 0.2-0.5 mg/ml o aproximadamente 0.5 mg/ml, y (e) agua, y tiene un pH de aproximadamente 6.0. En al menos una realización, la composición farmacéutica comprende (a) rhGAA 15 mg/ml (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoasidasa alfa) (b) tampón de citrato de sodio 25 mM, (c) manitol 20 mg/ml (d) polisorbato 80 0.5 mg/ml, y (e) agua, y tiene un pH de aproximadamente 6.0. En algunas
25 realizaciones, la composición puede comprender además un agente acidificante y/o un agente alcalinizante.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoasidasa alfa) se diluye antes de su administración a un sujeto que la necesite.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en el presente documento puede someterse a un proceso de liofilización (liofilización) para proporcionar una torta o polvo. En consecuencia, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en el presente documento pertenece a una composición de rhGAA después de la liofilización. La mezcla liofilizada puede comprender la rhGAA descrita en el presente documento (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa), tampón seleccionado del grupo que consiste en un citrato, un fosfato y combinaciones de los mismos, y al menos un excipiente seleccionado del grupo que consiste en trehalosa, manitol, polisorbato 80 y una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, a la mezcla liofilizada pueden añadirse otros ingredientes (por ejemplo, otros excipientes). La composición farmacéutica que comprende la formulación liofilizada puede proporcionarse en un vial, que después puede almacenarse, transportarse, reconstituirse y/o administrarse a un paciente.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende una rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) como se describe en el presente documento es un polvo liofilizado en viales de vidrio. En algunas realizaciones, cada vial puede contener aproximadamente 105 mg de rhGAA liofilizada (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa). El polvo puede reconstituirse en agua estéril y después diluirse con cloruro de sodio al 0.9 % antes de administrarlo por infusión IV. En algunas realizaciones, después de la reconstitución, el concentrado obtenido contiene 15 mg de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) por ml. En algunas realizaciones, después de la reconstitución con 7.2 ml de diluyente, el vial contiene un volumen utilizable de 7.0 ml de concentrado que contiene rhGAA 15 mg/ml (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa). En algunas realizaciones, el diluyente es agua estéril y/o cloruro de sodio al 0.9 %. En algunas realizaciones, cada vial puede incluir un sobrellenado para compensar la pérdida de líquido durante la preparación. En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un vial (por ejemplo, un vial de vidrio) que contiene 105 mg de composición de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) liofilizada que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o

cipaglucosidasa alfa), dihidrato de citrato de sodio, monohidrato de ácido cítrico, manitol, polisorbato 80, en donde la cantidad/concentración de cada ingrediente puede seleccionarse de las descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones, el número de viales que se ha de reconstituir se basa en el peso corporal del paciente y en el hecho de que cada vial contiene 105 mg de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa). En consecuencia, en algunas realizaciones, dosis del paciente (mg) = Peso del sujeto (kg) x dosis (mg/kg); y Número de viales necesarios = dosis del paciente (en mg)/105 (mg por vial). En algunas realizaciones, si el número de viales incluye una fracción, se redondea al número entero superior.

Por ejemplo, en un paciente de 65 kg dosificado a 20 mg/kg: Dosis del paciente (mg) = 65 kg X 20 mg/kg = 1300 mg dosis total; Número de viales necesarios = 1300/105 mg por vial = 12.381 redondeado a 13 viales con fines de dispensación. La dosis del paciente es de 20 mg/ kg, por lo que se extraerá el volumen completo de los 12 primeros viales pero al 13.^{er} vial se le extraerán 2.7 ml y se añadirán a la bolsa de infusión.

En algunas realizaciones, el método de reconstitución comprende o consiste esencialmente en los siguientes procesos: (1) reconstituir cada vial inyectando lentamente 7.2 ml de Agua Estéril para Inyección, en la pared interior de cada vial y no directamente sobre la torta liofilizada; (2) hacer rodar cada vial suavemente, no invertir, girar ni agitar; (3) diluir una cantidad de rhGAA reconstituida basada en el peso corporal del paciente en Cloruro de sodio para Inyección al 0.9 %, inmediatamente después de la reconstitución hasta el volumen de infusión total para la dosis de 20 mg/kg basada en el peso del paciente; (4) antes de añadir la rhGAA reconstituida, eliminar el aire y la cantidad total igual al volumen reconstituido de la bolsa de Cloruro de sodio para Inyección al 0.9 %; (5) extraer lentamente la solución reconstituida de cada vial evitando la formación de espuma en la jeringa; (6) Añadir lentamente la solución de cipaglucosidasa alfa reconstituida directamente en la bolsa de Cloruro de sodio para Inyección al 0.9 % (no añadir directamente en el espacio de aire que pueda quedar dentro de la bolsa de infusión) evitando la

formación de espuma en la bolsa de infusión (Como alternativa, la dilución del producto puede lograrse usando una bolsa de infusión vacía del tamaño adecuado para añadir el volumen necesario de Cloruro de sodio para Inyección al 0.9 % y la rhGAA reconstituida basándose en el peso del paciente). Se recomienda usar

5 bolsas precargadas de Cloruro de sodio para Inyección al 0.9 %); (7) invertir o masajear suavemente la bolsa de infusión para mezclar; y (8) cubrir la bolsa de infusión y el tubo para proteger el medicamento de la luz. Después de la reconstitución, cada vial producirá una concentración de 15 mg/ml. La dosis total extraíble por vial es de 105 mg por 7 ml.

10 En algunas realizaciones, sólo se diluye la cantidad exacta de rhGAA reconstituida basándose en el peso corporal del paciente. En algunas realizaciones, para la extracción parcial del vial reconstituido, las cantidades se redondean hacia arriba o hacia abajo hasta 1 decimal. En algunas realizaciones, la bolsa de infusión no se agita para mezclar o se usa un tubo neumático para transportar la bolsa de

15 infusión. En algunas realizaciones, las soluciones reconstituidas y diluidas pueden contener partículas en forma de finas hebras blancas o fibras translúcidas después de la preparación inicial y pueden aumentar a lo largo del tiempo.

La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica que comprende un estabilizador enzimático. En algunas realizaciones, el

20 estabilizador enzimático es miglustat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otra realización, el estabilizador enzimático es duvoglustat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, una rhGAA descrita en el presente documento se formula en una composición farmacéutica, mientras que un estabilizador enzimático

25 tal como miglustat se formula en otra composición farmacéutica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende miglustat se basa en una formulación disponible en el mercado como ZAVESCA® (Actelion Pharmaceuticals). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende miglustat comprende celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado,

30 sucralosa en polvo Emprove®, estearato de magnesio y/o dióxido de silicio coloidal.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una cápsula de gelatina dura para la administración oral, que comprende aproximadamente 65 mg de miglustat, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado, sucralosa en polvo Emprove®, estearato de magnesio y/o dióxido de silicio coloidal.

- 5 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende el 20 %-40 % en peso de miglustat, tal como el 30-35 % en peso de miglustat. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende además el 40 %-60 % en peso de celulosa microcristalina, tal como el 45-55 % en peso de celulosa microcristalina. En algunas
- 10 realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende además el 5 %-25 % en peso de almidón pregelatinizado, tal como el 10-20 % en peso de almidón pregelatinizado. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende además el 0.1 %-5 % en peso de sucralosa, tal como el 0.2-1 % en peso de sucralosa. En algunas realizaciones,
- 15 una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende además el 0.1 %-5 % en peso de estearato de magnesio, tal como el 0.2-1 % en peso de estearato de magnesio. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende además el 0.1 %-5 % en peso de dióxido de silicio coloidal, tal como el 0.2-1 % en peso de dióxido de silicio coloidal. En algunas
- 20 realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una cápsula de gelatina dura para la administración oral. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una cápsula de gelatina dura para la administración oral, que comprende aproximadamente el 20 %-40 % (por ejemplo, el 30-35 %) en peso de miglustat, el 40 %-60 % (por ejemplo, el 45-55 %) en peso de celulosa microcristalina, el 5 %-25 % (por ejemplo, el 10-20 %) en peso de almidón pregelatinizado, el 0.1 %-5 % (por ejemplo, el 0.2 %-1 %) en peso de sucralosa, el 0.1 %-5 % (por ejemplo, el 0.2 %-1 %) en peso de estearato de magnesio y/o el 0.1 %-5 % (por ejemplo, el 0.2 %-1 %) en peso de dióxido de silicio coloidal. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende
- 25 miglustat se proporciona en una forma farmacéutica oral líquida, tal como una
- 30

solución, dispersión, o suspensión oral. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una forma farmacéutica líquida oral, que comprende aproximadamente el 20 %-40 % (por ejemplo, el 30-35 %) en peso de miglustat, el 40 %-60 % (por ejemplo, el 45-55 %) en peso de celulosa microcristalina, el 5 %-25 % (por ejemplo, el 10-20 %) en peso de almidón pregelatinizado, el 0.1 %-5 % (por ejemplo, el 0.2 %-1 %) en peso de sucralosa, el 0.1 %-5 % (por ejemplo, el 0.2 %-1 %) en peso de estearato de magnesio y/o el 0.1 %-5 % (por ejemplo, el 0.2 %-1 %) en peso de dióxido de silicio coloidal.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg de miglustat, tal como aproximadamente 65 mg de miglustat. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende de aproximadamente 50 a aproximadamente 150 mg de celulosa microcristalina, tal como de aproximadamente 75 a aproximadamente 125 mg de celulosa microcristalina. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 mg de almidón pregelatinizado, tal como de aproximadamente 30 a aproximadamente 40 mg de almidón pregelatinizado. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5 mg de sucralosa, tal como de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 2 mg de sucralosa. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5 mg de estearato de magnesio, tal como de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 2 mg de estearato de magnesio. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat comprende de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 5 mg de dióxido de silicio coloidal, tal como de aproximadamente 0.2 mg a aproximadamente 1 mg de dióxido de silicio coloidal. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una cápsula de gelatina dura para la administración oral. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una

cápsula de gelatina dura para la administración oral, que comprende de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg (por ejemplo, 65 mg) de miglustat, de aproximadamente 50 a aproximadamente 150 mg (por ejemplo, de 75 mg a aproximadamente 125 mg) de celulosa microcristalina, de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 mg (por ejemplo, de 30 mg a aproximadamente 40 mg) de almidón pregelatinizado, de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 5 mg (por ejemplo, de 0.5 mg a aproximadamente 2 mg) de sucralosa, de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 5 mg (por ejemplo, de 0.5 mg a aproximadamente 2 mg) de estearato de magnesio y/o de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 5 mg (por ejemplo, de 0.5 mg a aproximadamente 2 mg) de dióxido de silicio coloidal. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una forma farmacéutica oral líquida, tal como una solución, dispersión o suspensión oral. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una forma farmacéutica líquida oral, que comprende de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg (por ejemplo, 65 mg) de miglustat, de aproximadamente 50 a aproximadamente 150 mg (por ejemplo, de 75 mg a aproximadamente 125 mg) de celulosa microcristalina, de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 mg (por ejemplo, de 30 mg a aproximadamente 40 mg) de almidón pregelatinizado, de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 5 mg (por ejemplo, de 0.5 mg a aproximadamente 2 mg) de sucralosa, de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 5 mg (por ejemplo, de 0.5 mg a aproximadamente 2 mg) de estearato de magnesio y/o de aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 5 mg (por ejemplo, de 0.5 mg a aproximadamente 2 mg) de dióxido de silicio coloidal.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una cápsula de gelatina dura para la administración oral que comprende aproximadamente 65 mg de miglustat, aproximadamente 100 mg de celulosa microcristalina, aproximadamente 32.6 mg de almidón pregelatinizado, aproximadamente 1 mg de sucralosa en polvo, aproximadamente 1 mg de estearato de magnesio y aproximadamente 0.4 mg de dióxido de silicio coloidal.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una solución, dispersión o suspensión oral, que comprende aproximadamente 65 mg de miglustat, aproximadamente 100 mg de celulosa microcristalina, aproximadamente 32.6 mg de almidón pregelatinizado, aproximadamente 1 mg de sucralosa en polvo, aproximadamente 1 mg de estearato de magnesio y aproximadamente 0.4 mg de dióxido de silicio coloidal.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una solución, dispersión o suspensión oral, que comprende aproximadamente 130 mg de miglustat, aproximadamente 200 mg de celulosa microcristalina, aproximadamente 65.2 mg de almidón pregelatinizado, aproximadamente 2 mg de sucralosa en polvo, aproximadamente 2 mg de estearato de magnesio y aproximadamente 0.8 mg de dióxido de silicio coloidal.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una solución, dispersión o suspensión oral, que comprende aproximadamente 195 mg de miglustat, aproximadamente 300 mg de celulosa microcristalina, aproximadamente 97.8 mg de almidón pregelatinizado, aproximadamente 3 mg de sucralosa en polvo, aproximadamente 3 mg de estearato de magnesio y aproximadamente 1.2 mg de dióxido de silicio coloidal.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende miglustat se proporciona en una solución, dispersión o suspensión oral, que comprende aproximadamente 260 mg de miglustat, aproximadamente 400 mg de celulosa microcristalina, aproximadamente 130.4 mg de almidón pregelatinizado, aproximadamente 4 mg de sucralosa en polvo, aproximadamente 4 mg de estearato de magnesio y aproximadamente 1.6 mg de dióxido de silicio coloidal.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

A. Tratamiento de enfermedades

Otro aspecto de la divulgación se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno relacionado con la desregulación del almacenamiento de glucógeno mediante la administración de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, la enfermedad es la

enfermedad de Pompe (también conocida como deficiencia de maltasa ácida (DMAA) y enfermedad por almacenamiento de glucógeno de tipo II (GSD II)). En algunas realizaciones, la rhGAA es ATB200 o cipaglicosidasa alfa. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende rhGAA (por ejemplo, 5 ATB200 o cipaglicosidasa alfa). En el presente documento también se proporcionan usos de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglicosidasa alfa) para tratar la enfermedad de Pompe.

En algunas realizaciones, el sujeto tratado mediante los métodos divulgados en el presente documento es un paciente con experiencia con ERT. Por ejemplo, el 10 sujeto tratado mediante los métodos divulgados en el presente documento es un paciente adulto de 18 años o más con un diagnóstico confirmado de enfermedad de Pompe de inicio tardío (deficiencia de α -glucosidasa ácida (GAA)), que ha recibido previamente terapia de reemplazo enzimático (ERT). En algunas realizaciones, el paciente con experiencia con ERT está recibiendo actualmente una ERT aprobada 15 (por ejemplo, MYOZYME® o LUMIZYME®). En algunas realizaciones, el paciente con experiencia con ERT está en declive con su tratamiento actual. En algunas realizaciones, los métodos divulgados en el presente documento se inician aproximadamente 2 semanas después de la última dosis de ERT. En algunas realizaciones, el sujeto tratado mediante los métodos divulgados en el presente 20 documento es un paciente sin tratamiento previo con ERT.

En algunas realizaciones, se puede esperar observar al paciente de nuevo cada 3 meses para garantizar el beneficio clínico proporcionado al paciente y, por lo tanto, continuar el tratamiento. Esta frecuencia de visita puede ser necesaria hasta que el medicamento esté disponible en el mercado. En algunas realizaciones, 25 la respuesta de un paciente al tratamiento se evalúa periódicamente basándose en una valoración de los principales parámetros clínicos y de laboratorio de la enfermedad. En algunas realizaciones, una rhGAA como se describe en el presente documento (tal como cipaglicosidasa alfa) y miglustat se administran cada dos semanas. En algunas realizaciones, una dosis de rhGAA tal como cipaglicosidasa 30 alfa es de aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal administrada en infusión de

4 horas. En algunas realizaciones, si la infusión se retrasa, no debe iniciarse más de 3 horas después de la administración oral de miglustat. En algunas realizaciones, para pacientes que pesan 50 kg o más, cuatro cápsulas de 65 mg (260 mg en total).

En algunas de las realizaciones anteriores, para pacientes que pesan entre 40 y 50 kg, se administra una dosis de tres cápsulas de 65 mg (195 mg en total). En algunas de las realizaciones anteriores, la rhGAA (tal como cipaglicosidasa alfa) se administra mediante infusión cada dos semanas.

La rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento se administra por una vía adecuada. En una realización, la rhGAA o composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. En algunas realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica se administra por vía intravenosa usando una bomba de infusión. En algunas realizaciones, cuando se administra por vía intravenosa, la bolsa de infusión y el tubo se cubren para protegerlos de la luz. En otras realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica se administra mediante administración directa a un tejido diana, tal como el corazón o el músculo esquelético (por ejemplo, intramuscular), o el sistema nervioso (por ejemplo, inyección directa en el cerebro; por vía intraventricular; por vía intratecal). En algunas realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica se administra por vía oral. Se puede usar más de una vía simultáneamente, si se desea.

En algunas realizaciones, los efectos terapéuticos de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden evaluarse basándose en uno o más de los siguientes criterios: (1) estado cardíaco (por ejemplo, aumento de los volúmenes telediastólico y/o telesistólico, o reducción, mejora o prevención de la miocardiopatía progresiva que se encuentra normalmente en la GSD-II), (2) función pulmonar (por ejemplo, aumento de la capacidad vital durante el llanto con respecto a la capacidad basal y/o normalización de la desaturación de oxígeno durante el llanto), (3) desarrollo neurológico y/o habilidades/funciones motoras (por ejemplo, aumento de la puntuación de la AIMS), (4) reducción de los niveles de glucógeno en el tejido del individuo afectado por la enfermedad, (5) fuerza muscular; y/o (6) calidad de vida.

En algunas realizaciones, los efectos terapéuticos de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden evaluarse a través de mediciones de la función motora, la fuerza muscular, la función pulmonar, los resultados informados por los pacientes (PRO) y los biomarcadores. En algunas realizaciones, los efectos terapéuticos de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden medirse mediante el ensayo de caminata de 6 minutos (6MWT), el % predicho de 6MWD, el ensayo de caminata de 10 metros (10MWT), la GSGC, la subida de 4 escalones, Gowers, el ensayo de la silla y el *Timed Up and Go* (TUG, ensayo que mide el equilibrio dinámico y la capacidad de movilidad en adultos mayores para predecir el riesgo de caídas). El tratamiento con la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento también puede dar como resultado ensayos mejorados de función pulmonar (PFT, por sus siglas en inglés) medida mediante FVC (por ejemplo, en sedestación, en decúbito supino), capacidad vital lenta (SVC, por sus siglas en inglés), presión inspiratoria máxima (MIP, por sus siglas en inglés), presión espiratoria máxima (MEP, por sus siglas en inglés) y presión inspiratoria nasal por olfateo (SNIP, por sus siglas en inglés), así como mejoras de la fuerza muscular en todas las partes del cuerpo sometidas a ensayo, tanto de sujetos ambulatorios como no ambulatorios, medidas mediante MMT (por ejemplo, MMT inferior, MMT superior, MMT global) y ensayos musculares cuantitativos (QMT, por sus siglas en inglés).

En algunas realizaciones, el estado cardíaco de un sujeto mejora en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento, en comparación con el de un sujeto tratado con un vehículo o con el de un sujeto antes del tratamiento. El estado cardíaco de un sujeto puede evaluarse mediante la medición de los volúmenes telediastólico y/o telesistólico y/o mediante la evaluación clínica de la miocardiopatía. En algunas realizaciones, la función pulmonar de un sujeto mejora en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o

composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa), en comparación con la de un sujeto tratado con un vehículo o la de un sujeto antes del tratamiento. En determinadas realizaciones, la mejora se consigue después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias). En determinadas realizaciones, la rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) mejora y/o estabiliza la función pulmonar de un sujeto después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias).

En algunas realizaciones, la función pulmonar de un sujeto mejora en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento, en comparación con la de un sujeto tratado con un vehículo o la de un sujeto antes del tratamiento. La función pulmonar de un sujeto puede evaluarse mediante la capacidad vital de llanto por encima de la capacidad basal y/o la normalización de la desaturación de oxígeno durante el llanto. En algunas realizaciones, la función pulmonar de un sujeto mejora en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa), en comparación con la de un sujeto tratado con un vehículo o la de un sujeto antes del tratamiento. En determinadas realizaciones, la mejora se consigue después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias). En determinadas realizaciones, la rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) mejora la función pulmonar de un sujeto después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias).

En algunas realizaciones, el neurodesarrollo y/o las habilidades motoras de un sujeto mejoran en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de la rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) o composición farmacéutica de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) descrita en el presente documento, en comparación con los de un sujeto tratado con un vehículo o los de un sujeto antes del tratamiento. El neurodesarrollo y/o las capacidades motoras de un sujeto pueden evaluarse determinando una puntuación de AIMS. La AIMS es una escala anclada de 12 puntos que administra y puntúa el facultativo (véase Rush JA Jr., *Handbook of Psychiatric Measures*, American Psychiatric Association, 2000, 166-168). Los puntos 1-10 se valoran en una escala anclada de 5 puntos. Los puntos 1-4 evalúan los movimientos orofaciales. Los puntos 5-7 tratan de la discinesia de las extremidades y troncal. Los puntos 8-10 se refieren a la gravedad global juzgada por el examinador y a la conciencia del paciente de los movimientos y de la angustia asociada a ellos. Los puntos 11-12 son preguntas de sí/no relativas a problemas con los dientes y/o prótesis dentales (dichos problemas pueden conducir a un diagnóstico erróneo de discinesia). En algunas realizaciones, el neurodesarrollo y/o las habilidades motoras de un sujeto mejoran en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) o la composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa), en comparación con los de un sujeto tratado con un vehículo o los de un sujeto antes del tratamiento. En determinadas realizaciones, la mejora se consigue después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias). En determinadas realizaciones, la rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) o la composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucoSIDasa alfa) mejora y/o estabiliza el neurodesarrollo y/o las habilidades motoras de un sujeto después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias).

En algunas realizaciones, el nivel de glucógeno de un determinado tejido de un sujeto se reduce en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento, en comparación con la de un sujeto tratado con un vehículo o la de un sujeto antes del tratamiento. En algunas realizaciones, el tejido es músculo, tal como cuádriceps, tríceps y gastrocnemio. El nivel de glucógeno de un tejido puede analizarse usando métodos conocidos en la técnica. La determinación de los niveles de glucógeno es bien conocida, se basa en la digestión con amiloglucosidasa, y se describe en publicaciones tales como: Amalfitano et al. (1999), *Proc Natl Acad Sci USA*, 96:8861-8866. En algunas realizaciones, el nivel de glucógeno en el músculo de un sujeto se reduce en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa), en comparación con el de un sujeto tratado con un vehículo o el de un sujeto antes del tratamiento. En determinadas realizaciones, la reducción se consigue después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias). En determinadas realizaciones, la rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o la composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) reduce el nivel de glucógeno en el músculo de un sujeto después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias).

En algunas realizaciones, los efectos terapéuticos de las composiciones farmacéuticas de la presente solicitud, tales como los que se exponen en el presente documento, son duraderos y se mantienen durante 12, 24, 36, 48 o >48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, los efectos de tratamiento de las composiciones farmacéuticas de la presente solicitud, incluyendo, por ejemplo, mejoras de la función motora (por ejemplo, medida mediante 6MWD, GSGC,

caminata de 10 m, subida de 4 escalones, Gowers, ensayo de la silla, TUG), función pulmonar o respiratoria o PFT mejorados o estabilizados (por ejemplo, medidos mediante el % predicho de FVC (en sedestación y en decúbito supino), SVC, MIP, MEP y SNIP), niveles de biomarcadores (por ejemplo, CK sérica y Hex4 en orina), fuerza muscular estable o mejorada en todas las partes del cuerpo sometidas a ensayo (por ejemplo, medida mediante MMT (inferior, superior, global), QMT) y/o resultados informados por los pacientes (PRO, incluyendo el Formulario corto [SF, por sus siglas en inglés] 20a de PROMIS-Función física y el SF 8a de PROMIS-Fatiga) se mantienen hasta o a lo largo de 24, 36 o 48 meses de tratamiento.

En algunas realizaciones, los pacientes tratados con una composición farmacéutica de la presente solicitud consiguen mejoras superiores (por ejemplo, más clínicamente significativas) de la función motora (por ejemplo, medida mediante 6MWD, GSGC, caminata de 10 m, subida de 4 escalones, Gowers, ensayo de la silla, TUG), función pulmonar o respiratoria o PFT mejorados o estabilizados (por ejemplo, medidos mediante el % predicho de FVC (en sedestación y en decúbito supino), SVC, MIP, MEP y SNIP), niveles de biomarcadores (por ejemplo, CK sérica y Hex4 en orina), fuerza muscular estable o mejorada en todas las partes del cuerpo sometidas a ensayo (por ejemplo, medida mediante MMT (inferior, superior, global), QMT) y/o resultados informados por los pacientes (PRO, incluyendo el Formulario corto [SF] 20a de PROMIS-Función física y el SF 8a de PROMIS-Fatiga), que los pacientes tratados con un producto de rhGAA convencional (por ejemplo, MYOZYME®, LUMIZYME® o NEXVIAZYME®). En algunas realizaciones, los pacientes tratados con una composición farmacéutica de la presente solicitud muestran mejoras superiores (por ejemplo, más clínicamente significativas) en la función motora (por ejemplo, medida mediante 6MWD), la función pulmonar o respiratoria (por ejemplo, medida mediante FVC) y/o la fuerza muscular (por ejemplo, medida mediante MMT) que los pacientes tratados con un producto de rhGAA convencional (por ejemplo, MYOZYME®, LUMIZYME® o NEXVIAZYME®). En algunas realizaciones, dichas mejoras superiores se mantienen hasta o a lo largo de 12, 24, 36, 48 o >48 meses de tratamiento.

En algunas realizaciones, los pacientes de cambio con experiencia con ERT tratados con una composición farmacéutica de la presente solicitud, tales como aquellos pacientes que cambian de un producto de rhGAA convencional (por ej., MYOZYME®, LUMIZYME® o NEXVIAZYME®) a una composición farmacéutica de la presente solicitud, muestran mejoras superiores (por ejemplo, más clínicamente significativas) de la función motora (por ejemplo, medida mediante 6MWD, GSGC, caminata de 10 m, subida de 4 escalones, Gowers, ensayo de la silla, TUG), función pulmonar o respiratoria o PFT mejorados o estabilizados (por ejemplo, medidos mediante el % predicho de FVC (en sedestación y en decúbito supino), SVC, MIP, MEP y SNIP), niveles de biomarcadores (por ejemplo, CK sérica y Hex4 en orina), fuerza muscular estable o mejorada en todas las partes del cuerpo sometidas a ensayo (por ejemplo, medida mediante MMT (inferior, superior, global), QMT) y/o resultados informados por los pacientes (PRO, incluyendo el Formulario corto [SF] 20a de PROMIS-Función física y el SF 8a de PROMIS-Fatiga), en comparación con los pacientes que permanecen con el producto de rhGAA convencional. En algunas realizaciones, los pacientes con un producto de rhGAA convencional (por ejemplo, MYOZYME®, LUMIZYME® o NEXVIAZYME®), que ya no mejoran o empeoran con dicho tratamiento consiguen mejoras de la función motora (por ejemplo, medida mediante 6MWD, GSGC, caminata de 10 m, subida de 4 escalones, Gowers, ensayo de la silla, TUG), función pulmonar o respiratoria o PFT mejorados o estabilizados (por ejemplo, medidos mediante el % predicho de FVC (en sedestación y en decúbito supino), SVC, MIP, MEP y SNIP), niveles de biomarcadores (por ejemplo, CK sérica y Hex4 en orina), fuerza muscular estable o mejorada en todas las partes del cuerpo sometidas a ensayo (por ejemplo, medida mediante MMT (inferior, superior, global), QMT) y/o resultados informados por los pacientes (PRO, incluyendo el Formulario corto [SF, por sus siglas en inglés] 20a de PROMIS-Función física y el SF 8a de PROMIS-Fatiga), después de cambiar a una composición farmacéutica de la presente solicitud. En algunas realizaciones, dichas mejoras se mantienen hasta o a lo largo de 12, 24, 36, 48 o >48 meses.

B. Biomarcadores

Los biomarcadores de la acumulación de glucógeno en un sujeto, tales como el tetrasacárido de hexosa en orina (Hex4), pueden usarse para evaluar y comparar los efectos terapéuticos de la terapia de reemplazo enzimático en un sujeto con enfermedad de Pompe. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico de la rhGAA o una composición farmacéutica que comprende rhGAA sobre la acumulación de glucógeno se evalúa midiendo los niveles de Hex4 urinario en un sujeto.

Pueden usarse biomarcadores de lesión o daño muscular tales como la creatina cinasa (CK), la lactato deshidrogenasa (LDH), la alanina aminotransferasa (ALT) y la aspartato aminotransferasa (AST) para evaluar y comparar los efectos terapéuticos de la terapia de reemplazo enzimático en un sujeto con enfermedad de Pompe. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico de la rhGAA o una composición farmacéutica que comprende rhGAA sobre el daño muscular se evalúa midiendo los niveles de CK, LDH, ALT y/o AST en un sujeto. En al menos una realización, el efecto terapéutico de la rhGAA o una composición farmacéutica que comprende rhGAA sobre el daño muscular se evalúa midiendo los niveles de CK en un sujeto.

También pueden usarse biomarcadores tales como LAMP-1, LC3 y Disferlina para evaluar y comparar los efectos terapéuticos de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento. En la enfermedad de Pompe, la incapacidad de la GAA para hidrolizar el glucógeno lisosómico conduce a la acumulación anormal de grandes lisosomas llenos de glucógeno en algunos tejidos. (Raben et al., JBC 273: 19086-19092, 1998). Los estudios realizados en un modelo de ratón de la enfermedad de Pompe han demostrado que el aumento del tamaño de los lisosomas en el músculo esquelético no puede explicar adecuadamente la reducción del rendimiento mecánico y que la presencia de grandes inclusiones que contienen miofibrillas degradadas (es decir, acumulación autofágica) contribuye al deterioro de la función muscular. (Raben et al., Human Mol Genet 17: 3897-3908, 2008). Los informes también sugieren que el deterioro del flujo de autofagia se asocia a un mal resultado terapéutico en los pacientes con enfermedad de Pompe.

(Nascimbeni et al., *Neuropathology and Applied Neurobiology* doi: 10.1111/nan.12214, 2015; Fukuda et al., *Mol Ther* 14: 831-839, 2006). Además, la enfermedad de Pompe de inicio tardío es prevalente en distrofias musculares de cinturas no clasificadas (LGMD, por sus siglas en inglés) (Preisler et al., *Mol Genet Metab* 110: 287-289, 2013), que es un grupo de enfermedades neuromusculares genéticamente heterogéneas con más de 30 subtipos definidos genéticamente de gravedad variable. El examen por IHC reveló una presencia sarcoplásmica sustancialmente elevada de disferlina en las fibras musculares esqueléticas de ratones con inactivación de *Gaa*.

Pueden usarse diversos métodos conocidos para medir el nivel de expresión génica y/o nivel de proteína de dichos biomarcadores. Por ejemplo, puede obtenerse una muestra de un sujeto tratado con la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento, tal como una biopsia de tejidos, en particular, el músculo. En algunas realizaciones, la muestra es una biopsia de músculo de un sujeto. En algunas realizaciones, el músculo se selecciona de cuádriceps, tríceps y gastrocnemio. La muestra obtenida de un sujeto puede teñirse con uno o más anticuerpos u otros agentes de detección que detecten dichos biomarcadores o pueden identificarse y cuantificarse mediante espectrometría de masas. Las muestras pueden procesarse también o como alternativa para detectar la presencia de ácidos nucleicos, tales como ARNm, que codifican los biomarcadores a través de, por ejemplo, métodos de RT-qPCR.

En algunas realizaciones, el nivel de expresión génica y/o nivel de proteína de uno o más biomarcadores se mide en una biopsia muscular obtenida de un individuo antes y después del tratamiento con la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, el nivel de expresión génica y/o nivel de proteína de uno o más biomarcadores se mide en una biopsia muscular obtenida de un individuo tratado con un vehículo. En algunas realizaciones, el nivel de expresión génica y/o el nivel de proteína de uno o más biomarcadores se reduce en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de la

rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento, en comparación con la de un sujeto tratado con un vehículo o la de un sujeto antes del tratamiento. En algunas realizaciones, el nivel de expresión génica y/o nivel de proteína de uno o más biomarcadores se reduce en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % (o cualquier porcentaje intermedio) después de la administración de una o más dosis de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o la composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa), en comparación con los de un sujeto tratado con un vehículo o los de un sujeto antes del tratamiento. En determinadas realizaciones, la reducción se consigue después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias). En determinadas realizaciones, la rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) o la composición farmacéutica que comprende rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) reduce el nivel de expresión génica y/o nivel de proteína de uno o más biomarcadores después de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o más desde la administración (o cualquier período de tiempo entre medias).

C. Dosis de rhGAA

La formulación farmacéutica o composición reconstituida se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz (por ejemplo, una cantidad de dosificación que, cuando se administra a intervalos regulares, es suficiente para tratar la enfermedad, tal como mediante la mejora de los síntomas asociados a la enfermedad, el retraso de la aparición de la enfermedad, y/o la disminución de la gravedad o frecuencia de los síntomas de la enfermedad). La cantidad que es terapéuticamente eficaz en el tratamiento de la enfermedad puede depender de la naturaleza y la extensión de los efectos de la enfermedad, y puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. Además, pueden emplearse opcionalmente ensayos *in vitro* o *in vivo* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. En al menos una realización, una rhGAA descrita en el presente documento o composición farmacéutica que comprenda a rhGAA se administra a una dosis de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente

100 mg/kg, tal como de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, normalmente de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg. En al menos una realización, la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento se administra a una dosis de aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg, aproximadamente 60 mg/kg, aproximadamente 70 mg/kg, aproximadamente 80 mg/kg, aproximadamente 90 mg/kg o aproximadamente 100 mg/kg. En algunas realizaciones, la rhGAA se administra a una dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg o 100 mg/kg. En al menos una realización, la rhGAA o composición farmacéutica se administra a una dosis de aproximadamente 20 mg/kg. En algunas realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica se administra al mismo tiempo o secuencialmente con un estabilizador enzimático. En algunas realizaciones, el estabilizador enzimático es miglustat. En al menos una realización, el miglustat se administra como una dosis oral de aproximadamente 260 mg. En al menos una realización, el miglustat se administra como una dosis oral de aproximadamente 195 mg. La dosis eficaz para un individuo concreto puede variarse (por ejemplo, aumentarse o disminuirse) a lo largo del tiempo, dependiendo de las necesidades del individuo. Por ejemplo, en momentos de enfermedad o estrés físico, o si hay presentes anticuerpos anti- α -glucosidasa ácida o aumentan, o si empeoran los síntomas de la enfermedad, la cantidad de rhGAA y/o miglustat puede ajustarse.

En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento es inferior a la de los productos de rhGAA convencionales. Por ejemplo, si la dosis terapéuticamente eficaz de un producto de rhGAA convencional es de 20 mg/kg, la dosis de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento necesaria para producir los mismos o mejores efectos terapéuticos que el producto de rhGAA convencional puede ser inferior a 20 mg/kg. Los efectos terapéuticos pueden

evaluarse basándose en uno o más de los criterios analizados anteriormente (por ejemplo, el estado cardíaco, el nivel de glucógeno o la expresión de biomarcadores). En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento es al menos de

5 aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más inferior a la de los productos de rhGAA convencionales.

En algunas realizaciones, el efecto terapéutico de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento comprende una mejora y/o estabilización de la función motora, una mejora y/o estabilización de la fuerza

10 muscular (cuerpo superior, cuerpo inferior o cuerpo total), una mejora y/o estabilización de la función pulmonar, disminución de la fatiga, niveles reducidos de al menos un biomarcador de lesión muscular, niveles reducidos de al menos un biomarcador de acumulación de glucógeno o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico de la rhGAA o composición

15 farmacéutica descrita en el presente documento comprende una reversión de la patología lisosómica en una fibra muscular, una reducción más rápida y/o más eficaz del contenido de glucógeno en una fibra muscular, un aumento de la distancia del ensayo de caminata de seis minutos, una disminución del tiempo del ensayo *timed up and go*, una disminución en el tiempo del ensayo de subida de cuatro

20 escaleras, una disminución en el tiempo del ensayo de caminata de diez metros, una disminución en la puntuación de marcha-escalera-Gower-silla, un aumento en la fuerza de las extremidades superiores, una mejora y/o estabilización en la aducción del hombro, una mejora y/o estabilización en la abducción del hombro, una mejora y/o estabilización en la flexión del codo, una mejora y/o estabilización

25 en la extensión del codo, una mejora y/o estabilización en la fuerza de la cuerpo superior, una mejora y/o estabilización en la fuerza de la parte inferior del cuerpo, una mejora y/o estabilización en la fuerza total del cuerpo, una mejora en la capacidad vital forzada en posición vertical (sedestación), una mejora y/o estabilización en la presión espiratoria máxima, una mejora y/o estabilización en la

30 presión inspiratoria máxima, una disminución en la puntuación de la escala de

gravedad de la fatiga, una reducción en los niveles de hexosa tetrasacárido en orina, una reducción en los niveles de creatina cinasa, una reducción en los niveles de alanina aminotransferasa, una reducción en los niveles de aspartato aminotransferasa o cualquier combinación de los mismos.

5 En algunas realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documentos consigue los efectos terapéuticos deseados más rápidamente que los productos de rhGAA convencionales cuando se administran a la misma dosis. Los efectos terapéuticos pueden evaluarse basándose en uno o
10 más de los criterios analizados anteriormente (por ejemplo, el estado cardíaco, el nivel de glucógeno o la expresión de biomarcadores). Por ejemplo, si una dosis única de un producto de rhGAA convencional disminuye los niveles de glucógeno en el tejido de un individuo tratado en un 10 % en una semana, puede conseguirse el mismo grado de reducción en menos de una semana cuando se administra la misma dosis de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente
15 documento. En algunas realizaciones, cuando se administra a la misma dosis, la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento puede conseguir los efectos terapéuticos deseados al menos aproximadamente 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 3.0 o más veces más rápido que los productos de rhGAA convencionales.

 En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de rhGAA (o
20 composición o medicamento que comprende rhGAA) se administra más de una vez. En algunas realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documentos se administra a intervalos regulares, dependiendo de la naturaleza y el alcance de los efectos de la enfermedad, y de forma continuada. La administración en un "intervalo regular", como se usa en el presente documento,
25 indica que la cantidad terapéuticamente eficaz se administra periódicamente (a diferencia de una sola dosificación). El intervalo puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. En determinadas realizaciones, la rhGAA se administra bimensualmente, mensualmente, quincenalmente, semanalmente, dos veces por semana o a diario. En algunas realizaciones, la rhGAA se administra por
30 vía intravenosa dos veces por semana, semanalmente o cada dos semanas. No es

necesario que el intervalo de administración para un único individuo sea un intervalo fijo, sino que puede variarse a lo largo del tiempo, dependiendo de las necesidades del individuo. Por ejemplo, en momentos de enfermedad o estrés físico, si hay presentes anticuerpos anti-rhGAA o aumentan, o si empeoran los síntomas de la enfermedad, el intervalo entre las dosis puede reducirse.

En algunas realizaciones, cuando se usa a la misma dosis, la rhGAA o composición farmacéutica como se describe en el presente documento puede administrarse con menos frecuencia que los productos de rhGAA convencionales y, sin embargo, ser capaz de producir los mismos o mejores efectos terapéuticos que los productos de rhGAA convencionales. Por ejemplo, si un producto de rhGAA convencional se administra a 20 mg/kg semanalmente, la rhGAA o composición farmacéutica como se describe en el presente documento puede producir los mismos o mejores efectos terapéuticos que el producto de rhGAA convencional cuando se administra a 20 mg/kg, aunque la rhGAA o composición farmacéutica se administre con menos frecuencia, por ejemplo, quincenal o mensualmente. Los efectos terapéuticos pueden evaluarse basándose en uno o más de los criterios analizados anteriormente (por ejemplo, el estado cardíaco, el nivel de glucógeno o la expresión de biomarcadores). En algunas realizaciones, un intervalo entre dos dosis de la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento es más largo que el de los productos de rhGAA convencionales. En algunas realizaciones, el intervalo entre dos dosis de la rhGAA o composición farmacéutica es al menos de aproximadamente 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 3.0 o más veces más largo que el de los productos de rhGAA convencionales.

En algunas realizaciones, en las mismas condiciones de tratamiento (por ejemplo, la misma dosis administrada en el mismo intervalo), la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento proporcionan efectos terapéuticos en un grado superior al proporcionado por los productos de rhGAA convencionales. Los efectos terapéuticos pueden evaluarse basándose en uno o más de los criterios analizados anteriormente (por ejemplo, el estado cardíaco, el nivel de glucógeno o la expresión de biomarcadores). Por ejemplo, en comparación

con un producto de rhGAA convencional administrado a 20 mg/kg semanalmente, la rhGAA o composición farmacéutica administrados a 20 mg/kg semanalmente pueden reducir en mayor grado los niveles de glucógeno en el tejido de un individuo tratado. En algunas realizaciones, cuando se administra en las mismas condiciones de tratamiento, la rhGAA o composición farmacéutica descrita en el presente documento proporciona efectos terapéuticos que son al menos aproximadamente 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 3.0 o más veces mayores que los de los productos de rhGAA convencionales.

D. Terapia de dos componentes

En una o más realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica que comprende la rhGAA descrita en el presente describe se administra simultáneamente o secuencialmente con un estabilizador enzimático. En algunas realizaciones, la rhGAA o composición farmacéutica se administra por una vía diferente en comparación con la del estabilizador enzimático. Por ejemplo, un estabilizador enzimático puede administrarse por vía oral mientras que la rhGAA o composición farmacéutica se administran por vía intravenosa.

En diversas realizaciones, el estabilizador enzimático es miglustat. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que cuando se coadministra, el miglustat estabiliza la rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglicosidasa alfa) frente a la desnaturalización en la circulación sistémica, lo que potencia el suministro del componente activo rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglicosidasa alfa) a los lisosomas.

En algunas realizaciones, el miglustat se administra a una dosis oral de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 600 mg. En al menos una realización, el miglustat se administra a una dosis oral de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 600 mg, o a una dosis oral de aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 550 mg o aproximadamente 600 mg. En al menos una realización, el miglustat se administra a una dosis oral de aproximadamente 233 mg

a aproximadamente 500 mg. En al menos una realización, el miglustat se administra a una dosis oral de aproximadamente 250 a aproximadamente 270 mg, o a una dosis oral de aproximadamente 250 mg, aproximadamente 255 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 265 mg o aproximadamente 270 mg.

5 En al menos una realización, el miglustat se administra en forma de una dosis oral de aproximadamente 260 mg.

Los expertos en la materia entenderán que una dosis oral de miglustat en el intervalo de aproximadamente 200 mg a 600 mg o cualquier intervalo más pequeño entre medias puede ser adecuada para un paciente adulto dependiendo de su peso corporal. Por ejemplo, para los pacientes que tienen un peso corporal significativamente inferior a aproximadamente 70 kg, incluyendo, pero sin limitación, bebés, niños pequeños o adultos bajo peso, un médico puede considerar adecuada una dosis más pequeña. Por lo tanto, en al menos una realización, el miglustat se administra en forma de una dosis oral de aproximadamente 50 mg a

10 aproximadamente 200 mg, o en forma de una dosis oral de aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 195 mg, aproximadamente 200 mg o aproximadamente 260 mg. En al menos una realización, el miglustat se administra en forma de una

15 dosis oral de aproximadamente 65 mg a aproximadamente 195 mg, en forma de una dosis oral de aproximadamente 65 mg a aproximadamente 260 mg, en forma de una dosis oral de aproximadamente 195 mg a aproximadamente 260 mg, o en forma de una dosis oral de aproximadamente 65 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 195 mg o aproximadamente 260 mg.

25 En algunas realizaciones, la dosis de partida de rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) y miglustat puede basarse en peso (véase, por ejemplo, la **Tabla**). En algunas realizaciones, la dosis de miglustat puede ajustarse y el aumento o disminución de peso puede confirmarse en 2 visitas de infusión consecutivas antes de cambiar la dosis de miglustat.

Tabla 6: Pauta posológica de rhGAA y Miglustat de ejemplo

Grupo de edad	Grupo de peso (kg)	Dosis de partida para rhGAA (por ejemplo, ATB200 o cipaglucosidasa alfa) (mg/kg)	Dosis de miglustat (mg)
Adultos	de 40 a <50	20	195 ^a
	≥ 50	20	260 ^b

^a Dosis administrada en forma de tres cápsulas de 65 mg o en forma de una forma farmacéutica líquida oral de 195 mg

^b Dosis administrada en forma de cuatro cápsulas de 65 mg o en forma de una forma farmacéutica líquida oral de 260 mg

El miglustat presentó una farmacocinética lineal con un aumento del área plasmática bajo la curva de concentración-tiempo (ABC) y de la concentración máxima ($C_{\text{máx}}$) aproximadamente proporcional con el aumento de las dosis de 130 mg (0.5 veces la dosis recomendada de 260 mg en pacientes que pesan ≥ 50 kg) a 260 mg. A la dosis recomendada de 260 mg, la $C_{\text{máx}}$ media fue de aproximadamente 3 mcg/ml y el ABC media fue de aproximadamente 25 mcg*h/ml. El tiempo medio para alcanzar la concentración máxima varió de 2 horas a 3 horas.

Las concentraciones plasmáticas de miglustat aumentaron en pacientes con insuficiencia renal. En consecuencia, el aclaramiento aparente de miglustat disminuyó con la disminución de la función renal. Los datos disponibles estimaron que el $ABC_{0-24\text{ h}}$ de miglustat aumentó un 21 %, 26 % y 31 % en pacientes con insuficiencia renal leve (aclaramiento de creatinina basado en la ecuación de Cockcroft-Gault, CL_{Cr} 60-89 ml/minuto), moderada (CL_{Cr} 30-59 ml/minuto) y grave (CL_{Cr} 15-29 ml/minuto), respectivamente, en comparación con pacientes con función renal normal. En algunas realizaciones, la dosis de miglustat en pacientes con insuficiencia renal moderada o grave se reduce en comparación con los pacientes con función renal normal. En la Tabla 7 a continuación se proporcionan dosis de ejemplo para pacientes con insuficiencia renal moderada o grave:

Tabla 7: Dosis de Miglustat recomendada en pacientes con insuficiencia renal moderada o grave

	Insuficiencia renal moderada¹ (CLcr 30-59 ml/minuto)	Insuficiencia renal grave¹ (CLcr 15-30 ml/minuto)
5	Pacientes que pesan ≥ 50 kg	195 mg
10	Pacientes que pesan ≥ 40 kg a <50 kg	130 mg

¹ Función renal clasificada por el aclaramiento de creatinina basado en la ecuación de Cockcroft-Gault.

En algunas realizaciones, para los pacientes con insuficiencia renal leve (aclaramiento de creatinina basado en la ecuación de Cockcroft-Gault, CLcr 60-89 ml/minuto), la dosis de miglustat recomendada es la misma que para los pacientes con función renal normal.

En una o más realizaciones, la dosis de rhGAA no se ajusta para pacientes con insuficiencia renal.

Los datos farmacodinámicos/toxicológicos disponibles en animales han demostrado la excreción de la cipaglicosidasa alfa en la leche. Se desconoce si el miglustat se secreta en la leche materna. No puede descartarse un riesgo para los recién nacidos/lactantes. Deben tenerse en cuenta los beneficios para el desarrollo y la salud de la lactancia materna, así como la necesidad clínica de que la madre reciba un tratamiento de coadministración con cipaglicosidasa alfa y miglustat, y cualquier reacción adversa experimentada por el niño amamantado que pueda estar potencialmente relacionada con la coadministración de cipaglicosidasa alfa y miglustat o con la afección materna subyacente. En algunas realizaciones, la lactancia materna no está permitida mientras se toma cipaglicosidasa alfa y miglustat.

No existen datos clínicos sobre los efectos de la terapia de coadministración de cipaglucosidasa alfa y miglustat sobre la fertilidad. Los datos preclínicos no revelaron ninguna reacción adversa significativa con la cipaglucosidasa alfa.

5 No se observaron efectos sobre la concentración, motilidad o morfología del esperma en 7 hombres adultos sanos que recibieron 100 mg de miglustat por vía oral dos veces al día durante 6 semanas. Datos preclínicos en ratas han demostrado que el miglustat afecta negativamente a las características del esperma (motilidad y morfología), reduciendo de este modo la fertilidad.

10 En algunas realizaciones, la rhGAA se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg y el miglustat se administra por vía oral a una dosis de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 600 mg. En algunas realizaciones, la rhGAA se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg y el miglustat se administra por vía oral a una dosis de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 15 200 mg. En algunas realizaciones, la rhGAA se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg y el miglustat se administra por vía oral a una dosis de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 600 mg. En algunas realizaciones, la rhGAA se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg y el miglustat se administra por vía oral a una dosis de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 20 200 mg a aproximadamente 500 mg. En una realización, la rhGAA se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 20 mg/kg y el miglustat se administra por vía oral a una dosis de aproximadamente 260 mg. En algunas realizaciones, la rhGAA se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg y el miglustat se administra por vía oral a una dosis de aproximadamente 130 mg a aproximadamente 25 200 mg. En una realización, la rhGAA se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 20 mg/kg y el miglustat se administra por vía oral a una dosis de aproximadamente 195 mg.

El área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (ABC) y la concentración plasmática máxima (C_{máx}) de cipaglucoasidasa alfa después de la administración con 20 mg/kg de cipaglucoasidasa alfa en combinación con una dosis oral única de 260 mg de miglustat en pacientes adultos con LOPD se resumen en la Tabla 8 a continuación:

Tabla 8. Parámetros farmacocinéticos medios (% de CV) de Cipaglucoasidasa alfa en pacientes adultos con experiencia con ERT y con LOPD

	Cipaglucoasidasa Alfa 20 mg/kg en combinación con 260 mg de Miglustat	Cipaglucoasidasa Alfa 20 mg/kg sin Miglustat
C_{máx} (mcg/ml)	345 (18.5)	325 (13.5)
ABC_{0-inf} (mcg*h/ml)	1812 (20.8)	1410 (15.9)

En algunas realizaciones, el miglustat y la rhGAA se administran simultáneamente. Por ejemplo, el miglustat puede administrarse dentro de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 minuto antes o después de la administración de la rhGAA. En algunas realizaciones, el miglustat se administra dentro de 5, 4, 3, 2 o 1 minuto antes o después de la administración de la rhGAA.

En algunas realizaciones, el miglustat y la rhGAA se administran secuencialmente. En al menos una realización, el miglustat se administra antes de la administración de la rhGAA. En al menos una realización, el miglustat se administra menos de tres horas antes de la administración de la rhGAA. En al menos una realización, el miglustat se administra aproximadamente dos horas antes de la administración de la rhGAA. En al menos una realización, el miglustat se administra en un intervalo de 50 minutos a 90 minutos antes de la administración de la rhGAA. Por ejemplo, el miglustat puede administrarse aproximadamente 1.5 horas,

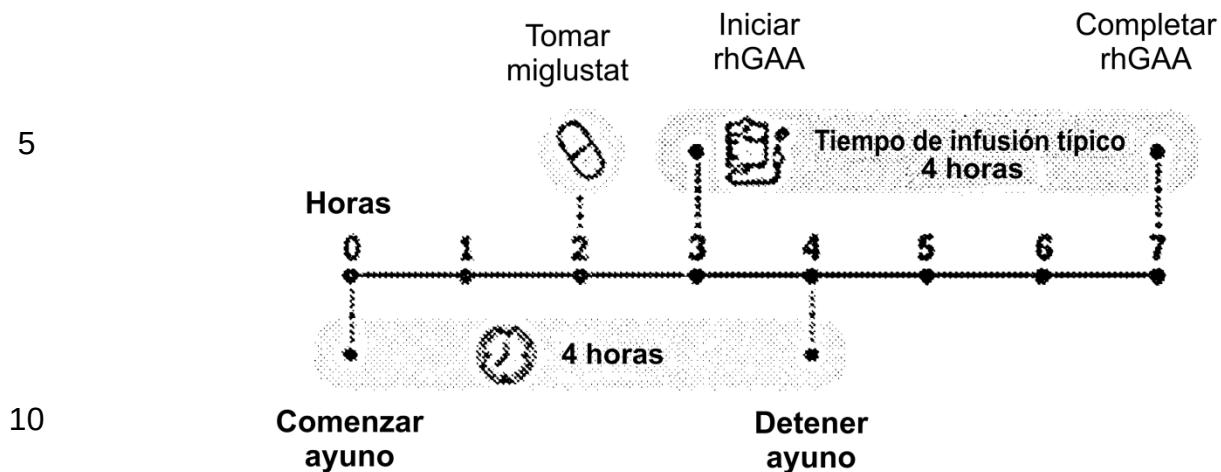
aproximadamente 1 hora, aproximadamente 50 minutos, aproximadamente 30 minutos o aproximadamente 20 minutos antes de la administración de la rhGAA. En al menos una realización, el miglustat se administra aproximadamente una hora antes de la administración de la rhGAA. En algunas realizaciones, el miglustat se administra por vía oral aproximadamente una hora antes de la administración de la rhGAA.

En algunas realizaciones, el miglustat se administra después de la administración de la rhGAA. En al menos una realización, el miglustat se administra en tres horas después de la administración de la rhGAA. En al menos una realización, el miglustat se administra en dos horas después de la administración de la rhGAA. Por ejemplo, el miglustat puede administrarse en aproximadamente 1.5 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 50 minutos, aproximadamente 30 minutos o aproximadamente 20 minutos después de la administración de la rhGAA.

En algunas realizaciones, el sujeto ayuna durante al menos dos horas antes de la administración de miglustat. En algunas realizaciones, el sujeto ayuna durante al menos dos horas después de la administración de miglustat. En algunas realizaciones, el sujeto ayuna al menos dos horas antes y dos horas después de la administración de miglustat.

En algunas realizaciones, el sujeto ayuna durante al menos dos horas antes y al menos dos horas después de la administración de miglustat, y el miglustat se administra aproximadamente una hora antes de la administración de la rhGAA. En algunas realizaciones, el ayuno, la administración de miglustat y la administración de rhGAA siguen el siguiente calendario de dosificación:

Calendario de dosificación



En algunas realizaciones, el tratamiento de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación mejora uno o más síntomas de la enfermedad en un sujeto con enfermedad de Pompe en comparación con (1) el valor basal, o (2) un tratamiento de control que comprende administrar α -glucosidasa alfa y un placebo para el estabilizador enzimático. En dicho tratamiento de control, se administró un placebo en lugar del estabilizador enzimático.

En el presente documento se proporciona un método para mejorar y/o estabilizar la función motora y/o la función pulmonar durante al menos 24 meses, al menos 36 meses o al menos 48 meses en un sujeto que tiene la enfermedad de Pompe, comprendiendo el método administrar al sujeto una población de moléculas de α -glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA), simultáneamente o secuencialmente con un estabilizador enzimático; en donde cada molécula de rhGAA comprende siete sitios de N-glicosilación potenciales; en donde el 40 %-60 % de los N-glicanos en las moléculas de rhGAA son N-glicanos de tipo complejo; en donde las moléculas de rhGAA comprenden al menos 0.5 mol de bis-manosa-6-fosfato (bis-M6P) por mol de rhGAA en el primer sitio de N-glicosilación potencial determinado usando cromatografía de líquidos y espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS); y en donde el método mejora y/o estabiliza la función motora y/o la función pulmonar en el sujeto en comparación con el valor basal.

En algunas realizaciones, el sujeto tratado mediante terapia de dos componentes es un paciente con experiencia con ERT. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT había sido tratado previamente con alglucosidasa alfa. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT había sido tratado previamente con alglucosidasa alfa durante de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 años. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT había sido tratado previamente con alglucosidasa alfa durante al menos aproximadamente 7 años. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT no es ambulatorio. En algunas realizaciones, el sujeto con experiencia con ERT es ambulatorio. En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto sin tratamiento previo con ERT.

En algunas realizaciones, el sujeto tratado mediante terapia de dos componentes es un paciente sin tratamiento previo con ERT.

En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación mejora y/o estabiliza la función motora del sujeto, medida mediante un ensayo de caminata de 6 minutos (6MWT). En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) del sujeto aumenta en al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 metros o al menos un 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 % o 10 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 12, 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, la 6MWD del sujeto aumenta en al menos 20 metros o al menos un 5 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, la 6MWD del sujeto aumenta en al menos 20 metros o al menos un 5 % después de 12, 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la 6MWD del sujeto mejora en al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 30, 40 o 50 metros después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la 6MWD del sujeto mejora en al menos 13 metros después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a

un sujeto con experiencia con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) es de al menos 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, o 35 metros a los 12, 18, 24, 30, 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD, por sus siglas en inglés) es de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, o 47 metros a los 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento.

En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) es de al menos 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, o 60 metros a los 12, 24, 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones de los métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función motora se mide mediante un ensayo de caminata de 6 minutos; y la mejora con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) es de al menos 34, 35, 40, 41, 42, 43, 44 o 45 metros a los 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una 6MWD basal inferior a 300 metros. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una 6MWD basal superior o igual a 300 metros.

En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación estabiliza la función pulmonar del sujeto, medida mediante un ensayo de capacidad vital forzada (FVC). En algunas realizaciones, después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento, el porcentaje predicho de FVC del sujeto aumenta en comparación con el valor basal, o disminuye en menos del 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, o 10% en comparación con el valor basal. En algunas realizaciones, después de 52 semanas de tratamiento, el porcentaje

predicho de FVC del sujeto disminuye menos del 1 % en comparación con el valor basal. En algunas realizaciones, el porcentaje predicho de FVC del sujeto aumenta en al menos un 1 %, al menos un 2 %, al menos un 3 % o al menos un 5 %, en comparación con el valor basal después de 12, 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el porcentaje predicho de FVC del sujeto mejora significativamente y/o se estabiliza después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el porcentaje predicho de FVC del sujeto mejora significativamente en al menos un 0.5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 % o 6 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el porcentaje predicho de FVC del sujeto mejora significativamente en al menos un 3 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el porcentaje predicho de FVC del sujeto mejora significativamente en al menos un 3 % o al menos un 5 % después de 12, 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, la función pulmonar se mide mediante un ensayo de capacidad vital forzada (FVC) en sedestación y el porcentaje predicho de FVC del sujeto es estable en comparación con el valor basal a los 24, 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función pulmonar se mide mediante un ensayo de capacidad vital forzada (FVC) en sedestación; y la mejora con respecto al valor basal en el porcentaje predicho de FVC del sujeto es de al menos el 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.5, 6.0, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, o 6.8% a los 24 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin tratamiento previo con ERT, la función pulmonar se mide mediante un ensayo de capacidad vital forzada (FVC) en sedestación; y la mejora con respecto al valor basal en el porcentaje predicho de FVC del sujeto es de al menos el 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1 o 6.2 % a los 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una FVC

basal inferior al 55 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una FVC basal superior o igual al 55 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una FVC basal inferior al 50 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una FVC basal superior o igual al 50 %.

- 5 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación mejora y/o estabiliza la fuerza muscular del sujeto, medida mediante un ensayo muscular manual (MMT). En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, la puntuación de extremidades inferiores de MMT del sujeto mejora, como indica un aumento de al menos 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.0,
- 10 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 puntos después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 12, 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la puntuación de extremidades inferiores de MMT del sujeto mejora significativamente y/o se estabiliza después del
- 15 tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con experiencia con ERT, la fuerza muscular se mide mediante MMT; y la mejora con respecto al valor basal en una puntuación de extremidades inferiores de MMT es de al menos 1.9, 2, 2.1, 2.2 o 2.3 puntos a los 24 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto con
- 20 experiencia con ERT, la fuerza muscular se mide mediante un MMT; y la mejora con respecto al valor basal en una puntuación de extremidades inferiores de MMT es de al menos 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 o 1.9 puntos a los 36 o 48 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin
- 25 tratamiento previo con ERT, la fuerza muscular se mide mediante un MMT; y la mejora con respecto al valor basal en una puntuación de extremidades inferiores de MMT es de al menos 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 o 1.5 puntos a los 24 meses después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones de métodos para tratar a un sujeto sin
- 30 tratamiento previo con ERT, la fuerza muscular se mide mediante un MMT; y la mejora con respecto al valor basal en una puntuación de extremidades inferiores de MMT es de al menos 2.8, 2.9, 3.0, 3.1, 3.2 o 3.3 puntos a los 36 o 48 meses después

del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una puntuación de extremidades inferiores de MMT basal inferior a 25. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una puntuación de extremidades inferiores de MMT basal superior o igual a 25.

5 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación mejora y/o estabiliza la función motora del sujeto, medida mediante un ensayo de marcha, escalera, Gower, silla (GSGC). En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, la puntuación de GSGC del sujeto mejora, como indica una disminución de al menos 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5 o 2.5
10 puntos después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, la puntuación de GSGC del sujeto mejora, como indica una disminución de al menos 0.5 puntos después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la puntuación de GSGC del sujeto mejora
15 significativamente después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la puntuación de GSGC del sujeto mejora significativamente, como indica una disminución de al menos 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5, 2.5 o 5 puntos después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el
20 tratamiento de control, la puntuación de GSGC del sujeto mejora significativamente, como indica una disminución de al menos 1.0 punto después de 52 semanas de tratamiento.

 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación mejora la función cardíaca del sujeto. En algunas
25 realizaciones, el tratamiento mejora la mejora de la función cardíaca del sujeto, medida mediante el índice de masa ventricular izquierda (LVMi, por sus siglas en inglés).

 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación reduce el nivel de al menos un marcador de daño muscular
30 después del tratamiento. En algunas realizaciones, el marcador de daño muscular

comprende uno o más de creatina cinasa (CK), alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). En algunas realizaciones, el al menos un marcador de daño muscular comprende CK. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de CK del sujeto se reduce en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 % o 50 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30 o 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de CK del sujeto se reduce en al menos un 20 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de CK del sujeto se reduce significativamente después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de CK del sujeto se reduce significativamente en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 % o 50 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30 o 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de CK del sujeto se reduce significativamente en al menos un 30 % después de 52 semanas de tratamiento.

En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación reduce el nivel de al menos un marcador de acumulación de glucógeno después del tratamiento. En algunas realizaciones, el al menos un marcador de acumulación de glucógeno comprende tetrasacárido de hexosa en orina (Hex4). En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o 60 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30 o 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce en al menos un 30 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce significativamente después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce significativamente en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o 60 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30 o 36 meses de tratamiento.

50 % o 60 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30 o 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce significativamente en al menos un 40 % después de 52 semanas de tratamiento.

5 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación mejora y/o estabiliza uno o más síntomas de la enfermedad en un sujeto paciente con experiencia con ERT con enfermedad de Pompe en comparación con (1) el valor basal, o (2) un tratamiento de control que comprende administrar alglucosidasa alfa y un placebo para el estabilizador enzimático.

10 En algunas realizaciones, el tratamiento de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación mejora la calidad de vida y/o la medición de los resultados informados por los pacientes, tal como mediante el Cuestionario Europeo de Calidad de Vida – Cinco Dimensiones Cinco Niveles (EQ 5D 5L/EQ-5D-Y) y/o el Sistema de Información de Medición de resultados informados por los pacientes (PROMIS-
15 Función Física, PROMIS Fatiga, PROMIS Disnea).

 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes de acuerdo con la presente divulgación reduce, retrasa y/o mantiene la necesidad de usar dispositivos para movilidad o soporte respiratorio, tal como mediante el control del inicio de/cambios en el uso de dispositivos de asistencia para movilidad y el tipo de
20 dispositivo y/o el control del inicio de/cambios en el uso de soporte respiratorio y el tipo de soporte.

 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes para un sujeto con experiencia con ERT con enfermedad de Pompe mejora y/o estabiliza la función motora del sujeto, medida mediante un 6MWT. En algunas realizaciones, en
25 comparación con el valor basal, la 6MWD del sujeto aumenta en al menos 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30 o 50 metros o al menos un 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 % o 10 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, la 6MWD del sujeto aumenta en al menos 15 metros o al menos un
30 5 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, la 6MWD

del sujeto aumenta en al menos 25 metros o al menos un 6 % después de 24 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, la 6MWD del sujeto aumenta en al menos 10 metros o al menos un 2 % después de 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, la 6MWD del sujeto aumenta en al menos 20 metros o al menos un 5 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la 6MWD del sujeto mejora significativamente después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la 6MWD del sujeto mejora significativamente en al menos 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 30, 40 o 50 metros después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la 6MWD del sujeto mejora significativamente en al menos 15 metros después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una 6MWD basal inferior a 300 metros. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una 6MWD basal superior o igual a 300 metros.

En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes para un sujeto con experiencia con ERT con enfermedad de Pompe mejora y/o estabiliza la función pulmonar del sujeto, medida mediante un ensayo de FVC. En algunas realizaciones, después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento, el porcentaje predicho de FVC del sujeto aumenta en al menos un 0.1 %, 0.2 %, 0.3 %, 0.4 %, 0.5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 % o 5 % en comparación con el valor basal. En algunas realizaciones, después de 52 semanas de tratamiento, el porcentaje predicho de FVC del sujeto aumenta en al menos un 0.1 % en comparación con el valor basal. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el porcentaje predicho de FVC del sujeto mejora significativamente y/o se estabiliza después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el porcentaje predicho de FVC del sujeto mejora significativamente en al menos un 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 8 % o 10 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el

tratamiento de control, el porcentaje predicho de FVC del sujeto mejora significativamente en al menos un 4 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una FVC basal inferior al 55 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una FVC basal superior o igual al 55 %.

5 En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes para un sujeto con experiencia con ERT con enfermedad de Pompe mejora y/o estabiliza la función motora del sujeto, medida mediante un ensayo de GSGC. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, la puntuación de GSGC del sujeto mejora, como indica una disminución de al menos 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5 o 2.5 puntos después
10 de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36, o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, la puntuación de GSGC del sujeto mejora, como indica una disminución de al menos 0.5 puntos después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la puntuación de GSGC del sujeto mejora
15 significativamente y/o se estabiliza después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, la puntuación de GSGC del sujeto mejora significativamente, como indica una disminución de al menos 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5, 2.5 o 5 puntos después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en
20 comparación con el tratamiento de control, la puntuación de GSGC del sujeto mejora significativamente, como indica una disminución de al menos 1.0 punto después de 52 semanas de tratamiento.

En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes para un sujeto con experiencia con ERT con enfermedad de Pompe reduce el nivel de al menos un
25 marcador de daño muscular después del tratamiento. En algunas realizaciones, el al menos un marcador de daño muscular comprende CK. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de CK del sujeto se reduce en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 % o 50 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas
30 realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de CK del sujeto se reduce

en al menos un 15 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de CK del sujeto se reduce en al menos un 25 % después de 24 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de CK del sujeto se reduce en al menos un 30 % después de 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de CK del sujeto se reduce en al menos un 35 % después de 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de CK del sujeto se reduce significativamente después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de CK del sujeto se reduce significativamente en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 % o 50 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30, 36 o 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de CK del sujeto se reduce significativamente en al menos un 30 % después de 52 semanas de tratamiento.

En algunas realizaciones, la terapia de dos componentes para un sujeto con experiencia con ERT con enfermedad de Pompe reduce el nivel de al menos un marcador de acumulación de glucógeno después del tratamiento. En algunas realizaciones, el al menos un marcador de acumulación de glucógeno comprende Hex4 urinario. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o 60 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30 o 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce en al menos un 25 % después de 52 semanas de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce en al menos un 35 % después de 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el valor basal, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce en al menos un 30 % después de 48 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se

reduce significativamente después del tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce significativamente en al menos un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 % o 60 % después de 12, 26, 38 o 52 semanas, o después de 18, 24, 30 o 36 meses de tratamiento. En algunas realizaciones, en comparación con el tratamiento de control, el nivel de Hex4 urinario del sujeto se reduce significativamente en al menos un 40 % después de 52 semanas de tratamiento.

E. Kits

Otro aspecto de la divulgación se refiere a kits adecuados para realizar la terapia con rhGAA descrita en el presente documento. En una o más realizaciones, el kit comprende un recipiente (por ejemplo, vial, tubo, bolsa, etc.) que comprende la rhGAA o composición farmacéutica (ya sea antes o después de la liofilización) e instrucciones para la reconstitución, dilución y administración. En una o más realizaciones, el kit comprende un recipiente (por ejemplo, vial, tubo, bolsa, etc.) que comprende un estabilizador enzimático (por ejemplo, miglustat) y una composición farmacéutica que comprende rhGAA (antes o después de la liofilización), e instrucciones para la reconstitución, dilución y administración de rhGAA con el estabilizador enzimático.

EJEMPLOS

La presente invención se ilustra adicionalmente con los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1: Preparación de células CHO que producen rhGAA que tiene un alto contenido de N-glicanos que llevan mono o bis-M6P.

Se transfectaron células DG44 CHO (DHFR-) con una construcción de ADN que expresa rhGAA. La construcción de ADN se muestra en la Fig. 4. Después de la transfección, se seleccionaron las células CHO que contenían un gen de GAA integrado de forma estable con medio deficiente en hipoxantina/timidina (-HT)). la expresión de GAA en estas células se indujo mediante tratamiento con metotrexato (MTX, 500 nM).

Los grupos de células que expresaban grandes cantidades de GAA se identificaron mediante ensayos de actividad de la enzima GAA y se utilizaron para establecer clones individuales productores de rhGAA. Se generaron clones individuales sobre placas de medio semisólido, se recogieron mediante el sistema ClonePix y se transfirieron a placas de 24 pocillos profundos. Los clones individuales se sometieron a ensayo para determinar la actividad de la enzima GAA para identificar los clones que expresaban un nivel elevado de GAA. El medio acondicionado para determinar la actividad GAA usó un sustrato 4-MU- α -Glucosidasa. Los clones productores de altos niveles de GAA medida por ensayos de la enzima GAA se evaluaron adicionalmente para determinar la viabilidad, capacidad de crecimiento, productividad de GAA, estructura de N-glicanos y expresión estable de la proteína. Las estirpes de células CHO, incluyendo la estirpe de células CHO GA-ATB200, que expresaban rhGAA con N-glicanos mono-M6P o bis-M6P potenciados, se aislaron usando este procedimiento.

Ejemplo 2: Purificación de rhGAA

Se produjeron múltiples lotes de la rhGAA de acuerdo con la divulgación en matraces agitados y en biorreactores de perfusión usando la estirpe celular CHO GA-ATB200, cuyo producto se denomina "ATB200". Se usó cromatografía de líquidos de intercambio aniónico débil ("WAX") para fraccionar la rhGAA ATB200 de acuerdo con el fosfato terminal y el ácido siálico. Se generaron perfiles de elución eluyendo el ERT con cantidad creciente de sal. Los perfiles se siguieron mediante UV (A280nm). Se observaron perfiles similares de unión al receptor CIMPR (al menos ~70 %) para la rhGAA ATB200 purificada de diferentes lotes de producción (Fig. 5), lo que indica que la rhGAA ATB200 puede producirse de forma consistente.

Ejemplo 3: Caracterización de oligosacáridos de rhGAA ATB200

También se analizó la rhGAA ATB200 para determinar los perfiles de N-glicanos específicos de sitio usando técnicas analíticas de LC-MS/MS diferentes. Los resultados de los dos primeros métodos de LC-MS/MS se muestran en las Fig. 6A-6H. Los resultados de un tercer método de LC-MS/MS con mapeo de glicanos 2-AA se muestran en las Fig. 19A-19H, Fig. 20A-20B, y la Tabla 9.

En el primer análisis por LC-MS/MS, la proteína se desnaturalizó, se redujo, se alquiló y se digirió antes del análisis por LC-MS/MS. Durante la desnaturalización y la reducción de la proteína, se añadieron 200 µg de muestra de proteína, 5 µl de tris-HCl 1 mol/l (concentración final, 50 mM), 75 µl de guanidina HCl 8 mol/l (concentración final 6 M), 1 µl de EDTA 0.5 mol/l (concentración final 5 mM), 2 µl de DTT 1 mol/l (concentración final 20 mM) y agua Milli-Q® a un tubo de 1.5 ml para proporcionar un volumen total de 100 µl. La muestra se mezcló y se incubó a 56°C durante 30 minutos en un baño seco. Durante la alquilación, la muestra de proteína desnaturalizada y reducida se mezcló con 5 µl de yodoacetamida 1 mol/l (IAM, concentración final 50 mM), después se incubó a 10-30 °C en la oscuridad durante 30 minutos. Tras la alquilación, se añadieron 400 µl de acetona previamente enfriada a la muestra, y la mezcla se congeló a -80°C durante 4 horas. La muestra se centrifugó después durante 5 minutos a 13000 rpm a 4 °C y se eliminó el sobrenadante. Se añadieron 400 µl de acetona preenfriada a los gránulos, que después se centrifugaron durante 5 minutos a 13000 rpm a 4 °C y el sobrenadante se eliminó. A continuación, la muestra se secó al aire sobre hielo en la oscuridad para eliminar el residuo de acetona. Se añadieron cuarenta microlitros de urea 8 M y 160 µl de NH₄HCO₃ 100 mM a la muestra para disolver la proteína. Durante la digestión con tripsina, después se añadieron 50 µg de la proteína a tampón de digestión con tripsina hasta un volumen final de 100 µl, y se añadieron 5 µl de tripsina 0.5 mg/ml (relación de proteína a enzima de 20/1 p/p). La solución se mezcló bien y se incubó durante la noche (16 ± 2 horas) a 37 °C. Se añadieron dos microlitros y medio de TFA al 20 % (concentración final 0.5 %) para inactivar la reacción. La muestra se analizó a continuación usando un espectrómetro de masas Thermo Scientific™ Orbitrap Velos Pro™.

En el segundo análisis por LC-MS/MS, la muestra de ATB200 se preparó de acuerdo con un procedimiento similar de desnaturalización, reducción, alquilación y digestión, excepto por que se usó ácido yodoacético (IAA) como reactivo de alquilación en lugar de IAM, y después se analizó usando el espectrómetro de masas Thermo Scientific™ Orbitrap Fusion™ Lumos Tribid™.

En las Figuras 6A-6H se muestran los resultados del primer y el segundo análisis. En las Fig. 6A-6H, los resultados del primer análisis se representan mediante la barra de la izquierda (gris oscuro) y los resultados del segundo análisis se representan mediante la barra de la derecha (gris claro). La nomenclatura de
5 símbolos para la representación del glicano está de acuerdo con Varki, A., Cummings, R.D., Esko J.D., et al., *Essentials of Glycobiology*, 2ª edición (2009).

Como puede observarse a partir de las Fig. 6A-6H, los dos análisis proporcionaron resultados similares, aunque se produjo cierta variación entre los resultados. Esta variación se puede deber a numerosos factores, incluyendo el
10 instrumento utilizado y la completitud del análisis de N-glicanos. Por ejemplo, si algunas especies de N-glicanos fosforilados no se identifican y/o no se cuantifican, entonces, el número total de N-glicanos fosforilados puede estar infrarrepresentado, y el porcentaje de rhGAA que lleva los N-glicanos fosforilados en dicho sitio puede estar infrarrepresentado. Como ejemplo adicional, si algunas especies de N-
15 glicanos no fosforilados no se identifican y/o no se cuantifican, entonces, el número total de N-glicanos no fosforilados puede estar infrarrepresentado, y el porcentaje de rhGAA que lleva los N-glicanos fosforilados en dicho sitio puede estar sobrerrepresentado.

La Fig. 6A muestra la ocupación del sitio de N-glicosilación de ATB200. Como
20 se puede observar a partir de la Fig. 6A, el primer, segundo, tercero, cuarto, quinto y sexto sitios de N-glicosilación están principalmente ocupados, donde ambos análisis detectan aproximadamente y más del 90 % y hasta aproximadamente el 100 % de la enzima ATB200 que tiene un N-glicano detectado en cada sitio de N-glicosilación potencial. Sin embargo, el séptimo sitio de N-glicosilación potencial
25 está N-glicosilado aproximadamente la mitad del tiempo.

La Fig. 6B muestra el perfil de N-glicosilación del primer sitio de N-glicosilación potencial, N84. Como puede observarse a partir de la Fig. 6B, la principal especie de N-glicano es N-glicanos bis-M6P. Tanto el primer análisis como el segundo detectaron más del 75 % de la ATB200 que tiene bis-M6P en el primer
30

sitio, lo que corresponde a un promedio de aproximadamente 0.8 mol de bis-M6P por mol de ATB200 en el primer sitio.

La Fig. 6C muestra el perfil de N-glicosilación del segundo sitio de N-glicosilación potencial, N177. Como puede observarse a partir de la Fig. 6C, las especies principales de N-glicanos son los N-glicanos mono-M6P y los N-glicanos con alto contenido de manosa no fosforilados. Tanto el primer análisis como el segundo detectaron más del 40 % de la ATB200 que tiene mono-M6P en el segundo sitio, lo que corresponde a un promedio de aproximadamente 0.4 a aproximadamente 0.6 mol de mono-M6P por mol de ATB200 en el segundo sitio.

La Fig. 6D muestra el perfil de N-glicosilación del tercer sitio de N-glicosilación potencial, N334. Como puede observarse a partir de la Fig. 6D, las especies principales de N-glicanos son los N-glicanos con alto contenido de manosa no fosforilados, los N-glicanos complejos di, tri y tetra antenarios y los N-glicanos híbridos. Tanto el primer análisis como el segundo detectaron más del 20 % de la ATB200 que tiene un resto de ácido siálico en el tercer sitio, lo que corresponde a un promedio de aproximadamente 0.9 a aproximadamente 1.2 mol de ácido siálico por mol de ATB200 en el tercer sitio.

La Fig. 6E muestra el perfil de N-glicosilación del cuarto sitio de N-glicosilación potencial, N414. Como puede observarse a partir de la Fig. 6E, las principales especies de N-glicanos son los N-glicanos bis-M6P y mono-M6P. Tanto el primer análisis como el segundo detectaron más del 40 % de la ATB200 que tiene bis-M6P en el cuarto sitio, lo que corresponde a un promedio de aproximadamente 0.4 a aproximadamente 0.6 mol de bis-M6P por mol de ATB200 en el cuarto sitio. Tanto el primer análisis como el segundo también detectaron más del 25 % de la ATB200 que tiene mono-M6P en el cuarto sitio, lo que corresponde a un promedio de aproximadamente 0.3 a aproximadamente 0.4 mol de mono-M6P por mol de ATB200 en el cuarto sitio.

La Fig. 6F muestra el perfil de N-glicosilación del quinto sitio de N-glicosilación potencial, N596. Como puede observarse a partir de la Fig. 6F, las principales especies de N-glicanos son los N-glicanos complejos diantenario

fucosilados. Tanto el primer análisis como el segundo detectaron más del 70 % de la ATB200 que tiene un resto de ácido siálico en el quinto sitio, lo que corresponde a un promedio de aproximadamente 0.8 a aproximadamente 0.9 mol de ácido siálico por mol de ATB200 en el quinto sitio.

5 La Fig. 6G muestra el perfil de N-glicosilación del sexto sitio de N-glicosilación potencial, N826. Como puede observarse a partir de la Fig. 6G, las principales especies de N-glicanos son los N-glicanos complejos di, tri, y tetra antenarios. Tanto el primer análisis como el segundo detectaron más del 80 % de la ATB200 que tiene un resto de ácido siálico en el sexto sitio, lo que corresponde a un promedio de
10 aproximadamente 1.5 a aproximadamente 1.8 mol de ácido siálico por mol de ATB200 en el sexto sitio.

Un análisis de la N-glicosilación en el séptimo sitio, N869, mostró aproximadamente un 40 % de N-glicosilación, siendo los N-glicanos más comunes A4S3S3GF (12 %), A5S3G2F (10 %), A4S2G2F (8 %) y A6S3G3F (8 %).

15 La Fig. 6H muestra un resumen de la fosforilación en cada uno de los siete sitios de N-glucosilación potenciales. Como puede observarse a partir de la Fig. 6H, tanto el primer como el segundo análisis detectaron niveles altos de fosforilación en el primero, segundo y cuarto sitios de N-glicosilación potenciales. Ambos análisis detectaron que más del 80 % de la ATB200 estaba mono o bisfosforilada en el
20 primer sitio, más del 40 % de la ATB200 estaba monofosforilada en el segundo sitio, y más del 80 % de la ATB200 estaba mono o bisfosforilada en el cuarto sitio.

Se realizó otro análisis de N-glicosilación de ATB200 de acuerdo con un método de LC-MS/MS como se describe a continuación. Este análisis dio como resultado un perfil de N-glicosilación promedio en diez lotes de ATB200 (Fig. 19A-
25 19H, Fig. 20A-20B).

Los glicanos unidos a N de ATB200 se liberaron enzimáticamente con PNGasa-F y se marcaron con ácido 2-antranílico (2-AA). Los N-glicanos marcados con 2-AA se procesaron adicionalmente mediante extracción en fase sólida (SPE) para eliminar el exceso de sales y otros contaminantes. Los N-glicanos 2-AA
30 purificados se disolvieron en acetonitrilo/agua (20/80; v/v) y se cargaron 10

microgramos en una columna analítica de aminopolímeros (apHera™, Supelco) para cromatografía de líquidos de alta resolución con detección de fluorescencia (HPLC-FLD) y análisis por espectrometría de masas de alta resolución (HRMS).

La separación por cromatografía de líquidos (LC) se realizó en condiciones de fase normal en un modo de elución en gradiente con fase móvil A (ácido acético al 2 % en acetonitrilo) y fase móvil B (ácido acético al 5 %; acetato de amonio 20 milimolar en agua ajustada a pH 4.3 con hidróxido de amonio). La composición inicial de la fase móvil fue del 70 % de A/30 % de B. Para la detección de fluorescencia, los parámetros del detector (RF-20Axs, Shimadzu) fueron Excitación (Ex): 320 nm; Emisión (Em): 420 nm. El análisis por HRMS se realizó usando un espectrómetro de masas cuadrupolar de tiempo de vuelo (Sciex X500B QTOF) que funcionaba en modo de obtención de datos independiente (IDA). Los archivos de datos obtenidos se convirtieron en archivos mzML usando MSConvert de ProteoWizard, y después se usó el software GRITS Toolbox 1.2 Morning Blend (UGA) para la búsqueda en la base de datos de glicanos y la posterior anotación de los N-glicanos identificados. Los N-glicanos se identificaron usando tanto las masas monoisotópicas precursoras (m/z) como las m/z de los iones producto. Los iones producto experimentales y los patrones de fragmentación se confirmaron informáticamente usando la Aplicación GlycoWorkbench 2.

Para determinar la cuantificación relativa de los glicanos unidos a N del la ATB200, los datos obtenidos del experimento HPLC-FLD-QTOF MS/MS se procesaron de la siguiente manera. Se integraron todos los picos de N-glicanos en el cromatograma de FLD, y a cada pico se le asignó un porcentaje del área total de todos los picos en el cromatograma de FLD. La señal fluorescente, expresada como área del pico, es una medida cuantitativa de la cantidad de cada N-glicano en la muestra. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el mismo pico de FLD contenía múltiples especies de N-glicanos. Por lo tanto, también se requirieron los datos del espectrómetro de masas para obtener la cuantificación relativa de cada especie de N-glicano (Tabla 9). La señal de intensidad iónica de cada N-glicano se "extrajo" de los datos para crear un pico cromatográfico denominado cromatograma de iones

extraídos (XIC). El XIC se alineó con el pico cromatográfico de FLD y fue específico de una sola especie de N-glicano. Después, el pico de XIC creado a partir de la señal de intensidad iónica se integró y esta área de pico es una medida cuantitativa relativa de la cantidad de glicano presente. Tanto las áreas de los picos de FLD como las áreas de los picos de XIC del espectrómetro de masas se usaron para permitir la cuantificación relativa de todas las especies de glicanos unidos a N de ATB200 de las publicadas en el presente documento.

Los resultados este análisis por LC-MS/MS se proporcionan en la Tabla 9 a continuación. La nomenclatura de los símbolos para la representación de los glicanos es de acuerdo con Wopereis W, et al. 2006. Abnormal glycosylation with hypersialylated O-glycans in patients with Sialuria. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1762:598–607; Gornik O, et al. 2007. Changes of serum glycans during sepsis and acute pancreatitis. *Glycobiology*. 17:1321-1332; Kattla JJ, et al. 2011. Biologic protein glycosylation. En: Murray Moo-Young (ed.), *Comprehensive Biotechnology*, Segunda Edición, 3:467–486; Tharmalingam-Jaikaran T, et al. N-glycan profiling of bovine follicular fluid at key dominant follicle developmental stages. 2014. *Reproduction*. 148:569–580; Clerc F, et al. Human plasma protein N-glycosylation. 2015. *Glycoconj J*. DOI 10.1007/s10719-015-9626-2; y Blackler RJ, et al. 2016. El fragmento de anticuerpo monocatenario M6P-1 posee un bolsillo de unión específico para monosacáridos de manosa 6-fosfato que distingue la fosforilación de N-glicanos de forma específica de rama. *Glycobiology*. 26-2:181–192.

Tabla 9: Tipo y prevalencia de los oligosacáridos identificados en ATB200 basándose en el mapeado de glicanos 2-AA y la identificación de LC-MS/MS

	N-Glicanos con alto contenido de manosa	% Total	N-Glicanos complejos	% Total	N-Glicanos complejos	% Total	N-Glicanos complejos	% Total
5								
10	2P-M7	11.39	FA2G2S1	3.89	A3G3S1+1Ac	0.65	FA2G2S1+1Ac	0.29
	P-M7	7.97	FA2G2S2	3.42	A3G2S2+1Ac	0.64	A4G3	0.29
15	M6	6.89	A2G2S2	3.32	A1G1S1	0.63	A4G4+3KDN	0.29
	P-M6	3.42	FA2G2	2.77	A4G3S1	0.61	A4G4S3	0.28
	M5	2.06	FA4G4S3	2.26	FA3G3	0.61	FA5G4	0.24
	P-M5	1.67	A2G2S1	2.25	A1G1	0.6	A4G3S2	0.21
20	2P-M8	1.27	FA3G3S1	2.12	FA2G2S2+1Ac	0.57	FA1	0.21
	P-M8	1.17	A3G3S2	1.8	A3G2S1	0.57	FA4G4	0.21
	BP-M6	0.9	FA2G1	1.66	A3G2S1	0.56	A3G1	0.21
	M7	0.81	A2G2	1.46	A2G2S2+1Ac	0.5	FA4G3S2	0.21
25	BP-M7	0.69	FA3G3S1	1.42	FA3G2	0.45	FA3G2S2	0.21
	M4	0.14	A4G4S1	1.28	A3G3+3KDN	0.45	A1	0.2
	BP2-M5	0.04	FA3G3S2	1.25	A4G3S1	0.45	A4G2	0.19

5

10

15

20

25

30

BP2-M6	0.01	FA4G4(1LN) S3	1.1	A2G1S1	0.41	FA4G3	0.19
N- Glicanos híbridos	% Tot al	FA4G4S1	1.08	A3G2	0.4	FA3	0.18
FA1P-M6	2.16	A3G3	1.08	FA4G4S1+L N	0.4	A1G1S1	0.18
M5A1G1 S1	1.56	FA4G4S4	1.07	FA3G2S1	0.39	A4G1S1	0.16
FP- M6A1G1 S1	0.42	FA3G3S3	1.04	FA2	0.38	FA1G1	0.15
A1M5	0.36	FA4G4S2	0.94	FA4G4S2+L N	0.38	FA3G1	0.14
A1G1M5	0.32	A2G1	0.94	A3G2S2	0.37	FA5G4S2	0.12
P- M6A1G1 S1	0.17	FA2G1S1	0.94	A2	0.34	A3G1S1	0.11
Sumario	Tot al	A4G4	0.91	FA4G4(2LN) S3	0.33	A3	0.11
N- Glicanos con alto contenid o de manosa	38 %	FA1G1S1	0.91	FA2G2Sg1	0.32	FA3G3S3+1 Ac	0.1

5	N-Glicanos híbridos	5 %	FA2G2S2+2 Ac	0.76	FA4G4(1LN) S4	0.31	A2G2S1+1A c	0.09
	N-Glicanos complejos	57 %	A4G4S2	0.69	A3G3S3	0.29	FA3G1S1	0.06

Basándose en este análisis por 2-AA y LC-MS/MS, y como se resume más adelante, la ATB200 analizada tiene un contenido de M6P promedio de 3-5 mol por mol de ATB200 (teniendo en cuenta tanto el mono-M6P como el bis-M6P) y un contenido de ácido siálico de 4-7 mol por mol de ATB200.

Como se muestra en las Fig. 19A-19H y se resume en la Fig. 20B, el primer sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 tiene un contenido de M6P promedio de aproximadamente 1.4 mol de M6P/mol de ATB200, representando un contenido de mono-M6P promedio de aproximadamente 0.25 mol de mono-M6P/mol de ATB200 y un contenido de bis-M6P promedio de aproximadamente 0.56 mol de bis-M6P/mol de ATB200; el segundo sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 tiene un contenido de M6P promedio de aproximadamente 0.5 mol de M6P/mol de ATB200, siendo las principales especies de N-glicanos fosforilados los N-glicanos mono-M6P; el tercer sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 tiene un contenido de ácido siálico promedio de aproximadamente 1 mol de ácido siálico/mol de ATB200; el cuarto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 tiene un contenido de M6P promedio de aproximadamente 1.4 mol de M6P/mol de ATB200, lo que representa un contenido de mono-M6P promedio de aproximadamente 0.35 mol de mono-M6P/mol de ATB200 y un contenido de bis-M6P promedio de aproximadamente 0.52 mol de bis-M6P/mol de ATB200; el quinto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 tiene un contenido de ácido siálico promedio de aproximadamente 0.86 mol de ácido siálico/mol de ATB200; el sexto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 tiene un contenido de ácido siálico promedio de aproximadamente 4.2 mol de ácido siálico/mol de ATB200; y el séptimo sitio de N-

glicosilación potencial de ATB200 tiene un contenido de ácido siálico promedio de aproximadamente 0.86 mol de ácido siálico/mol de ATB200.

También de acuerdo con esta técnica analítica de 2-AA y LC-MS/MS, un promedio de aproximadamente el 65 % de los N-glicanos en el primer sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 son N-glicanos de alto contenido de manosa, aproximadamente el 89 % de los N-glicanos en el segundo sitio de N-glicosilación potencial del ATB200 son N-glicanos de alto contenido de manosa, más de la mitad de los N-glicanos en el tercer sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 están sialilados (con aproximadamente el 20 % totalmente sialilado) y aproximadamente el 85 % de los N-glicanos en el tercer sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 son N-glicanos complejos, aproximadamente el 84 % de los N-glicanos en el cuarto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 son N-glicanos de alto contenido de manosa, aproximadamente el 70 % de los N-glicanos en el quinto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 están sialilados (con aproximadamente el 26 % totalmente sialilado) y aproximadamente el 100 % de los N-glicanos en el quinto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 son N-glicanos complejos, aproximadamente el 85 % de los N-glicanos en el sexto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 están sialilados (con aproximadamente el 27 % totalmente sialilado) y aproximadamente el 98 % de los N-glicanos en el sexto sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 son N-glicanos complejos, y aproximadamente el 87 % de los N-glicanos en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 están sialilados (con aproximadamente el 8 % totalmente sialilado) y aproximadamente el 100 % de los N-glicanos en el séptimo sitio de N-glicosilación potencial de ATB200 son N-glicanos complejos.

Ejemplo 4: Comparación analítica de ATB200 y MYOZYME®/LUMIZYME®

Los N-glicanos purificados de ATB200 y LUMIZYME® se evaluaron mediante MALDI-TOF para determinar las estructuras individuales de N-glicanos encontradas en cada ERT. LUMIZYME® se obtuvo de una fuente comercial. Como se muestra en la Fig. 7, ATB200 presentó cuatro picos prominentes eluyendo a la derecha de

LUMIZYME®. Esto confirma que ATB200 se fosforiló en mayor medida que LUMIZYME® puesto que esta evaluación es por carga terminal y no por afinidad de CIMPR. Como se resume en la Fig. 8, se observó que las muestras de ATB200 contenían menores cantidades de N-glicanos de tipo alto contenido de manosa no fosforilados que LUMIZYME®.

Para evaluar la capacidad de las rhGAA convencionales en MYOZYME® y LUMIZYME® de interactuar con el CIMPR, se inyectaron las dos preparaciones de rhGAA convencionales en una columna de afinidad de CIMPR (que se une a rhGAA que tienen grupos M6P) y se recogió el flujo a través. El material unido se eluyó con un gradiente de M6 libre. Las fracciones se recogieron en placas de 96 pocillos y se analizó la actividad de GAA mediante el sustrato 4MU- α -glucosidasa. Las cantidades relativas de rhGAA no unida (flujo a través) y unida (eluida con M6P) se determinaron basándose en la actividad de GAA y se publicaron como fracción de la enzima total. Las Fig. 9A y 9B muestran el perfil de unión de rhGAA en MYOZYME® y LUMIZYME®: El 73 % de la rhGAA en MYOZYME® (Fig. 9B) y el 78 % de la rhGAA en LUMIZYME® (Fig. 9A) no se unieron al CIMPR. De hecho, sólo el 27 % de la rhGAA en MYOZYME® y el 22 % de la rhGAA en LUMIZYME® contenían M6P que puede ser productivo para dirigirlo al CIMPR en células musculares. Por el contrario, como se muestra en la Fig. 5, en las mismas condiciones, más del 70 % de la rhGAA en ATB200 se unió al CIMPR.

Además de tener un mayor porcentaje de rhGAA que se une al CIMPR, es importante comprender la calidad de dicha interacción. La unión a receptores de LUMIZYME® y ATB200 se determinó usando un ensayo de unión en placa de CIMPR. En resumen, se usaron placas revestidas con CIMPR para capturar GAA. Se aplicaron concentraciones variables de rhGAA al receptor inmovilizado, y la rhGAA no unida se eliminó por lavado. La cantidad de rhGAA remanente se determinó mediante la actividad de GAA. Como se muestra en la Fig. 10, ATB200 se unió a CIMPR significativamente mejor que LUMIZYME®.

En general, el mayor contenido de N-glicanos M6P en ATB200 que en LUMIZYME® indica que la mayor porción de moléculas de rhGAA en ATB200 puede

tener dirigirse a células musculares. Como se ha demostrado anteriormente, el elevado porcentaje de estructuras monofosforiladas y bisfosforiladas determinadas por MALDI concuerda con los perfiles de CIMPR que ilustran una unión significativamente mayor de ATB200 al receptor de CIMPR. El análisis de N-glicano mediante la espectrometría de masas MALDI-TOF confirmó que, en promedio, cada molécula de ATB200 contiene al menos una estructura de N-glicano bis-M6P natural. Este alto contenido en N-glicano bis-M6P en ATB200 se correlacionó directamente con la unión de alta afinidad a CIMPR en ensayos de unión en placa de receptor de M6P (K_D aproximadamente 2-4 nM).

La captación celular relativa de rhGAA de ATB200 y LUMIZYME® se compararon usando estirpes celulares de fibroblastos normales y de Pompe. Las comparaciones implicaban 5-100 nM de ATB200 de acuerdo con la divulgación con 10-500 nM de producto de rhGAA LUMIZYME® convencional. Tras 16 horas de incubación, la rhGAA externa se inactivó con base TRIS y las células se lavaron 3 veces con PBS antes de la recogida. La GAA internalizada se midió mediante hidrólisis de 4MU- α -Glucósido y se representó con respecto a la proteína celular total, y los resultados aparecen en las Fig. 11A-11C.

También se demostró que ATB200 se internaliza eficazmente en las células. Como se representa en las Fig. 11A-11B, ATB200 se internaliza tanto en células de fibroblastos normales como de Pompe y se internaliza en mayor grado que el producto de rhGAA convencional LUMIZYME®. ATB200 satura los receptores celulares a aproximadamente 20 nM, mientras que se necesita aproximadamente 250 nM de LUMIZYME® para saturar los receptores celulares. La constante de eficiencia de absorción ($K_{\text{absorción}}$) extrapolada de estos resultados es de 2-3 nM para ATB200 y 56 nM para LUMIZYME® como se muestra mediante la Fig. 11C. Estos resultados sugieren que ATB200 es un tratamiento bien dirigido para la enfermedad de Pompe.

Ejemplo 5: ATB200 y estabilizador enzimático

La estabilidad de ATB200 en tampones de pH ácido o neutro se evaluó en un ensayo de termoestabilidad usando SYPRO Orange, ya que la fluorescencia del

colorante aumenta cuando las proteínas se desnaturalizan. Como se muestra en la Fig. 12, la adición de miglustat estabilizó ATB200 a pH 7.4 de manera dependiente de la concentración, comparable a la estabilidad de ATB200 a pH 5.2, una condición que imita el entorno ácido del lisosoma. Como se resume en la Tabla 10, la adición de miglustat aumentó la temperatura de fusión (T_f) de ATB200 en casi 10 °C.

Tabla 10. Estabilidad de ATB200 con miglustat

Condiciones de ensayo	T_f (°C)
pH 7.4	56.2
pH 7.4 + miglustat 10 μ M	61.6
pH 7.4 + miglustat 30 μ M	62.9
pH 7.4 + miglustat 100 μ M	66.0
pH 5.2	67.3

Ejemplo 6: Coadministración de ATB200 y miglustat en ratones con inactivación de Gaa

Se evaluaron los efectos terapéuticos de ATB200 y miglustat y se compararon con los de Alglucosidasa alfa en ratones con inactivación de Gaa. Para el estudio, se usaron ratones macho con inactivación de Gaa (de 3 a 4 meses de edad) y ratones de tipo silvestre (TS) emparejados por edad. Se administró alglucosidasa alfa a través de una inyección intravenosa (IV) en embolada en la vena de la cola. En la pauta de coadministración, se administró miglustat por sonda por vía oral (VO) 30 minutos antes de la inyección IV de ATB200. El tratamiento se administró quincenalmente. Los ratones tratados se sacrificaron a los 14 días de la última administración y se recogieron diversos tejidos para su posterior análisis. La Tabla 11 resume el diseño del estudio:

Tabla 11. Coadministración del diseño del estudio

Genotipo	Tratamiento	Dosis de fármaco por administración (quincenalmente)	Número de administración
Inactivación de <i>Gaa</i>	Vehículo	N/A	6
Inactivación de <i>Gaa</i>	Alglucosidasa alfa	20 mg/kg	6
Inactivación de <i>Gaa</i>	ATB200/miglustat	20 mg/kg (ATB200) 10 mg/kg (miglustat)	6
TS (Sve 129)	Sin tratar	N/A	N/A

El contenido de glucógeno tisular en las muestras de tejidos se determinó mediante digestión con amiloglucosidasa, como se ha analizado anteriormente. Como se muestra en la Fig. 13, una combinación de ATB200 20 mg/kg y miglustat 10 mg/kg disminuyó significativamente el contenido de glucógeno en cuatro tejidos diferentes (cuádriceps, tríceps, gastrocnemio y corazón) en comparación con la misma dosis de alglucosidasa alfa.

También se analizaron muestras de tejido para detectar cambios en los biomarcadores siguiendo los métodos considerados en: Khanna R, et al. (2012), "The pharmacological chaperone AT2220 increases recombinant human acid α -glucosidase uptake and glycogen reduction in a mouse model of Pompe disease", Plos One 7(7): e40776; y Khanna, R et al. (2014), "The Pharmacological Chaperone AT2220 Increases the Specific Activity and Lysosomal Delivery of Mutant Acid α -Glucosidase, and Promotes Glycogen Reduction in a Transgenic Mouse Model of Pompe Disease", PLoS ONE 9(7): e102092. Como se muestra en la Fig. 14, se observó un profundo aumento y agrandamiento de las vesículas positivas para LAMP1 en las fibras musculares de los animales con inactivación de *Gaa* en comparación con los TS, indicativo de proliferación lisosómica. La coadministración de ATB200 / miglustat dio lugar a un mayor número de fibras con un nivel de LAMP1

normalizado, mientras que las vesículas positivas para LAMP1 restantes también redujeron su tamaño (recuadros).

Del mismo modo, los agregados de LC3-positivos intensos en las fibras musculares de ratones con inactivación de *Gaa* no tratados significan la presencia de zonas autofágicas y la acumulación de autofagia. Los agregados de LC3-positivos (rojo) se redujeron preferentemente en los ratones tratados con coadministración de ATB200 / miglustat en comparación con los ratones tratados con alglucosidasa alfa (Fig. 15A). Una observación similar se realizó cuando se evaluó la expresión de LC3 usando transferencia Western. Como se muestra en la Fig. 15B, la mayoría de los animales tratados con ATB200 / miglustat mostraron una disminución significativa de los niveles de LC3 II, la forma lipidada que se asocia a los autofagosomas, lo que sugiere una mejora del flujo de autofagia. En comparación, el efecto de la alglucosidasa alfa sobre la autofagia fue modesto.

También se evaluó la disferlina, una proteína implicada en la reparación de membranas y cuya deficiencia/tráfico erróneo se asocia a varias distrofias musculares. Como se muestra en la Fig. 16, la disferlina (marrón) estaba fuertemente acumulada en el sarcoplasma de los ratones con inactivación de *Gaa*. En comparación con la alglucosidasa alfa, ATB200 / miglustat fue capaz de restablecer la disferlina al sarcolema en un mayor número de fibras musculares.

Estos datos concuerdan con las mejoras a nivel celular demostrados en pacientes humanos con enfermedad de Pompe tratados con ATB200 y miglustat, (por ejemplo, los pacientes presentan niveles reducidos de biomarcadores de acumulación de glucógeno y lesión muscular), conduciendo no sólo a un tratamiento eficaz de la enfermedad de Pompe, sino también a una inversión de la progresión de la enfermedad. Los datos clínicos en pacientes humanos con enfermedad de Pompe se resumen en los Ejemplos 8 y 9, a continuación.

Ejemplo 7: Análisis de fibra única

Como se muestra en la Fig. 17, la mayoría de los ratones tratados con vehículo mostraron lisosomas groseramente agrandados (véase, por ejemplo, "B") y la presencia de acumulación autofágica masiva (véase, por ejemplo, "A"). Los

ratones tratados con MYOZYME® no mostraron ninguna diferencia significativa en comparación con los tratados con vehículo. Por el contrario, la mayoría de las fibras aisladas de ratones tratados con ATB200 mostraron una disminución drástica del tamaño de los lisosomas (véase, por ejemplo, "C"). Además, el área con acumulación autofágica también se redujo en diversos grados (véase, por ejemplo, "C"). Como resultado, una parte significativa de las fibras musculares analizadas (36-60 %) de los ratones tratados con ATB200 parecían normales o casi normales. La Tabla 12 a continuación resume el análisis de fibra única mostrado en la Fig. 17.

Tabla 12. Análisis de fibra única

Tratamiento	Animal analizado	Número total de fibras analizadas (n)	Agrandamiento de lisosomas	Fibras con acumulación de autofagia	Fibras de aspecto normal o casi normal
TS	2	65	-	-	100 %
Vehículo	2	65	+	>90%	<10%
Alglucosidasa alfa	4	150	+	>90%	<10%
ATB200	5	188	Disminución drástica del tamaño en la mayoría de las fibras	40-64%*	36-60%

* Se incluyeron fibras con un grado variable de reducción de la acumulación autofágica. En general, el grado de la acumulación fue menor en el grupo tratado con ATB200 en comparación con el grupo tratado con vehículo o con alglucosidasa alfa.

En un estudio separado mostrado en la Fig. 78, la administración de 12 inyecciones en embolada quincenalmente de ATB200 (20 mg/kg) a ratones con inactivación de Gaa mostró una mejora significativo del tamaño de las fibras musculares como se cuantificó a partir de secciones histológicas de los cuádriceps en comparación con ratones tratados con alglucosidasa alfa (20 mg/kg). Los ratones Gaa, al igual que los pacientes con enfermedad de Pompe, muestran una disminución del tamaño de las fibras musculares como consecuencia de la atrofia muscular. El diámetro medio mínimo de Feret significativamente mayor de los ratones tratados con ATB200 frente a los tratados con alglucosidasa alfa demuestra una clara diferencia funcional en la eficacia.

En general, los datos indican que ATB200, con su mayor contenido de M6P, tanto sola como estabilizada adicionalmente por el estabilizador enzimático miglustat al pH neutro de la sangre, es más eficaz en la orientación tisular y el tráfico lisosómico en comparación con la alglucosidasa alfa cuando se administra a ratones con inactivación de Gaa, lo que concuerda con la estabilización de la ATB200 por miglustat, como se representa en la Fig. 18. Como resultado, la administración de ATB200 y la coadministración de ATB200/miglustat fue más eficaz que la alglucosidasa alfa para corregir algunas de las patologías relevantes para la enfermedad, tales como la acumulación de glucógeno, la proliferación lisosómica y la formación de zonas autofágicas. Debido a estos efectos terapéuticos positivos, se ha demostrado que la coadministración de ATB200 y ATB200/miglustat mejora las posibilidades de recuperación de las fibras musculares desde el daño e incluso revertir el daño al eliminar el glucógeno que se había acumulado en la célula debido a la falta de actividad de GAA óptima. Al igual que en el Ejemplo 6, estos datos también concuerdan con las mejoras a nivel celular demostradas en pacientes humanos con enfermedad de Pompe que conducen tanto a un tratamiento eficaz de la enfermedad de Pompe como a la inversión de la progresión de la enfermedad después de la administración de ATB200 y miglustat. Los datos clínicos en pacientes humanos con enfermedad de Pompe se resumen en los Ejemplos 8 y 9, a continuación.

Ejemplo 8: El ensayo ATB200-02

Se realizó un estudio clínico de fase 1/2 (ATB200-02, NCT-02675465) abierto, de secuencia fija y dosis ascendente para evaluar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética, farmacodinámica y eficacia provisional de la infusión IV de ATB200 con miglustat en sujetos adultos con enfermedad de Pompe. Los datos se comunicaron en la Publicación internacional N.º WO 2020/163480, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia.

Ejemplo 9: El ensayo ATB200-03: un estudio de fase 3 en seres humanos de ATB200/miglustat en pacientes con enfermedad de Pompe

El ensayo ATB200-03 fue un estudio de fase 3, con doble ocultación, aleatorizado, multicéntrico e internacional de ATB200/miglustat en sujetos adultos con enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD) que habían recibido terapia de reemplazo enzimático con alglucosidasa alfa (es decir, con experiencia con ERT) o que nunca habían recibido ERT (es decir, sin tratamiento previo con ERT), en comparación con alglucosidasa alfa/placebo.

Diseño del estudio

Como se muestra en la Fig. 21, el ensayo consistió en un período de cribado de hasta 30 días, un período de tratamiento de 12 meses y un período de seguimiento de seguridad de 30 días. Los sujetos elegibles se asignaron aleatoriamente en una relación de 2:1 para recibir ATB200/miglustat o alglucosidasa alfa/placebo y se estratificaron por estado de ERT (con experiencia con ERT, sin tratamiento previo con ERT) y distancia caminada en 6 minutos basal (6MWD) (75 a < 150 metros, 150 a < 400 metros, ≥ 400 metros).

Las evaluaciones de eficacia (es decir, las evaluaciones funcionales) incluyeron la evaluación de la función ambulatoria (6MWT), ensayos de la función motora (ensayo de Marcha, Escaleras, Gower y Maniobra de Silla [GSGC] y ensayo *Timed Up and Go* [TUG]), ensayos de fuerza muscular (ensayos musculares manuales y ensayos musculares cuantitativos) y ensayos de la función pulmonar (FVC, SVC, MIP, MEP y SNIP). Se registraron los resultados informados por los pacientes (Escala de Actividad Específica de Pompe (R Pact) construida por Rasch,

Instrumento EuroQol 5 Dimensiones 5 Niveles (EQ-5D-5L), instrumentos del Sistema de Información de Medición de resultados informados por los Pacientes (PROMIS®) para función física, fatiga, disnea y extremidades superiores e Impresión Global del Cambio del Sujeto). También se realizó la Impresión Global de Cambio del Médico.

Las evaluaciones farmacodinámicas incluyeron la medición de biomarcadores de lesión muscular (creatina cinasa [CK]) y sustrato de la enfermedad (tetrasacárido de hexosa urinario [Hex4]). Se recogieron muestras de sangre dispersas para determinar los niveles de proteína GAA total y las concentraciones de miglustat en plasma para un análisis PK poblacional en sujetos con experiencia con ERT. Se realizaron muestreos sanguíneos seriados para la caracterización del perfil PK de la proteína GAA total y miglustat en sujetos sin tratamiento previo con ERT.

Las evaluaciones de seguridad incluyeron controlar los acontecimientos adversos (AA), incluyendo reacciones asociadas a la infusión (RAI), ensayos de laboratorio clínico (química, hematología y análisis de orina), constantes vitales, exámenes físicos incluyendo peso, electrocardiogramas (ECG) e inmunogenicidad. También se registraron los medicamentos simultáneos y las terapias no farmacológicas.

Selección de sujetos

Los sujetos que participaron en el estudio cumplían todos los criterios de inclusión siguientes y ninguno de los criterios de exclusión. En total, participaron 122 sujetos en el ensayo ATB200-03. Entre ellos, 85 sujetos (con experiencia con ERT: 65; sin tratamiento previo con ERT: 20) recibieron el tratamiento con ATB200/miglustat, y 37 sujetos (con experiencia con ERT: 30; sin tratamiento previo con ERT: 7) recibieron el tratamiento con alglucosidasa alfa/placebo. Como se muestra en la Fig. 22, los datos basales de 6MWD y FVC fueron representativos de la población y, en general, similares en los dos brazos de tratamiento.

Criterios de inclusión:

1. El sujeto firmó un consentimiento informado antes de que se realizara cualquier procedimiento relacionado con el estudio.

2. Los sujetos hombres y mujeres tenían ≥ 18 años y pesaban ≥ 40 kg en el momento del cribado.

5 3. Las mujeres en edad fértil y los hombres aceptaron usar métodos anticonceptivos médicamente aceptados durante el estudio y 90 días después de la última dosis del fármaco de estudio.

4. El sujeto tiene un diagnóstico de LOPD basado en la documentación de uno de los siguientes:

- 10 a. deficiencia de la enzima GAA
 b. genotipado de GAA

5. El sujeto se clasificó como uno de los siguientes con respecto al estado de ERT:

15 a. Con experiencia con ERT, se define como que han recibido ERT de referencia (alglucosidasa alfa) a la dosis y la pauta recomendadas (es decir, dosis de 20 mg/kg cada 2 semanas) durante ≥ 24 meses

- 20 • Específicamente para Australia, con experiencia con ERT, se define como que han recibido ERT de referencia (alglucosidasa alfa) a la dosis y la pauta recomendadas, a una dosis de 20 mg/kg basada en el peso corporal magro o ideal cada 2 semanas

 b. Sin tratamiento previo con ERT, se define como que nunca han recibido un tratamiento con ERT en investigación o disponible en el mercado.

25 6. El sujeto tenía una FVC en sedestación ≥ 30 % del valor predicho para adultos sanos (National Health and Nutrition Examination Survey III) en el momento del cribado.

30 7. El sujeto realizó dos 6MWT en el momento del cribado que fueron válidos, según determinó el evaluador clínico, y que cumplieron todos los criterios siguientes:

- a. ambos valores de cribado de 6MWD fueron ≥ 75 metros
- b. ambos valores de cribado de 6MWD fueron ≤ 90 % del valor predicho para adultos sanos
- c. el valor inferior de 6MWD estaba dentro del 20 % del valor superior de 6MWD

5

Criterios de exclusión:

1. El sujeto había recibido cualquier terapia en investigación o tratamiento farmacológico para la enfermedad de Pompe, distinto de la alglucosidasa alfa, en los 30 días o 5 semividas de la terapia o tratamiento, lo que fuera más largo, antes del Día 1 o se preveía que lo hiciera durante el estudio.
2. El sujeto había recibido terapia génica para la enfermedad de Pompe.
3. El sujeto estaba tomando cualquiera de los siguientes medicamentos prohibidos en los 30 días anteriores al Día 1:
 - miglitol
 - miglustat
 - acarbosa
 - voglibosa
4. El sujeto requirió el uso de soporte ventilatorio invasivo o no invasivo durante > 6 horas al día mientras estaba despierto.
5. El sujeto tenía una hipersensibilidad a cualquiera de los excipientes de ATB200, alglucosidasa alfa o miglustat.
6. El sujeto tenía una enfermedad o cualquier otra circunstancia atenuante que, en opinión del investigador o del monitor médico, suponía un riesgo indebido para la seguridad del sujeto o comprometía su capacidad para cumplir los requisitos del protocolo o repercutía negativamente en ellos. Esto incluía la depresión clínica (diagnosticada por un psiquiatra u otro profesional de la salud mental) con síntomas no controlados o mal controlados.
7. El sujeto, que si es mujer, estaba embarazada o en período de lactancia en el momento del cribado.

10

15

20

25

30

8. El sujeto, tanto hombre como mujer, estaba planificando concebir un hijo durante el estudio.

9. El sujeto se negó a someterse a ensayos genéticos.

Producto en investigación, dosis y modo de administración

5 Los sujetos se aleatorizaron con una relación de aleatorización de al menos 2:1 para recibir ATB200/miglustat o alglucosidasa alfa/placebo. La Tabla 13 a continuación resume el tratamiento de los sujetos inscritos.

Tabla 13. Asignación y pauta de tratamiento

Asignación de tratamiento	Tratamiento	Pauta
ATB200/miglustat	miglustat ^a	Sujetos $\geq$ 50 kg: 260 mg (4 $\times$ cápsulas orales de 65 mg) 1 hora antes de la infusión de ATB200 cada 2 semanas Sujetos de $\geq$ 40 kg a $<$ 50 kg: 195 mg (3 $\times$ cápsulas orales de 65 mg) 1 hora antes de la infusión de ATB200 cada 2 semanas
	ATB200	Infusión IV de 20 mg/kg durante 4 horas cada 2 semanas
Alglucosidasa alfa/placebo	Placebo	Sujetos $\geq$ 50 kg: Placebo (4 cápsulas orales) 1 hora antes de la infusión de alglucosidasa alfa cada 2 semanas Sujetos de $\geq$ 40 kg a $<$ 50 kg: Placebo (3 cápsulas orales) 1 hora antes de la infusión de alglucosidasa alfa cada 2 semanas

Asignación de tratamiento	Tratamiento	Pauta
	Alglucosidasa alfa	Infusión IV de 20 mg/kg durante 4 horas cada 2 semanas

5 Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): IV = intravenoso

^a Nota: Los sujetos debían ayunar al menos 2 horas antes y 2 horas después de la administración de miglustat o placebo.

Evaluación de datos y consideraciones estadísticas

10 El criterio de valoración de eficacia primario fue el cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en la 6MWD. Se sometió a ensayo la superioridad de ATB200/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo en el criterio de valoración primario, usando un modelo de efectos mixtos para medidas repetidas (MMRM) y un ensayo no paramétrico preespecificado en caso de violación de la normalidad.

15 Los criterios de valoración de eficacia secundarios en un orden jerárquico de importancia preespecificado fueron los siguientes. Estos criterios de valoración secundarios se analizaron usando un modelo de análisis de covarianza (ANCOVA) con traslado de la última observación (ITT LOCF).

20 • cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en la FVC en sedestación (% predicho)

• cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en la puntuación del ensayo muscular manual para las extremidades inferiores

• cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en la puntuación total para el PROMIS – función física

25 • cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en la puntuación total para el PROMIS – fatiga

• cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en la puntuación total de GSGC

Otros criterios de valoración de eficacia secundarios fueron los siguientes:

30

- cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en las siguientes variables relacionadas con la función motora:
 - tiempo para completar la caminata de 10 metros (es decir, evaluación de la marcha) del ensayo de GSGC
 - 5 – tiempo para completar la subida de 4 escalones del ensayo de GSGC
 - tiempo para completar la maniobra de Gower del ensayo de GSGC
 - tiempo para levantarse de una silla como parte del ensayo de GSGC
 - 10 – tiempo para completar el ensayo de TUG
 - cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en las siguientes variables relacionadas con la fuerza muscular:
 - puntuación del ensayo muscular manual para las extremidades superiores
 - 15 – puntuación total del ensayo muscular manual
 - valor cuantitativo del ensayo muscular (kg) para las extremidades superiores
 - valor cuantitativo del ensayo muscular (kg) para las extremidades inferiores
 - 20 – valor total del ensayo muscular cuantitativo (kg)
 - cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en las siguientes variables de las mediciones de los resultados informados por los pacientes:
 - 25 – puntuación total para el PROMIS - disnea
 - puntuación total para el PROMIS - extremidad superior
 - puntuación total de la escala R-PAct
 - estado de salud EQ-5D-5L

- valor real del estado funcional del sujeto (mejora, estable o declive) en relación con los efectos del fármaco de estudio en las siguientes áreas de la vida en la Semana 52, medido por la Impresión Global de Cambio del Sujeto

5

- bienestar físico global
- esfuerzo respiratorio
- fuerza muscular
- función muscular
- capacidad de movimiento
- actividades de la vida diaria

10

- nivel de energía
- nivel de dolor muscular

- valor real del estado funcional del sujeto (mejora, estable o declive) en la Semana 52, medido por la Impresión Global de Cambio del Médico

15

- cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en las siguientes mediciones de la función pulmonar, como se indica a continuación:

- FVC en sedestación (% predicho)
- MIP (cm de H₂O)
- PIM (% predicho)
- MEP (cm de H₂O)
- MEP (% predicho)
- SNIP (cm de H₂O)

20

Los criterios de valoración farmacodinámicos fueron los siguientes:

25

- cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en el nivel sérico de CK

- cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en el nivel de Hex4 urinario

30

Para los sujetos con experiencia con ERT, se recogieron los criterios de valoración farmacocinéticos de un análisis PK poblacional del nivel de proteína GAA total y de la concentración de miglustat. Se calcularon los parámetros PK para la

concentración plasmática total de proteína GAA y miglustat en los sujetos sin tratamiento previo con ERT.

El perfil de seguridad de ATB200/miglustat se caracterizó usando la incidencia de acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE), acontecimientos adversos graves (SAE) y acontecimientos adversos que provocaron la interrupción del fármaco de estudio, la frecuencia y gravedad de las IAR inmediatas y tardías, y cualquier anomalía observada en otras evaluaciones de seguridad. También se evaluó la repercusión de la inmunogenicidad contra ATB200 y alglucosidasa alfa sobre la seguridad y la eficacia.

Los métodos estadísticos incluyeron las siguientes consideraciones sobre la aleatorización de muestras, el cálculo de tamaño de muestra, los análisis de eficacia y los análisis de seguridad.

Aleatorización. Se identificaron los dos factores siguientes como variables de estratificación del diseño: 1. 6MWD basal (de 75 a < 150 metros, de 150 a < 400 metros, $\geq$ 400 metros); y 2. Estado de ERT (con experiencia con ERT, sin tratamiento previo con ERT). Estos dos factores formaban seis combinaciones factoriales (es decir, niveles, estratos). Se usó un procedimiento centralizado de aleatorización en bloques para equilibrar los factores de riesgo mencionados, 1) reducir el sesgo y aumentar la precisión de la inferencia estadística, y 2) permitir diversos análisis de subconjuntos planificados y no planificados. El esquema de aleatorización por bloques se realizó para cada uno de los 6 estratos. La relación de aleatorización es de 2:1 entre ATB200/miglustat y alglucosidasa alfa/placebo, fija.

Cálculo del tamaño de muestra. Se determinó que un ensayo t de 2 grupos con un nivel de significación bilateral de 0.05 y un esquema de aleatorización 2:1 (66 sujetos en el grupo de ATB200/miglustat y 33 sujetos en el grupo alglucosidasa alfa/placebo, para un tamaño de muestra total de 99 sujetos) tenía aproximadamente un 90 % de potencia para detectar un tamaño de efecto estandarizado de 0.7 entre los 2 grupos en un ensayo de superioridad. Este cálculo

se ha realizado usando Nquery 8©®. Suponiendo una tasa de abandono del 10 %, el tamaño de la muestra sería de aproximadamente 110 sujetos.

Análisis de eficacia. El criterio de valoración primario de eficacia (es decir, el cambio con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en 6MWD) se analizó usando un modelo paramétrico de análisis de covarianza (ANCOVA) para comparar entre el nuevo tratamiento y el control. Este modelo normalmente se ajustaría para la 6MWD basal (como una covariable continua) y los 2 factores utilizados para estratificar la aleatorización: Estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente con experiencia con ERT) y 6MWD basal (de 75 a < 150 metros, de 150 a < 400 metros, ≥ 400 metros). Sin embargo, la 6MWD basal no pudo utilizarse dos veces en el modelo (como variable continua y como variable categórica) debido a la alta correlación biserial puntual esperada entre ellas. Por lo tanto, la variable continua de 6MWD permaneció en el modelo, pero se eliminó la 6MWD categórica. Después, el modelo ANCOVA tenía términos para el tratamiento, la 6MWD basal (continua) y el estado de ERT (categórico).

Adicionalmente, se examinaron las potenciales interacciones tratamiento-covariable (es decir, tratamiento por estado de ERT y tratamiento por 6MWD basal continua). Si un término de interacción era estadísticamente significativo (por ejemplo, $p < 0.10$, bilateral), y había una interpretación biológica lógica, entonces el término de interacción podría añadirse potencialmente en el modelo ANCOVA final que se usaría para el análisis del criterio de valoración primario. Después, se analizaron los datos basándose en el modelo ANCOVA y se proporcionaron todas las estimaciones pertinentes (por ejemplo, las medias de MC para cada grupo de tratamiento, la diferencia de medias de MC, los intervalos de confianza (IC) del 95 % para la diferencia de medias de MC y el valor de p para la comparación entre los 2 grupos de tratamiento).

Para respaldar la interpretación del beneficio clínico, se definió una respuesta compuesta a nivel de sujeto basada en la totalidad de los datos de resultados de tratamiento. Los sujetos se clasificaron mediante una variable de respuesta ordinal

que consistía en una mejora significativa, una mejora moderada o una mejora minoritaria/nula basándose en los resultados del tratamiento.

Los criterios de valoración secundarios clave se analizaron de acuerdo con el orden jerárquico, usando el procedimiento de ensayos cerrados por etapas para controlar la tasa de error de tipo I. Los criterios de valoración secundarios clave y otros criterios de valoración secundarios se analizaron por separado con un método similar utilizado para el análisis de criterios de valoración primarios.

Análisis de seguridad. Los datos de seguridad se resumieron usando recuentos y porcentajes para los datos categóricos y estadísticas descriptivas (media, desviación estándar, mediana, mínimo, máximo) para los datos continuos.

Resultados de eficacia del ensayo ATB200-03

En la población global, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora en la 6MWD y una estabilización en el porcentaje predicho de FVC, con respecto al valor basal en la semana 52 (Fig. 23A) y a lo largo del tiempo (Fig. 23B). En comparación con alglucosidasa alfa/placebo, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora superior en la 6MWD en la población global en la semana 52 (Fig. 23A). Además, como se muestra en la Fig. 23A, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora clínicamente significativa en el porcentaje predicho de FVC en la población global en la semana 52, en comparación con alglucosidasa alfa/placebo.

En la población con experiencia con ERT, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora en la 6MWD y una estabilización en el porcentaje predicho de FVC, con respecto al valor basal en la semana 52 (Fig. 24). En comparación con alglucosidasa alfa/placebo, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró mejoras a lo largo del tiempo en la 6MWD y estabilización a lo largo del tiempo en el porcentaje predicho de FVC en la población con experiencia con ERT (Fig. 25). Además, como se muestra en la Fig. 24, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora clínicamente significativa tanto en la 6MWD como del porcentaje predicho de FVC en la población con

experiencia con ERT en la semana 52, en comparación con alglucosidasa alfa/placebo.

Como se muestra en las Fig. 26A y 26B, en la población más pequeña sin tratamiento previo con ERT (n=27), el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora en la 6MWD y una estabilización del porcentaje predicho de FVC, con respecto al valor basal en la semana 52 (Fig. 26A) y a lo largo del tiempo (Fig. 26B). La variabilidad entre los dos grupos de tratamiento fue mayor y no se observó ningún mejora clínicamente significativa en la 6MWD ni del porcentaje predicho de FVC (Fig. 26A).

Como se muestra en la Fig. 28, en la población global con experiencia con ERT, el menor MMT favoreció numéricamente el tratamiento con ATB200/miglustat, en comparación con alglucosidasa alfa/placebo.

El cambio medio (DE) en la puntuación de extremidades inferiores de MMT con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora numérica de 1.6 (3.78) en los sujetos tratados con la coadministración de cipaglucosidasa alfa y miglustat en comparación con 0.9 (2.58) en aquellos tratados con alglucosidasa alfa y placebo (p=0.191).

Como se muestra en la Fig. 29, en las poblaciones global y con experiencia con ERT, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora clínicamente significativa en GSGC en la semana 52, en comparación con alglucosidasa alfa/placebo.

El cambio medio en la puntuación de GSGC total con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora de -0.53 (2.5) en los sujetos tratados con la coadministración de cipaglucosidasa alfa y miglustat en comparación con 0.77 (1.8) en aquellos tratados con alglucosidasa alfa y placebo (p=0.009).

Como se muestra en la Fig. 30, en las poblaciones global y con experiencia con ERT, el PROMIS de función física favoreció numéricamente el tratamiento con ATB200/miglustat, en comparación con alglucosidasa alfa/placebo.

Como se muestra en la Fig. 31, en la población global y con experiencia con ERT, el PROMIS de fatiga mejoró de forma similar entre los dos grupos de tratamiento.

Resultados de biomarcadores del ensayo ATB200-03

En la población global y con experiencia con ERT, el tratamiento con ATB200/miglustat mostró una mejora de los biomarcadores del daño muscular (CK) y del sustrato de la enfermedad (Hex4) a lo largo del tiempo (Fig. 32 y 33). Además, como se muestra en las Fig. 32 y 33, en las poblaciones global y con experiencia con ERT, las reducciones en CK y Hex4 urinaria fueron significativamente mayores con el tratamiento con ATB200/miglustat en la semana 52, en comparación con alglucosidasa alfa/placebo.

En los pacientes con experiencia con ERT, la concentración de Glc4 urinaria media basal fue de 4.6 mmol/mol y 7.2 mmol/mol en el tratamiento con ATB200/miglustat y alglucosidasa alfa con placebo, respectivamente. En la Semana 52, la concentración de Glc4 urinaria media fue de 2.9 mmol/mol y 9.1 mmol/mol en el grupo de tratamiento con ATB200/miglustat y alglucosidasa alfa con placebo, respectivamente.

Como se resume en la Fig. 34, en las poblaciones global y con experiencia con ERT, los criterios de valoración de la función motora, la función pulmonar, la fuerza muscular, los resultados informados por los pacientes (PRO) y los biomarcadores favorecieron sistemáticamente al tratamiento con ATB200/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo. Además, de los 17 criterios de valoración de eficacia y biomarcadores evaluados, 16 favorecieron al tratamiento con ATB200/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo.

Resultados de seguridad del ensayo ATB200-03

Como se muestra en la Fig. 35, el perfil de seguridad global del grupo de tratamiento con ATB200/miglustat fue similar al del grupo de alglucosidasa alfa/placebo.

Las Fig. 36 – Fig. 40 describen aspectos adicionales del Ensayo ATB200-03.

Ejemplo 10: Resultados de los ensayos clínicos de fase 3 PROPEL

AT-GAA mostró mejoras clínicamente significativas tanto en medidas musculoesqueléticas como respiratorias en la enfermedad de Pompe de inicio tardío en comparación con el tratamiento de referencia en el estudio pivotal de fase 3 PROPEL. PROPEL también se denomina "ATB200-03", véase el Ejemplo 9.

Los pacientes que cambiaron a AT-GAA desde la ERT de referencia aprobada (alglucosidasa alfa) caminaron en promedio 17 metros más ($p=0.046$).

Los pacientes que cambiaron a AT-GAA también mostraron una mejora del porcentaje predicho de capacidad vital forzada (FVC), la medida más importante de la función respiratoria en la enfermedad de Pompe, en comparación con un declive en los pacientes tratados con alglucosidasa alfa (Dif. de FVC 4.1 %; $p=0.006$).

AT-GAA mostró una diferencia nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico y clínicamente significativa de superioridad en el primer criterio de valoración secundario clave de la FVC en comparación con los pacientes tratados con alglucosidasa alfa (Dif. de FVC 3.0 %; $p=0.023$).

En la población de estudio combinada de pacientes con cambio de ERT y sin tratamiento previo con ERT, AT-GAA superó a alglucosidasa alfa en 14 metros (21 m frente a 7 m) en el criterio de valoración primario y no fue estadísticamente significativa para la superioridad ($p=0.072$).

Las mejoras en los dos biomarcadores importantes de la enfermedad de Pompe (Hex-4 y CK) para la población de estudio combinada favorecieron significativamente a la AT-GAA en comparación con la alglucosidasa alfa ($p<0.001$).

PROPEL fue un estudio global aleatorizado, con doble ocultación, de 52 semanas de duración diseñado para evaluar la eficacia, seguridad y tolerabilidad de AT-GAA en comparación con el tratamiento de referencia actual, la alglucosidasa alfa, una terapia de reemplazo enzimático (ERT). En el estudio participaron 123 pacientes adultos con enfermedad de Pompe que aún tenían capacidad para caminar y respirar sin ventilación mecánica, y se realizó en 62 centros clínicos de 24 países de los 5 continentes. Fue el mayor estudio clínico controlado jamás realizado sobre un trastorno lisosómico.

Los pacientes incluidos en PROPEL se asignaron aleatoriamente 2:1, de manera que por cada dos pacientes asignados aleatoriamente para ser tratados con AT-GAA, uno fue asignado aleatoriamente para ser tratado con alglucosidasa alfa. De los pacientes con enfermedad de Pompe inscritos en PROPEL, el 77 % estaba en tratamiento con alglucosidasa alfa (n=95) inmediatamente antes de la inscripción y el 23 % nunca había sido tratado con ninguna ERT (n=28). 117 pacientes completaron el estudio PROPEL y los 117 se han inscrito voluntariamente en el estudio de extensión a largo plazo y ahora están siendo tratados únicamente con AT-GAA para su enfermedad de Pompe.

Análisis preespecificados de la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) y del porcentaje predicho de capacidad vital forzada (FVC) en la población de estudio combinada de cambio de ERT y sin tratamiento previo con ERT:

El criterio de valoración principal del estudio fue el cambio medio en la distancia caminada en 6 minutos en comparación con las mediciones basales a las 52 semanas en las poblaciones de estudio combinadas de pacientes con cambio de ERT y sin tratamiento previo con ERT. En esta población combinada, los pacientes que tomaron AT-GAA (n=85) caminaron en promedio 21 metros más a las 52 semanas en comparación con los 7 metros de aquellos tratados con alglucosidasa alfa (n=37) (Tabla 14). Se evaluó la superioridad de este criterio de valoración primario en la población combinada y, aunque numéricamente fue superior, no se alcanzó significación estadística para la superioridad en esta población combinada para el brazo de AT-GAA en comparación con el brazo de alglucosidasa alfa (p=0.072).

Según la jerarquía del plan de análisis estadístico, el primer criterio de valoración secundario clave del estudio fue el cambio medio en el porcentaje predicho de FVC a las 52 semanas en toda la población combinada. En esta población combinada, los pacientes que tomaban AT-GAA demostraron una diferencia nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico y clínicamente significativa para la superioridad sobre aquellos tratados con

alglucosidasa alfa. AT-GAA ralentizó significativamente la velocidad de declive respiratorio de los pacientes después de 52 semanas. Los pacientes tratados con AT-GAA mostraron un descenso absoluto del 0.9 % en el porcentaje predicho de FVC en comparación con un descenso absoluto del 4.0 % en el brazo de alglucosidasa alfa ($p=0.023$) (Tabla 15). El porcentaje predicho de FVC es la medida más importante de la función muscular respiratoria en la enfermedad de Pompe y fue la base de la aprobación de la alglucosidasa alfa.

Tabla 14. 6MWD (m) en la población de estudio global de cambio de ERT y sin tratamiento previo con ERT

Tratamiento	Referencia	CFBL en la semana 52	Diferencia	Valor de P
AT-GAA (n=85)	357.9 (111.8)	+20.8 (4.6)	+13.6 (8.3)	p=0.072
Alglucosidasa alfa (n=37)	351.0 (121.3)	+7.2 (6.6)		

Tabla 15. FVC (% predicho) en la población de estudio global con cambio de ERT y sin tratamiento previo con ERT

Tratamiento	Referencia	CFBL en la semana 52	Diferencia	Valor de P
AT-GAA (n=85)	70.7 (19.6)	-0.9 (0.7)	+3.0 (1.2)	p=0.023
Alglucosidasa alfa (n=37)	69.7 (21.5)	-4.0 (0.8)		

Análisis preespecificados de la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) y del porcentaje predicho de capacidad vital forzada (FVC) en la población de estudio de cambio de ERT (n=95):

Los pacientes de PROPEL switch entraron en el estudio habiendo sido tratados con alglucosidasa alfa durante un mínimo de dos años. Más de dos tercios (67 %+) de esos pacientes habían estado en tratamiento con ERT durante más de cinco años antes de entrar en el estudio PROPEL (media de 7.4 años).

Un análisis preespecificado de los pacientes que cambiaron desde alfa a alglucosidasa sobre la distancia caminada en 6 minutos mostró que después de 52 semanas desde el cambio, los pacientes tratados con AT-GAA (n=65) caminaron 16.9 metros más que su valor basal, en comparación con 0.0 metros para los pacientes que se aleatorizaron para permanecer con alfa a alglucosidasa (n=30) (p=0.046) (Tabla 16).

Un análisis preespecificado de los pacientes que cambiaron desde alfa a alglucosidasa sobre el porcentaje predicho de FVC mostró que los pacientes tratados con AT-GAA estabilizaron y mejoraron ligeramente su función respiratoria en esta importante medida, mientras que los pacientes que permanecieron con alfa a alglucosidasa siguieron experimentando un declive significativo de la función muscular respiratoria. Los pacientes con AT-GAA mostraron un aumento absoluto del 0.1 % en el porcentaje predicho de FVC, mientras que los pacientes con alglucosidasa alfa mostraron un descenso absoluto del 4.0 % a lo largo del año (p=0.006) (Tabla 17).

Tabla 16. 6MWD (m) en la población de estudio de cambio de ERT

Tratamiento	Referencia	CFBL en la semana 52	Diferencia	Valor de P
AT-GAA (n=65)	346.9 (110.2)	+16.9 (5.0)	+16.9 (8.8)	p=0.046
Alglucosidasa alfa (n=30)	334.6 (114.0)	0.0 (7.2)		

Tabla 17. FVC (% predicho) en la población de estudio de cambio de ERT

Tratamiento	Referencia	CFBL en la semana 52	Diferencia	Valor de P
AT-GAA (n=65)	67.9 (19.1)	+0.1 (0.7)	+4.1 (1.2)	p=0.006
Alglucosidasa alfa (n=30)	67.5 (21.0)	-4.0 (0.9)		

Análisis preespecificados de la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) y del porcentaje predicho de capacidad vital forzada (FVC) en la población sin tratamiento previo con ERT (n=28):

Un análisis preespecificado de los pacientes no tratados previamente con ninguna ERT sobre la distancia caminada en 6 minutos mostró que después de 52 semanas los pacientes tratados con AT-GAA (n=20) caminaban 33 metros más que su valor basal. Los pacientes tratados con alglucosidasa alfa (n=7) caminaron 38 metros más que su valor basal. La diferencia entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa (p=0.60) (Tabla 18).

Un análisis preespecificado de los pacientes nunca tratados previamente con ninguna ERT mostró descensos similares en el porcentaje predicho de capacidad vital forzada (FVC) a las 52 semanas de -4.1 % para los pacientes tratados con AT-GAA y de -3.6 % para los tratados con alglucosidasa alfa (Tabla 19). La diferencia entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa (p=0.57).

Tabla 18. 6MWD (m) en la población sin tratamiento previo con ERT

Tratamiento	Referencia	CFBL en la semana 52	Diferencia	Valor de P
AT-GAA (n=20)	393.6 (112.4)	+33.4 (10.9)	-4.9 (19.7)	p=0.60
Alglucosidasa alfa (n=7)	420.9 (135.7)	+38.3 (11.1)		

Tabla 19. FVC (% predicho) en la población sin tratamiento previo con ERT

Tratamiento	Referencia	CFBL en la semana 52	Diferencia	Valor de P
AT-GAA (n=20)	80.2 (18.7)	-4.1 (1.5)	-0.5 (2.7)	p=0.57
Alglucosidasa alfa (n=7)	79.1 (22.6)	-3.6 (1.8)		

Nota: Un paciente del brazo de alglucosidasa alfa se excluyó del análisis del estudio debido al uso de un esteroide anabólico similar en investigación que afectó a su rendimiento basal.

Análisis preespecificados de otros criterios de valoración de biomarcadores y secundarios clave en la población de estudio global de cambio de ERT y sin tratamiento previo con ERT:

Criterios de valoración secundarios clave musculoesqueléticos y otros:

5 **GSGC (Marcha, Escalera, Gowers, Silla):** GSGC es un criterio de valoración importante y comúnmente utilizado en la enfermedad de Pompe para medir la fuerza, la coordinación y la movilidad. Los pacientes tratados con AT-GAA demostraron mejoras estadísticamente significativas en las puntuaciones de esta importante evaluación, en comparación con un empeoramiento para los pacientes
10 tratados con alglucosidasa alfa en la población global ($p < 0.05$).

15 **MMT inferior (Ensayo muscular manual), PROMIS de Función física:** En ambas de estas medidas validadas de la fuerza muscular y los resultados informados por los pacientes, los pacientes tratados con AT-GAA mejoraron numéricamente más que los tratados con alglucosidasa alfa, aunque los resultados
no fueron estadísticamente significativos.

PROMIS de Fatiga: La fatiga medida con esta escala favoreció ligeramente a los pacientes tratados con AT-GAA frente a los tratados con alglucosidasa alfa.

Biomarcadores de los efectos del tratamiento sobre la enfermedad:

20 **Hex-4 en orina:** En el caso de la población de estudio combinada de pacientes con cambio de ERT y pacientes sin tratamiento previo con a ERT, los pacientes que recibieron AT-GAA mostraron mejoras sustanciales en este biomarcador, con una reducción media de Hex-4 del - 31.5 % después de 52 semanas en comparación con un aumento del +11.0 % (es decir, empeoramiento) en Hex-4 en los pacientes tratados con alglucosidasa alfa ($p = < 0.001$). Hex-4 en
25 orina es un biomarcador común en la enfermedad de Pompe y se usa como medida indirecta del grado de aclaramiento del glucógeno esquelético en pacientes con enfermedad de Pompe que reciben ERT. El glucógeno es el sustrato que se acumula en los lisosomas de los músculos de los pacientes con enfermedad de Pompe.

CK (Creatina cinasa): Después de 52 semanas, los pacientes tratados con AT-GAA también mostraron mejoras sustanciales en este biomarcador, con una reducción media del -22.4 % en la CK en comparación con un aumento (es decir, empeoramiento) del +15.6 % en los pacientes tratados con alglucosidasa alfa. (p<0.001). La CK es una enzima que se escapa de las células musculares dañadas y está elevada en los pacientes con enfermedad de Pompe.

La AT-GAA demostró un perfil de seguridad similar al de la alglucosidasa alfa. Dos pacientes que recibieron AT-GAA (2.4 %) interrumpieron el tratamiento debido a un acontecimiento adverso, en comparación con uno (2.6 %) para la alglucosidasa alfa no relacionado con el tratamiento. Se notificaron reacciones asociadas a la inyección (RAI) en el 25 % de los participantes con AT-GAA y en el 26 % de los pacientes con alglucosidasa alfa.

Análisis de subgrupos *a posteriori*:

Categorías de 6MWD y FVC basales: Población sin tratamiento previo con ERT (n=27): tres pacientes tenían una 6MWD basal de <300 m y tres tenían una FVC basal de <55 %; no se realizaron análisis de CFBL en estos subgrupos debido al reducido número de pacientes. 6MWD basal ≥300 m: tanto el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat (AT-GAA) (n=18) como el de alglucosidasa alfa/placebo (n=6) tuvieron mejoras similares a lo largo del tiempo (CFBL medio [EE] hasta la semana 52: +34.4 [12.1] m y +30.8 [9.6] m, respectivamente). FVC basal ≥55 %: tanto el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat (n=19) como el de alglucosidasa alfa/placebo (n=5) decayeron a lo largo del tiempo (media [EE] de FVC hasta la semana 52: -3.7 [1.5] % y -3.3 [2.6] %, respectivamente). Los resultados favorecieron de forma consistente a cipaglucosidasa alfa/miglustat en la población global y en la población con experiencia con ERT en pacientes con DM6 basal <300 m y ≥ 300 m, y FVC <55 % y ≥55 %, como se muestra en la Fig. 41.

En la población de estudio global, incluyendo los pacientes sin tratamiento previo con ERT y los pacientes con experiencia con ERT, cipaglucosidasa alfa/miglustat mostró tendencias positivas o mejoras clínicamente significativas de las funciones motoras y respiratorias en comparación con el tratamiento aprobado

con ERT, independientemente de las evaluaciones basales de 6MWD y % de FVC, y en los análisis de subgrupos preespecificados y *a posteriori*.

Cipaglicosidasa alfa/miglustat demostró un perfil de seguridad similar al de alglucosidasa alfa/placebo (Fig. 42).

5 **Acerca de AT-GAA**

AT-GAA es una terapia en investigación de dos componentes que consiste en cipaglicosidasa alfa (ATB200), una enzima alfa-glucosidasa ácida humana recombinante (rhGAA) única con estructuras de hidratos de carbono optimizadas, en particular glicanos de manosa-6 fosfato bisfosforilada (bis-M6P), para potenciar la captación en las células, administrada conjuntamente con miglustat (AT2221), un estabilizador de la cipaglicosidasa alfa. En estudios preclínicos, la AT-GAA se asoció a un aumento de los niveles de la forma lisosómica madura de GAA y una reducción de los niveles de glucógeno en el músculo, el alivio del defecto autofágico y mejoras en la fuerza muscular.

15 **Acerca de la enfermedad de Pompe**

La enfermedad de Pompe es un trastorno lisosómico hereditario provocado por la deficiencia de la enzima alfa-glucosidasa ácida (GAA). Los niveles reducidos o ausentes de GAA conducen a la acumulación de glucógeno en las células, lo que se cree que da como resultado las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Pompe. La enfermedad puede ser debilitante y se caracteriza por una grave debilidad muscular que empeora a lo largo del tiempo. La enfermedad de Pompe abarca desde una forma infantil rápidamente mortal con importantes repercusiones en la función cardíaca hasta una forma de inicio tardío y progresión más lenta que afecta principalmente al músculo esquelético. Se calcula que la enfermedad de Pompe afecta aproximadamente a entre 5,000 y 10,000 personas en todo el mundo.

25 **Ejemplo 11: Resultados de un estudio abierto de Fase I/II (ATB200-02)**

ATB200-02 (NCT02675465) es un ensayo clínico abierto de fase I/II cuyo objetivo es evaluar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética, farmacodinámica y eficacia de cipaglicosidasa alfa/miglustat en adultos con enfermedad de Pompe. Cipaglicosidasa alfa/miglustat es un tratamiento en investigación de dos

componentes para la enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD) que comprende cipaglicosidasa alfa intravenosa, una rhGAA, administrada conjuntamente con miglustat oral, un estabilizador enzimático.

La FIG. 43 muestra el diseño del estudio para el estudio de Fase I/II ATB200-02. El estudio se realiza en 16 centros de 5 países. En el estudio ATB200-02 se inscribieron cuatro cohortes de pacientes con enfermedad de Pompe:

- Cohorte 1: Con experiencia con ERT, de 18-65 años, con 2-6 años de ERT previa con alglucosidasa alfa 20 mg/kg cada 2 semanas (n=11)
- Cohorte 2: Con experiencia con ERT no ambulatorios, de 18-65 años, con ≥ 2 años de ERT previa con alglucosidasa alfa 20 mg/kg cada 2 semanas (n=6)
- Cohorte 3: Sin tratamiento previo con ERT, de 18-65 años (n=6)
- Cohorte 4: Con experiencia con ERT, de 18-75 años, con ≥ 7 años de ERT previa con alglucosidasa alfa 20 mg/kg cada 2 semanas (n=6)

Los pacientes ambulatorios elegibles tenían una distancia caminada en 6 minutos (6MWD) de al menos 200 m (cohortes 1 y 3) o 75 m (cohortes 2 y 4) y una capacidad vital forzada (FVC) vertical del 30-80 % del valor normal predicho.

Se evaluaron a intervalos regulares el cambio con respecto al valor basal (CFBL) en 6MWD, % predicho de FVC en sedestación, ensayo muscular manual (MMT) y biomarcadores: tetrasacárido de glucosa en orina (Hex4) y creatina cinasa sérica (CK). En el presente documento se proporcionan datos de hasta 36 meses de seguimiento en pacientes con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT. La FIG. 44 muestra un resumen de los criterios de valoración y cohortes informados. La FIG. 45 muestra las características basales y la disposición de los pacientes. Debido al calendario escalonado de inscripción de pacientes, el número de pacientes con datos actualmente disponibles disminuye en los puntos temporales posteriores de este estudio en curso.

Los pacientes con experiencia con ERT mostraron mejoras medias duraderas con respecto al valor basal en 6MWD hasta los 48 meses. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la 6MWD mejoró numéricamente con

respecto al valor basal en 13/16, 9/13, 6/12 y 6/9 pacientes con experiencia con ERT, respectivamente (FIG. 46A). Los aumentos medios fueron de 33 metros (m) en el mes 12, 25 m en el mes 24, 9 m en el mes 36 y 20 m en el mes 48.

En los pacientes con experiencia con ERT, el cambio con respecto al valor basal (CFBL) en la FVC fue generalmente estable hasta los 48 meses de seguimiento. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la FVC mejoró ($>3\%$) o se mantuvo estable ($\pm 3\%$) con respecto al valor basal en 9/16, 11/13, 8/10 y 4/6 pacientes, respectivamente (FIG. 47A). Los cambios medios fueron del -1.2% en el mes 12, $+1.0\%$ en el mes 24, -0.3% en el mes 36 y $+1.0\%$ en el mes 48.

En los pacientes con experiencia con ERT, el cambio medio en la puntuación de extremidades inferiores de MMT mejoró numéricamente con respecto al valor basal y las mejoras se mantuvieron hasta los 48 meses de seguimiento (FIG. 48A). Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la puntuación de extremidades inferiores de MMT mejoró numéricamente con respecto al valor basal en 14/15, 11/13, 10/10 y 8/8 pacientes ambulatorios, respectivamente. Los aumentos medios fueron de 3.1 puntos en el mes 12, 2.1 puntos en el mes 24, 2.5 puntos en el mes 36 y 3.5 puntos en el mes 48.

Los pacientes sin tratamiento previo con ERT mostraron mejoras medias duraderas con respecto al valor basal en la 6MWD hasta los 48 meses. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la 6MWD mejoró numéricamente con respecto al valor basal en 6/6, 6/6, 4/5 y 4/4 pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente (FIG. 46B). Los aumentos medios fueron de 57 m en el mes 12, 54 m en el mes 24, 43 m en el mes 36 y 52 en el mes 48.

En los pacientes sin tratamiento previo con ERT, el CFBL medio en la FVC mejoró numéricamente con respecto al valor basal hasta los 48 meses de seguimiento. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la FVC mejoró ($>3\%$) o se mantuvo estable ($\pm 3\%$) con respecto al valor basal en 5/6, 6/6, 5/5 y 4/4 pacientes, respectivamente (FIG. 47B). Como se indica con el asterisco en la FIG. 47B, un paciente de la cohorte sin tratamiento previo con ERT experimentó un gran descenso en el $\%$ predicho de FVC en el mes 21, que volvió a los niveles

anteriores en la siguiente visita (mes 24). Los cambios medios fueron del 3.2 % en el mes 12, del 4.7 % en el mes 24, del 6.2 % en el mes 36 y del 8.3 % en el mes 48.

En los pacientes sin tratamiento previo con ERT, el cambio medio en la puntuación de extremidades inferiores de MMT mejoró numéricamente con respecto al valor basal y las mejoras se mantuvieron hasta los 48 meses de seguimiento (FIG. 48B). Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la puntuación de extremidades inferiores de MMT mejoró numéricamente con respecto al valor basal en 4/5, 4/5, 4/4 y 3/4 pacientes ambulatorios, respectivamente. Los aumentos medios fueron de 2.8 puntos en el mes 12, 3.0 puntos en el mes 24, 3.3 puntos en el mes 36 y 1.0 puntos en el mes 48.

Durante los 48 meses de seguimiento, la cipaglucosidasa alfa/miglustat se asoció en general a reducciones medias con respecto al valor basal en Hex4 en orina, con mayores reducciones en los pacientes sin tratamiento previo con ERT. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, los niveles de Hex4 disminuyeron numéricamente con respecto al valor basal en 16/16, 11/14, 11/12 y 6/9 pacientes con experiencia con ERT, y en 5/6, 5/6, 4/5 y 4/5 pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente (FIG. 49A).

Durante los 48 meses de seguimiento, la cipaglucosidasa alfa/miglustat se asoció a niveles estables o a reducciones medias con respecto al valor basal en la CK plasmática, con mayores reducciones en los pacientes sin tratamiento previo con ERT. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, los niveles de CK disminuyeron numéricamente con respecto al valor basal en 13/15, 14/15, 9/11 y 8/9 pacientes con experiencia con ERT, y en 6/6, 6/6, 5/5 y 4/5 pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente (FIG. 49B).

La FIG. 50 muestra un resumen de los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) con fecha de inicio en o después de la primera dosis del fármaco de estudio en el estudio ATB200-02. La duración media (DE) del tratamiento fue de 37.2 (14.48), 19.9 (4.13) y 36.9 (12.14) meses en las cohortes 1 (ERT previa 2-6 años), 4 (ERT previa ≥ 7 años) y 3 (sin tratamiento previo con ERT), respectivamente. Los EAET más frecuentes incluyeron caída, nasofaringitis,

artralgia, cefalea y diarrea; la mayoría de los EAET fueron de gravedad leve o moderada y no condujeron a la retirada del estudio.

Los resultados de hasta 48 meses de seguimiento en pacientes ambulatorios del estudio ATB200-02 de cipaglicosidasa alfa más miglustat indican lo siguiente.

5 Los pacientes con experiencia con ERT tuvieron mejoras medias duraderas con respecto al valor basal en la función motora que se mantuvieron hasta los 48 meses de seguimiento, mientras que la función respiratoria se mantuvo estable y se mantuvo durante el mismo período: una mejora con respecto al declive esperado en muchos pacientes que reciben ERT a largo plazo. Los pacientes sin tratamiento
10 previo con ERT mostraron mejoras medias duraderas con respecto al valor basal en la función motora y respiratoria que se mantuvieron hasta los 48 meses de seguimiento. Los niveles medios de dos biomarcadores, Hex4 y CK, se mantuvieron estables o disminuyeron con respecto al valor basal hasta los 48 meses de seguimiento, siendo los descensos más notables en la cohorte sin tratamiento
15 previo con ERT. El perfil de seguridad de cipaglicosidasa alfa más miglustat fue similar al notificado para alglucosidasa alfa.

La FIG. 55 muestra un resumen de los criterios de valoración y cohortes notificado para la Cohorte 2 (pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios). La FIG. 56 muestra las características basales y la disposición de los pacientes para
20 la Cohorte 2.

Para estos pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios, el cambio con respecto al valor basal (CFBL) en la FVC mejoró numéricamente con respecto al valor basal y/o se mantuvo estable hasta los 48 meses de seguimiento (FIG. 57). Los cambios medios fueron de +2.5 % en el mes 12, +2.0 % en el mes 24, -2.0 %
25 en el mes 36 y -1.0 % en el mes 48.

En estos pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios, el cambio medio en la puntuación total de MMT (cuerpo superior) mejoró numéricamente con respecto al valor basal y/o se mantuvo estable hasta los 36 meses de seguimiento (FIG. 57). Los cambios medios fueron de +1.3 puntos en el mes 12, +2.0 puntos en
30 el mes 24 y -0.8 puntos en el mes 36.

Durante 48 meses de seguimiento en estos pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios, la cipaglucosidasa alfa/miglustat se asoció en general a reducciones medias con respecto al valor basal en Hex4 en orina y CK en plasma (FIG. 57). Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, los niveles de Hex4 disminuyeron numéricamente con respecto al valor basal con reducciones medias del -15.6 %, -34.1 %, -36.5 % y -4.0 %, respectivamente. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, los niveles de CK en plasma disminuyeron numéricamente con respecto al valor basal con reducciones medias del -20.8 %, -25.3 %, -27 % y -23.7 %, respectivamente.

La FIG. 58 muestra un resumen de los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) con fecha de inicio en o después de la primera dosis del fármaco de estudio o de la Cohorte 2 (en pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios) en el estudio ATB200-02. La duración media (DE) del tratamiento fue de 46.3 (22.86) meses. Los EAET más frecuentes incluyeron nasofaringitis y diarrea (ambos en 3 pacientes); la mayoría de los EAET fueron de gravedad leve o moderada y no condujeron a la retirada del estudio.

Los resultados de hasta 48 meses de seguimiento en pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios del estudio ATB200-02 de cipaglucosidasa alfa más miglustat indican lo siguiente: Estos pacientes tuvieron mejoras medias duraderas con respecto al valor basal y/o estabilización en la función motora y la función pulmonar que se mantuvieron hasta 48 meses de seguimiento: una mejora con respecto al declive esperado en muchos pacientes que reciben ERT a largo plazo. Los niveles medios de dos biomarcadores, Hex4 y CK, se mantuvieron estables o disminuyeron con respecto al valor basal hasta los 48 meses de seguimiento. En general, la cipaglucosidasa alfa más miglustat fue bien tolerada en este grupo de pacientes.

Ejemplo 12: Efectos a largo plazo de la ERT en pacientes con enfermedad de Pompe

La FIG. 51 muestra una comparación de los efectos a largo plazo de cipaglucosidasa alfa/miglustat y avalglucosidasa alfa sobre el cambio con respecto

al valor basal para la 6MWD y el porcentaje predicho de FVC (sedestación) en sujetos con experiencia con ERT. La FIG. 52 muestra una comparación de los efectos a largo plazo de cipaglucoosidasa alfa/miglustat y avalglucoosidasa alfa sobre el cambio con respecto al valor basal para la 6MWD y el porcentaje predicho de FVC (sedestación) en sujetos sin tratamiento previo con ERT. La comparación muestra que los pacientes con experiencia con ERT que cambian de alglucoosidasa alfa a avalglucoosidasa alfa siguen experimentando una pérdida progresiva de la función motora evaluada mediante 6MWD, similar a la progresión mostrada anteriormente para los pacientes que permanecen con alglucoosidasa alfa a largo plazo, mientras que los pacientes que cambian de alglucoosidasa alfa a cipaglucoosidasa alfa/miglustat experimentan un cambio categórico que muestra ganancias progresivas en la función motora evaluada mediante 6MWD. Se observan tendencias similares para la FVC, en la que los pacientes que cambian a avalglucoosidasa alfa experimentan una pérdida progresiva de la función pulmonar evaluada mediante FVC, mientras que los pacientes que cambian de alglucoosidasa alfa a cipaglucoosidasa alfa/miglustat experimentan una estabilidad de la función pulmonar evaluada mediante FVC.

Las FIG. 53A – FIG. 53B muestran el porcentaje predicho del ensayo de caminata de 6 minutos (6MWT) durante el tratamiento con ERT con alglucoosidasa alfa. La FIG. 53B muestra los datos vueltos a representar de la FIG. 53A sólo a partir del año 2 en adelante. La FIG. 54 muestra el porcentaje predicho de FVC durante el tratamiento con ERT con alglucoosidasa alfa. Los datos del año 2 en adelante muestran el declive esperado en pacientes con experiencia con ERT que permanecen con alglucoosidasa alfa.

Ejemplo 13: Comparación de Alglucoosidasa Alfa (Alglu), Avalglucoosidasa Alfa (Aval) y Cipaglucoosidasa Alfa + Miglustat (Cipa+mig)

A falta de ensayos directos que comparen Aval con Cipa+mig, una comparación indirecta de tratamientos (ITC, por sus siglas en inglés) es un enfoque adecuado para comprender mejor la diferenciación clínica de los tres tratamientos para la LOPD. Las agencias de evaluación de tecnologías sanitarias (HTA) solicitan

ampliamente las ITC como respaldo de la evaluación económica comparativa de la salud.

Se realizó una ITC que proporcionó estimaciones del efecto relativo en la población diana de interés (es decir, una población de LOPD que incluía una mezcla de sujetos sin tratamiento previo con ERT y con experiencia con ERT, como en el ensayo pivotal de Fase III que comparaba Cipa+mig con Alglu [PROPEL]).

Se realizó una revisión sistemática de la bibliografía (SLR) para identificar estudios clínicos relevantes publicados de ERT en LOPD. Los resultados evaluados fueron el cambio con respecto al valor basal en la distancia caminada en 6 minutos (6MWD) (m) y en la capacidad vital forzada (FVC; % predicho) en la semana 52, reconocidos por los médicos, las agencias de HTA y los pagadores como criterios de valoración clave del ensayo de LOPD. Se extrajeron de los estudios incluidos los resultados agregados sobre el cambio en la 6MWD y la FVC con respecto al valor basal a lo largo del tiempo y las características basales (edad, género, etnia, duración de la ERT previa, 6MWD basal y FVC basal).

Se realizó una metarregresión en red multinivel (ML-NMR, por sus siglas en inglés), que es una extensión de los metanálisis en red (NMA, por sus siglas en inglés) convencionales que tienen en cuenta el efecto de las covariables a nivel de estudio, y que puede aplicarse a cualquier red conectada con cualquier mezcla de datos a nivel de paciente (IPD, por sus siglas en inglés) individuales y datos agregados. ML-NMR es un método aceptado por el National Institute for Health and Care Excellence (NICE) en respaldo del análisis coste-eficacia. Los resultados de los estudios de un solo brazo se emparejaron con los brazos de comparación adecuados de los estudios comparativos para permitir su inclusión en la red. Se calcularon las diferencias medias de tratamiento con intervalos de credibilidad (ICr) del 95 % asociados para los cambios en la 6MWD y la FVC con respecto al valor basal en la semana 52.

Se evaluó un escenario de caso base en el que todas las covariables se ajustaron a la población diana del ensayo PROPEL. Para estudiar la repercusión de la duración de la ERT previa sobre los efectos relativos, se varió el valor de la

duración de la ERT, manteniendo los valores de las covariables restantes como en el escenario del caso base. Se realizó un análisis de sensibilidad excluyendo de la red todas las pruebas de un solo brazo emparejadas para evaluar su repercusión en los resultados.

5 Se aplicaron modelos ML-NMR tanto de efectos fijos (FE, por sus siglas en inglés) como de efectos aleatorios (RE, por sus siglas en inglés) y se usó el criterio de información de desviación (DIC, por sus siglas en inglés) para evaluar la bondad de ajuste de los modelos e identificar el modelo adecuado (modelo FE o RE) para los datos. Los modelos se implementaron en un marco bayesiano usando Stan con
10 ayuda del paquete multinma de R.

 El SLR identificó siete estudios clínicos cuyas características basales se muestran en la Figura 59. Estos estudios incluyen, pero sin limitación, tres ensayos clínicos aleatorizados (LOTS: Alglu frente a placebo; COMET: Aval frente a Alglu; PROPEL: Cipa+mig frente a Alglu). Cada uno de ellos comparte 6MWD y FVC como
15 criterios de valoración primarios o secundarios clave (véanse las Figuras 60 y 61), pero difieren en sus poblaciones de ensayo (PROPEL es el único ensayo controlado aleatorizado [RCT, por sus siglas en inglés] que incluyó tanto sujetos sin tratamiento previo con ERT como sujetos con experiencia con ERT). Los resultados de eficacia de los estudios incluidos se muestran en la Figura 60.

20 Para ambos extremos, la red es la misma y se muestra en la Figura 61. Las pruebas de los estudios de un solo brazo LOTS OLE, NEO-1/-EXT, COMET OLE y ATB200-02 se incluyeron en la red, como se muestra en los recuadros azules, comparando los resultados de un solo brazo con los resultados de los comparadores adecuados de los ensayos directos.

25 En el escenario del caso base, las covariables se ajustaron a las características basales de la población diana (es decir, el ensayo PROPEL; véase la Tabla 20), y el tiempo se fijó en 52 semanas.

Tabla 20: Ajuste de covariables del escenario del caso base

Edad (años)	% de hombres	% de blancos	Duración de la ERT (años)	6MWD (m)	FVC (% predicho)
46.95	45.08	84.43	5.744	355.8	70.42

Basándose en el DIC, se eligió un modelo de RE para la 6MWD y un modelo de FE para la FVC. Para ambos criterios de valoración (Figuras 62 y 63): Cipa+mig mostró un efecto favorable estadísticamente significativo frente a Alglu y Aval; y Cipa+mig mostró un efecto numéricamente favorable frente a placebo.

Nótese que los IC_r del 95 % de las estimaciones del efecto relativo frente a placebo son en general mucho más amplios que aquellos frente a Alglu o frente a Aval. Esto refleja la mayor incertidumbre de esas estimaciones, puesto que los datos sobre placebo sólo estaban disponibles para los sujetos sin tratamiento previo con ERT y la duración previa del tratamiento con ERT del escenario del caso base es relativamente larga (5.7 años).

En la Figura 64 (6MWD) y la Figura 65 (FVC) se muestran las estimaciones del efecto relativo para diferentes duraciones previas de ERT (duración de ERT previa = 0 años [es decir, pacientes sin tratamiento previo], 2.5 años, 5 años y 9.2 años).

Se eligieron modelos de RE tanto para la 6MWD como para la FVC basados en el DIC. Las Figuras 66 y 67 proporcionan una visión general de las estimaciones del efecto relativo con IC_r del 95 % para el escenario del caso base usando el análisis de sensibilidad y muestran:

- La inclusión de pruebas de un solo brazo emparejadas en la red para el análisis principal reduce la incertidumbre de las estimaciones de efecto relativo
- Cipa+mig: estadísticamente favorable frente a Alglu; numéricamente desfavorable frente a Aval; numéricamente favorable frente a placebo (6MWT y FVC)

- Aval: numéricamente favorable frente a Alglu y placebo (6MWT y FVC)
- Alglu: numéricamente favorable frente a placebo

En conclusión, la comparación por ML-NMR presentada en el presente documento demostró que Cipa+mig era estadísticamente significativamente favorable frente a Alglu y Aval para 6MWD y FVC en el escenario del caso base del análisis principal. Cipa+mig también fue estadísticamente más favorable que Alglu y Aval en para 6MWD y FVC para diferentes duraciones de ERT, con una excepción: para FVC, Cipa+mig sólo fue numéricamente favorable frente a Aval en el contexto de ausencia de tratamiento previo con ERT.

El análisis de sensibilidad (que sólo incluye datos de RCT) demuestra que la inclusión de pruebas de un solo brazo emparejadas en la red para el análisis principal reduce la incertidumbre de las estimaciones de efecto relativo. En conjunto, estos resultados apuntan a que Cipa+mig tiene potencialmente un perfil clínico diferenciado frente a las otras ERT, particularmente en el caso de personas con algún nivel de tratamiento previo con ERT. Se prevén análisis adicionales para cometer a ensayo y mejorar los hallazgos, cuando se publiquen datos adicionales a más largo plazo.

Ejemplo 14: Comparación a largo plazo de Cipaglucosidasa Alfa + Miglustat (Cipa+mig) y Alglucosidasa Alfa (Alglu)

El estudio de Fase III con doble ocultación PROPEL (NCT03729362; ATB200-03) descrito en los Ejemplos 9 y 10 anteriores comparó el tratamiento en investigación de dos componentes cipaglucosidasa alfa/miglustat (cipa/mig) con alglucosidasa alfa/placebo (alglu) en adultos con enfermedad de Pompe de inicio tardío (LOPD) durante 52 semanas. La extensión abierta en curso (OLE, por sus siglas en inglés) de PROPEL (NCT04138277; ATB200-07) evalúa la seguridad y eficacia a largo plazo de cipa/mig. Los resultados incluyen la distancia caminada en 6 minutos (6MWD), la capacidad vital forzada (FVC), los niveles de creatina cinasa (CK) y hexosa tetrasacárido (Hex4) y la seguridad. Los datos se expresan como cambio con respecto al valor basal de PROPEL hasta la semana 52 de OLE (104

semanas después del valor basal de PROPEL). El diseño del estudio y la disposición de los pacientes se muestran en la FIG. 68 y las características basales se muestran en la FIG. 69. Los resultados se muestran en las FIG. 70-74 y se describen con más detalle a continuación. En la OLE (N=119; 91 pacientes con experiencia con terapia de reemplazo enzimático [ERT] y 28 sin tratamiento previo con ERT), 82/85 (96.5 %) pacientes tratados previamente con cipa/mig continuaron con cipa/mig y 37/38 (97.4 %) cambiaron de algu a cipa/mig; el 90.8 % de los pacientes permanecieron en el estudio de OLE hasta la semana 52. El cambio medio en el % predicho de 6MWD fue de +3.1(desviación estándar 8.07) para cipa/mig-cipa/mig y -0.5(7.76) para algu-cipa/mig en pacientes con experiencia con ERT y +8.6(8.57) para cipa/mig-cipa/mig y +8.9(11.65) para algu-cipa/mig en pacientes sin tratamiento previo con ERT. El cambio medio en el % predicho de FVC fue de -0.6(7.50) para cipa/mig-cipa/mig y de -3.8(6.23) para algu-cipa/mig en pacientes con experiencia con ERT y de -4.8(6.48) y -3.1(6.66) en pacientes sin tratamiento previo con ERT. La reducción media de la CK (U/l) en los pacientes con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT fue de -132.1(215.74) y -216.9(243.66) para cipa/mig-cipa/mig y de -161.0(269.52) y -218.6(316.47) para algu-cipa/mig, respectivamente. La reducción media de Hex4 (mmol/mol) para los pacientes con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT fue de -1.9(3.22) y -2.9(2.45) para cipa/mig-cipa/mig y de -2.6(3.75) y -2.9(2.22) para algu-cipa/mig, respectivamente. Durante el PROPEL hasta la semana 52 de la OLE, se produjeron acontecimientos adversos emergentes del tratamiento en 84 (98.8 %) pacientes con cipa/mig-cipa/mig y 36 (97.3 %) pacientes con algu-cipa/mig. Tres pacientes suspendieron la OLE debido a reacciones asociadas a la infusión (urticaria, urticaria e hipotensión y anafilaxia, respectivamente).

Los pacientes con experiencia con ERT tratados con cipa/mig durante PROPEL y la OLE mostraron mejoras con respecto al valor basal en 6MWD y niveles de biomarcadores y se mantuvieron estables en el % predicho de FVC durante PROPEL, y se mantuvieron estables en estos resultados durante la OLE hasta la semana 104. Los pacientes con experiencia con ERT que fueron tratados

con alg/pla durante PROPEL permanecieron estables en 6MWD y empeoraron en el % predicho de FVC y niveles de biomarcadores y se estabilizaron o mejoraron tras cambiar a cipa/mig en la OLE. En los pacientes sin tratamiento previo con ERT tratados con cipa/mig durante PROPEL y la OLE, la 6MWD y los niveles de biomarcadores mejoraron durante PROPEL y se mantuvieron estables durante la OLE. El % predicho de FVC disminuyó durante PROPEL y se estabilizó durante la OLE. Los pacientes sin tratamiento previo con ERT que fueron tratados con alg/pla durante PROPEL y cambiaron a cipa/mig en la OLE mostraron un patrón similar al de los pacientes que fueron tratados con cipa/mig durante todo el tratamiento. No se identificaron nuevas señales de seguridad. Los datos demuestran que el tratamiento con cipa/mig hasta 104 semanas se asoció a un efecto duradero y fue bien tolerado, lo que respalda los beneficios a largo plazo del tratamiento para pacientes con LOPD.

Ejemplo 15: Comparación de la distribución de perfiles de N-glicanos en Cipaglucosidasa Alfa y Alglucosidasa Alfa

La alglucosidasa alfa y tres preparaciones de cipaglucosidasa alfa se analizaron mediante LC-FLD para evaluar su perfil de N-glicanos desglosado en 10 clases distintas basadas principalmente en la carga y la hidrofilia. El análisis por LC-FLD demostró niveles consistente y categóricamente superiores de especies de N-glicanos bis-M6P (clase 10) en la cipaglucosidasa alfa en comparación con la alglucosidasa alfa. Se observaron otras diferencias en la abundancia relativa que distinguen a la cipaglucosidasa alfa y a la alglucosidasa alfa de especies de glicanos monosialilados (Clase 2), disialilados (Clase 4) y monofosforilados (mono-M6P, Clase 6). Los resultados se muestran en la Fig. 75 y la Tabla 21.

Las tres preparaciones de cipaglucosidasa alfa incluidas en el análisis y publicadas en la Fig. 75 y la Tabla 21 son 110C161009a (sustancia farmacológica no clínica generada en la primera ejecución de ingeniería del biorreactor de 1000 l con un volumen de trabajo de 1000 l), 110C171011a (sustancia farmacológica clínica) y 2S1802 (producto farmacológico clínico).

El análisis se completó usando una columna de cromatografía de líquidos de interacción hidrófila (HILIC) bajo el control de un sistema de cromatografía de líquidos de ultra alto rendimiento (UHPLC) acoplado con detección de fluorescencia (LC-FLD) para separar los N-glicanos marcados fluorescentemente con 2-AA (ácido 2-antranílico) liberados de la cipaglicosidasa alfa por la amidasa PNGasa F. Las clases (1-10) están marcadas en la Tabla 21.

Tabla 21: Resumen de las abundancias en porcentaje de glicanos de 2-AA identificadas en las preparaciones de cipaglicosidasa alfa y alglucosidasa alfa basándose en el análisis por LC-FLD.

Clase de glicano	Descripción	Cipaglicosidasa Alfa			Alglucosidasa Alfa
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	
1	Complejo neutro con alto contenido de manosa o desialilado	21.7	25.1	24.6	21.9
2	Monosialilado	17.8	18.1	18.2	25.8
3	Mono o disialilado	0.8	0.7	0.7	3.1
4	Disialilado	14.4	11.9	12.0	31.2
5	Trisialilado	9.5	8.7	8.4	7.8
6	Monofosforilado	13.8	13.1	13.4	4.2
7	Tetrasialilado	1.4	1.0	1.4	0.6
8	Monofosforilado (Híbrido)	2.1	1.7	1.9	1.7

9	Bisfosforilado (Híbrido)	2.8	2.5	2.6	1.6
10	Bisfosforilado	15.7	17.0	16.8	2.1
	Total	100.0	100.0	100.0	100.0

En el análisis por LC-FLD, la proteína se desnaturalizó, se redujo y se trató con la enzima PNGasa F para liberar los glicanos unidos a N. La proteína desglicosilada se analizó mediante SDS-PAGE. Los glicanos liberados se marcaron con 2-AA y se analizaron mediante cromatografía en fase normal. Brevemente, se mezclaron 50 µg de ATB200 con 15 µl de solución 10× de tampón desnaturalizante que contenía SDS al 5 % y ditiotreitól (DTT) 400 mM en un volumen total de 150 µl, se calentó a 100 °C durante 10 minutos y se enfrió a 20 °C. A cada muestra desnaturalizada de ATB200, se le añadieron 20 µl de 10× NP-40 y tampón NEB Glyco Reaction Buffer 2 hasta un volumen de reacción final de 190 µl. Se añadieron 10 µl de PNGasa F para liberar los glicanos unidos a N y la reacción se incubó a 37 °C durante 16-18 horas. Los glicanos liberados se purificaron usando un dispositivo de centrifugación y ultrafiltración de CPM de 10 kDa. Se añadieron 50 µl de la reacción de desglicosilación al dispositivo de centrifugación y se centrifugó durante 10 minutos a 14,000 RCF. Se añadió un total de 150 µl de ddH₂O en tres etapas de 50 µl para lavar los glicanos de ATB200 desglicosilada centrifugando el dispositivo de ultrafiltración a 14,000 RCF durante 10 minutos en cada etapa de lavado. Los glicanos purificados se secaron con vacío rápido speed-vac y se marcaron con 2AA. Los glicanos marcados se precipitaron en CAN al 95 %/H₂O al 5 % y se precipitaron por centrifugación durante 10 minutos a 14,000 RCF a temperatura ambiente. El sedimento se lavó con CAN al 95 % en agua, se centrifugó de nuevo y se secó usando un speed vac. Los glicanos secos y marcados se disolvieron en 100 µl de CAN al 20 % en agua y se almacenaron a 4 °C hasta la separación cromatográfica y el análisis. Durante la reacción de marcaje, se resolvieron 2 µl de cada una de las muestras de ATB200 glicosiladas y desglicosiladas mediante SDS-PAGE al 4-12 %. El gel se tiñó con la tinción Imperial Blue y se visualizó con un sistema de imagen BioRad ChemiDoc MP. La asignación

de clases de glicanos se basó en trabajos anteriores y de acuerdo con la forma de los picos y los tiempos de retención cromatográficos establecidos. La integración de picos y la cuantificación de glicanos se realizaron con Chromeleon.

En general, el análisis del perfil de N-glicanos mediante LC-FLD de N-glicanos marcados con 2-AA distingue la cipaglucosidasa alfa de la alglucosidasa alfa. Como se ha mostrado anteriormente, la cipaglucosidasa alfa tiene un mayor contenido de glicanos M6P, lo que pone de relieve las diferencias estructurales. En particular, la cipaglucosidasa alfa tiene más glicanos bis-M6P que se atribuyen a la unión y captación significativamente mayores de CIMPR en las células musculares.

Ejemplo 16: Papel de la M6P en la unión a CIMPR y la captación celular de cipaglucosidasa alfa

La eliminación de los grupos fosfato en la cipaglucosidasa alfa dio como resultado el bloqueo de la unión de CIMPR e impidió la captación de rhGAA en fibroblastos derivados de pacientes con enfermedad de Pompe, lo que demuestra la importancia de los glicanos fosforilados para un efecto biológico terapéuticamente relevante. La cipaglucosidasa alfa desfosforilada se obtuvo mediante la eliminación de los grupos fosfato en mono y bis-M6P por la enzima fosfatasa ácida púrpura (PAP, por sus siglas en inglés).

La eliminación de los fosfoésteres mono y bis-M6P se completó mediante la enzima fosfatasa ácida púrpura (PAP). La PAP hidroliza los ésteres de fosfato y los anhídridos. En condiciones ácidas, los fosfatos de los fosfoésteres mono y bis-M6P son eliminados por la PAP, lo que se demuestra por el aumento de la movilidad electroforética en la Fig. 76A y 76B, conservando al mismo tiempo la actividad enzimática de la cipaglucosidasa alfa, como lo demuestra la hidrólisis del 4MU- α -Glucósido en la Fig. 76D. La cipaglucosidasa alfa se trató con PAP durante 18 horas, y la alglucosidasa alfa en las mismas condiciones de reacción pero sin adición de PAP se usó como control con tratamiento simulado. El tratamiento con PAP da como resultado la eliminación total del pico de bis-M6P y casi todo el pico de mono-M6P del cromatograma de LC-FLD de la cipaglucosidasa alfa. Se observan claramente picos adicionales en la región neutra de los glicanos con alto contenido de manosa

resultantes de la eliminación de los fosfatos de los glicanos mono y bisfosforilados con alto contenido de manosa.

El resultado del Ensayo de Superposición de CIMPR mostrado en la Fig. 76C, muestra que la cipaglucosidasa alfa se une con alta afinidad a CIMPR como se muestra por una banda intensa, mientras que la glucosidasa alfa tratada con PAP no tiene banda detectable, lo que indica que no se une a CIMPR. Adicionalmente, la alglucosidasa alfa tiene una banda con una intensidad mucho menor que la mostrada para la cipaglucosidasa alfa, lo que indica una menor afinidad de unión por CIMPR. La unión a CIMPR significativamente menor de la alglucosidasa alfa y la cipaglucosidasa alfa desfosforilada en comparación con la cipaglucosidasa alfa con tratamiento simulado demuestra claramente que las estructuras de N-glicano mono y bis-M6P son críticas para las características de la cipaglucosidasa alfa importantes para su efecto biológico terapéutico.

El ensayo de superposición de CIMPR es una variación de la transferencia western en la que las proteínas se separan en un SDS-PAGE, se transfieren a una membrana de nitrocelulosa y se incuban con CIMPR purificado en lugar de un anticuerpo primario, tal como en una transferencia Western convencional. La unión de CIMPR a glicanos que contienen M6P en proteínas rhGAA se visualiza después mediante un anticuerpo anti-CIMPR.

Se evaluó la captación celular relativa en fibroblastos de pacientes con enfermedad de Pompe de la cipaglucosidasa alfa desfosforilada en comparación con la cipaglucosidasa alfa con tratamiento simulado y alglucosidasa alfa con tratamiento simulado. Se usaron comparaciones a una concentración de 20 nM de rhGAA para imitar la concentración intersticial de cipaglucosidasa alfa que atraviesa los tejidos, como se muestra en la Fig. 77A. Después de una incubación de 18 horas para la captación de la enzima, las células se lavaron durante 2 horas, se recogieron, se lisaron y, después, se procesaron para determinar la actividad de GAA y el análisis por transferencia Western. La GAA internalizada se midió mediante hidrólisis de 4MU- α -Glucósido y se representó con respecto a la proteína celular total, y los resultados aparecen en la Fig. 77B. La unión a CIMPR de los

lisados celulares (3 ug) se analizó mediante transferencia Western como se muestra en la Fig. 77C.

Se demostró que la cipaglicosidasa alfa desfosforilada no se internalizaba eficazmente en las células. Como se representa en la Fig. 77B y 77C por hidrólisis de 4MU- α -glucósido y unión a CIMPR, la glucosidasa alfa con tratamiento simulado se internaliza en las células de fibroblastos de Pompe y se internaliza en mayor grado que la alfa-glucosidasa alfa convencional. Sin embargo, la captación celular de cipaglicosidasa alfa tratada con PAP se anula. Estos resultados demuestran el papel esencial de la M6P y sugieren que la cipaglicosidasa alfa tiene una mejor captación celular en comparación con la alfa-glucosidasa alfa debido a las estructuras y cantidades de N-glicanos mono y bis-M6P.

Ejemplo 17: Resumen del Programa de Desarrollo Clínico

Existen 3 ensayos clínicos (Estudios ATB200-02, ATB200-03 y ATB200-07) que incluyen sujetos adultos con enfermedad de Pompe (≥ 18 años) con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT (Estudios ATB200-02 y ATB200-03) o sólo con experiencia con ERT (Estudio ATB200-07) que se incluirán en este Resumen de Eficacia Clínica (SCE, por sus siglas en inglés) y cuyos detalles se presentan en la Tabla 22. Se inscribieron ciento cincuenta y dos sujetos adultos en el programa de desarrollo clínico de cipaglicosidasa alfa/miglustat con 29 sujetos adultos expuestos a cipaglicosidasa alfa/miglustat en el estudio de Fase 1/2 en curso ATB200-02 y 123 sujetos adultos expuestos a cipaglicosidasa alfa/miglustat (85 sujetos) o alfa-glucosidasa alfa/placebo (38 sujetos) en el estudio de Fase 3 completado, ATB200-03. De los 123 sujetos (85 tratados con cipaglicosidasa alfa/miglustat; 38 tratados con alfa-glucosidasa alfa/placebo) que se inscribieron en el Estudio ATB200-03, un total de 117 sujetos completaron el estudio y se inscribieron después en el Estudio ATB200-07. Dos sujetos adicionales (1107-1681 y 2010-1352) no completaron el Estudio ATB200-03 pero se inscribieron en el Estudio ATB200-07, con lo que el total de sujetos inscritos en el Estudio ATB200-07 (Población OLE-ES) ascendió a 119 (91 con experiencia con ERT y 28 sin tratamiento previo con ERT).

Tabla 22: Resumen de estudios clínicos en sujetos adultos

Número de estudio	Diseño del estudio	Objetivo u objetivos del estudio	Número de sujetos	Tratamiento (Posología, Forma, Dosis y Vía)	Criterios de valoración clave
ATB200-02 (en curso)	Primera dosis ascendente de secuencia fija, abierta, primera en seres humanos Fase 1/2	<u>Fase 1:</u> Evaluación de la seguridad, tolerabilidad y PK (completada) <u>Fase 2:</u> seguridad, tolerabilidad, PK y PD (completada) <u>Fase 3</u> (en curso; 2 años) y <u>Fase 4</u> (en curso): seguridad, tolerabilidad, eficacia, PK, PD e inmunogenicidad a largo plazo	N = 29	<u>Fase 1:</u> dosis única ascendente de 5, 10 y 20 mg/kg de cipagluco-sa alfa IV <u>Fase 2:</u> 3 de dosis de cápsulas orales de cipagluco-sa alfa IV + 20 mg/kg IV + 130 mg de miglustat C.2.S., seguidas de 3 dosis de cápsulas orales de cipagluco-sa alfa IV +	<u>Todas las fases, todas las cohortes:</u> Evaluaciones de seguridad <u>Fase 1 y 2, cohorte 1:</u> PK de cipagluco-sa alfa y miglustat en plasma <u>Fases 3 y 4, Cohorte 2:</u> Fuerza muscular y PRO <u>Etapas 3 y 4, Cohortes 1, 3 y 4:</u> Evaluaciones funcionales (función motora, fuerza muscular, función

Número de estudio	Diseño del estudio	Objetivo u objetivos del estudio	Número de sujetos	Tratamiento (Posología, Forma, Dosis y Vía)	Criterios de valoración clave
5				260 mg de miglustat C.2.S.	pulmonar) y PRO
10				<u>Fases 3 y 4:</u> Cápsulas orales de cipaglicosida alfa	
15				20 mg/kg IV + 260 mg de miglustat C.2.S.	
20	ATB200-03 (completadas)	Multicéntrico, doble ocultación, aleatorizado, controlado activamente Fase 3	Eficacia y seguridad N = 123	Cápsulas orales de cipaglicosida alfa 20 mg/kg IV + 195/260 mg de miglustat C.2.S. (85 sujetos)	Criterio de valoración primario: 6MWD en la Semana 52
25		<u>Criterio de valoración primario:</u> Cambio con respecto al valor basal hasta la semana 52 en la 6MWD medida en metros, que es		Cápsulas orales de alglucosidasa alfa 20 mg/kg	Primer criterio de valoración secundario clave: % predicho de FVC
30					Otros criterios de valoración

Número de estudio	Diseño del estudio	Objetivo u objetivos del estudio	Número de sujetos	Tratamiento (Posología, Forma, Dosis y Vía)	Criterios de valoración clave
5		la distancia caminada en el 6MWT		IV + placebo C.2.S. (38 sujetos)	secundarios clave por orden: • MMT de extremidades inferiores • 6MWD en la Semana 26 • PROMIS -Función física • PROMIS -Fatiga • GSGC

Tabla 22: Resumen de estudios clínicos en sujetos adultos (Continuación)

Número de estudio	Diseño del estudio	Objetivo u objetivos del estudio	Número de sujetos	Tratamiento (Posología, Forma, Dosis y Vía)	Criterios de valoración clave
ATB200-07 (en curso)	Estudio multicéntrico, de extensión abierta del estudio ATB200-03 Fase 3	Evaluación de seguridad y eficacia	N = 119 ^a	Cápsulas orales de cipaglucosidasa alfa 20 mg/kg IV + 195/260 mg de miglustat C.2.S.	Seguridad a largo plazo, eficacia, PD, PK, PRO

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; 6MWT = ensayo de marcha de 6 minutos; GSGC = ensayo de marcha, escaleras, maniobra de Gowers y silla; IV = por vía intravenosa; LOPD = enfermedad de Pompe de inicio tardío; MMT = ensayo muscular manual; N = número de sujetos; PD = farmacodinámica; PK = farmacocinética; PRO = resultados informados por los pacientes; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; C.2.S. = una vez cada dos semanas

^a Dos sujetos interrumpieron el Estudio ATB200-03 y se inscribieron en el Estudio ATB200-07. Un total de 119 sujetos se inscribieron y 118 recibieron dosis en el Estudio ATB200-07.

Nota: En los estudios ATB200-03 y ATB200-07, la dosis de miglustat se ajusta a 195 mg en sujetos < 50 kg.

Estudio de Fase 1/2 ATB200-02

Como se ha descrito anteriormente con respecto a los Ejemplos 8 y 11, el Estudio ATB200-02 es un estudio en curso, abierto, de secuencia fija, de dosis única y múltiple ascendente, primero en seres humanos, para evaluar la seguridad,

tolerabilidad, PK, PD, eficacia e inmunogenicidad de la cipaglicosidasa alfa IV sola y cuando se coadministra con miglustat oral en sujetos adultos con enfermedad de Pompe. El diseño del estudio incluye 4 fases y 4 cohortes, con las Fases 1 y 2 sólo para la Cohorte 1 y las Fases 3 y 4 para las 4 cohortes (FIG. 79). Los datos sobre la eficacia de cipaglicosidasa alfa/miglustat resumidos en el SCE se obtuvieron de las Fases 3 y 4.

Las 4 cohortes del estudio son las siguientes:

- Cohorte 1: Sujetos con experiencia con ERT (2 a 6 años) ambulatorios (11 sujetos)
- Cohorte 2: Sujetos con experiencia con ERT (≥ 2 años) no ambulatorios (6 sujetos)
- Cohorte 3: Sujetos sin tratamiento previo con ERT ambulatorios (6 sujetos)
- Cohorte 4: Sujetos con experiencia con ERT (≥ 7 años) ambulatorios (6 sujetos)

A los sujetos se les administró cipaglicosidasa alfa como agente único o cipaglicosidasa alfa coadministrada con miglustat de acuerdo con la asignación de tratamiento de la Tabla 22.

Tabla 22: Asignación de tratamiento para las Fases 1, 2, 3 y 4 - Estudio ATB200-02

	Cohortes	Fase 1 (6 semanas)			Fase 2 (12 semanas)	
		Periodo 1 monodosis	Periodo 2 monodosis	Período 3 Dosis única	Período 4 3 Dosis múltiples Coadministración	Período 5 3 Dosis múltiples Coadministración
5						
10	Cohorte 1 (n = 11)	5 mg/kg de ATB200	10 mg/kg de ATB200	20 mg/kg de ATB200	ATB200 20 mg/kg + 130 mg de AT2221	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221
15	Cohorte 2 (n = 6)	NA				
20	Cohorte 3 (n = 6)	NA				
25	Cohorte 4 (n = 6)	NA				
30						

	Cohortes	Fase 3 (2 años)	Fase 4 (Hasta su aprobación)
		Dosis múltiples, 24 meses, Extensión Coadministración	Dosis múltiples, largo plazo, extensión Coadministración
5	Cohorte 1 (n = 11)	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221
	Cohorte 2 (n = 6)	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221
10	Cohorte 3 (n = 6)	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221
	Cohorte 4 (n = 6)	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221	ATB200 20 mg/kg + 260 mg de AT2221

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 AT2221 = miglustat; ATB200 = cipaglucosidasa alfa; NA = no aplicable; n = número de sujetos; SSC = Comité Directivo de Seguridad

Nota: Al menos 1 de los 2 sujetos centinela completará el Período 5, Fase 2 de dosificación y los datos de seguridad serán revisados por el CDC antes de que cualquiera de los nuevos sujetos inscritos en las Cohortes 2 y 3 pueda ser dosificado. Los primeros 2 sujetos en las Cohortes 2 y 3 también servirá como sujetos centinela para sus respectivas cohortes.

Los objetivos primarios del estudio de Fase 1/2 ATB200-02 eran evaluar la seguridad, tolerabilidad, PK, PD y eficacia de la cipaglucosidasa alfa sola y en coadministración con miglustat oral.

La selección de la dosis para el Estudio pivotal de Fase 3 ATB200-03 se basó en los datos de PK, PD/biomarcadores, eficacia y seguridad del Estudio ATB200-02. La PK de la cipaglucosidasa alfa se caracterizó bien en las Fases 1 y 2 del Estudio ATB200-02, que mostraron aumentos en la exposición global a la cipaglucosidasa alfa y aumentos adicionales en la exposición con la adición de miglustat. Este aumento de la exposición plasmática a la cipaglucosidasa alfa con

miglustat es coherente con los datos de estudios no clínicos en los que el aumento de la exposición se asoció a reducciones crecientes del glucógeno y aumentos de la fuerza muscular.

El Estudio ATB200-02 proporciona datos de eficacia de apoyo de las Fases 3 y 4 que muestran que los aumentos de exposición observados en las Fases 1 y 2 condujeron a una mejora clínicamente significativa en una amplia gama de criterios de valoración tras el tratamiento con cipaglucoSIDasa alfa/miglustat en las Fases 3 y 4. Estas mejoras de la eficacia se observan hasta los 48 meses cuando se dispone de datos, lo que respalda la eficacia a largo plazo de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat.

Estudio de Fase 3 ATB200-03

El Estudio pivotal de Fase 3 ATB200-03 ha concluido. El Estudio ATB200-03 fue un ensayo con doble ocultación, aleatorizado, multicéntrico, global y controlado para evaluar la eficacia y seguridad de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat en comparación con alglucoSIDasa alfa/placebo (tratamiento aprobado) en sujetos adultos con LOPD que habían recibido previamente alglucoSIDasa alfa (es decir, con experiencia con ERT) o que nunca habían recibido ERT (es decir, sin tratamiento previo con ERT). La miozima (alglucoSIDasa alfa) se obtuvo directamente de Sanofi Genzyme a través de un proveedor externo. Amicus realizó una evaluación científica de la documentación de Sanofi Genzyme. Los resultados demostraron que el producto estadounidense (Lumizyme) y el no estadounidense (Myozyme) son comparables. Los sujetos se asignaron aleatoriamente en una relación de 2:1 para recibir cipaglucoSIDasa alfa/miglustat o alglucoSIDasa alfa/placebo en semanas alternas durante 52 semanas (FIG. 80).

El objetivo primario del Estudio ATB200-03 era evaluar la eficacia de la coadministración de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat en la función motora medida mediante el 6MWT, en comparación con alglucoSIDasa alfa/placebo. El primer criterio de valoración secundario clave era evaluar la eficacia de la coadministración de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat en la función pulmonar medida mediante el % predicho de FVC en sedestación en comparación con alglucoSIDasa alfa/placebo. Los criterios de valoración secundarios clave adicionales incluyeron la puntuación

de extremidades inferiores de MMT, 6MWD en la semana 26, la puntuación total del Formulario corto 20a de PROMIS®-Función física, la puntuación total Formulario corto 8a de PROMIS-Fatiga y la puntuación total de GSGC. Otros criterios secundarios de valoración incluían adicionalmente evaluaciones de la función motora, la función pulmonar, la fuerza muscular y los PRO. También se evaluaron los biomarcadores del daño muscular (CK) y del sustrato de la enfermedad (Hex4).

Estudio de Fase 3 ATB200-07

El Estudio ATB200-07 es un estudio de extensión abierto (OLE) en curso para evaluar la seguridad y eficacia a largo plazo de cipaglucosidasa alfa/miglustat en sujetos adultos con LOPD que completaron el Estudio ATB200-03. Los sujetos que fueron tratados con alglucosidasa alfa/placebo en el Estudio ATB200-03 fueron cambiados a cipaglucosidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07. Las dosis y el calendario del estudio se mantienen del Estudio ATB200-03.

Resumen de los resultados del estudio

En esta sección se resumen los resultados del Estudio abierto de Fase 1/2 ATB200-02 en curso, el Estudio pivotal de Fase 3 ATB200-03 finalizado y el Estudio de extensión a largo plazo de Fase 3 ATB200-07. Los datos de estos estudios se presentan individualmente y como datos agrupados.

Ejemplo 18: Estudio ATB200-02

El Estudio ATB200-02 es un estudio de Fase 1/2 y la eficacia de cipaglucosidasa alfa/miglustat se basa principalmente en los resultados de las Fases 3 y 4 del estudio.

En diciembre de 2021, 29 sujetos recibieron la dosis de cipaglucosidasa alfa/miglustat, 3 sujetos la interrumpieron prematuramente y 26 sujetos se encuentran actualmente en la Fase 4. Tres (10.3 %) sujetos interrumpieron el estudio durante la Fase 3. La duración media (desviación estándar [DE]) de la exposición fue de 48.4 (18.04) meses.

En el Estudio ATB200-02, todos los sujetos con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT demostraron una repercusión significativa de la enfermedad de Pompe en función de las características basales. Para las Cohortes

1 y 4 (16 sujetos ambulatorios con experiencia con ERT), el % predicho de 6MWD medio (DE) en el momento basal fue del 60.2 % (16.20 %). Para la Cohorte 3 (6 sujetos ambulatorios sin tratamiento previo con ERT), el % predicho de 6MWD medio (DE) en el momento basal fue del 67.8 % (12.61 %).

5 La duración del tratamiento con ERT de los sujetos con experiencia con ERT antes de la inscripción en el estudio fue > 2 años, con una mediana de dosis global de 20 mg/kg. La duración media (DE) del tratamiento con ERT estaba comprendida entre 5.1 (1.27) años en la Cohorte 1 y 10.6 (2.06) años en la Cohorte 4.

10 Los resultados del Estudio ATB200-02 a los que se hace referencia a continuación se basan en el corte de datos del 13 de diciembre de 2021, momento en el que todos los sujetos, excepto los de la Cohorte 4, habían completado al menos 48 meses de seguimiento (o lo habían interrumpido). En el presente documento se presentan datos de hasta 48 meses que respaldan la eficacia a largo plazo y se incluyen en el análisis agrupado a continuación. Los datos del Estudio
15 ATB200-02 que evalúan los principales dominios clínicos de la enfermedad de Pompe, tales como la función motora, la función pulmonar y la fuerza muscular, respaldan los resultados obtenidos con el Estudio ATB200-03.

Función motora

20 En el Estudio ATB200-02, se evaluó la función motora en todos los sujetos ambulatorios (es decir, Cohortes 1, 3 y 4) (Tabla 23, FIG. 46A-46D). Después de 48 meses de tratamiento con la coadministración de cipaglucosidasa alfa 20 mg/kg en infusión IV y 260 mg de miglustat en las Fases 3 y 4, se observaron mejoras clínicamente significativas de la función motora medida mediante el 6MWT en sujetos con experiencia con ERT (Cohortes 1 y 4), sujetos sin tratamiento previo
25 con ERT (Cohorte 3) y globales (Cohortes 1, 3 y 4) (Tabla 23). La mejora inicial se observó en 1-2 años y se mantuvo por encima del valor basal hasta el mes 48.

30 Tanto las cohortes con experiencia con ERT como las cohortes sin tratamiento previo con ERT mostraron mejoras medias duraderas con respecto al valor basal en el % predicho de 6MWD hasta los 48 meses (FIG. 46C y 46D; Tabla 26B), experimentando un 88.9 % de los pacientes con experiencia con ERT y un

100 % de los pacientes sin tratamiento previo con ERT una mejora con respecto al valor basal en el % predicho medio de 6MWD en el mes 48. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la 6MWD media en metros mejoró numéricamente con respecto al valor basal en 13/16, 9/13, 6/12 y 6/9 pacientes con experiencia con ERT, respectivamente. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la 6MWD media en metros mejoró numéricamente con respecto al valor basal en 6/6, 6/6, 4/5 y 4/4 pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente.

Tabla 23: Resumen de 6-MWD (metros) con respecto al valor basal hasta el mes 48 - Fase 3 y Fase 4 (Población de eficacia) - Estudio ATB200-02

Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
Referencia			
n	16	6	22
Media (DE)	393.5 (119.66)	396.0 (75.20)	394.2 (107.59)
IC del 95 % para la media	329.7, 457.2	317.1, 474.9	346.5, 441.9
Mediana (Q1, Q3)	394.5 (330.0, 491.5)	395.2 (378.3, 460.0)	395.2 (332.0, 480.0)
Mín, máx	104, 544	267, 480	104, 544
Cambio con respecto al valor basal al Mes 12			
n	16	6	22
Media (DE)	33.5 (49.62)	57.0 (29.96)	39.9 (45.69)
IC del 95 % para la media	7.0, 59.9	25.6, 88.5	19.6, 60.1
Mediana (Q1, Q3)	20.6 (8.3, 51.9)	55.6 (30.8, 78.9)	27.4 (12.0, 77.8)
Mín, máx	-44, 135	27, 95	-44, 135

Visita/Estadística		Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
5	Cambio con respecto al valor basal al Mes 24			
	n	13	6	19
	Media (DE)	25.2 (63.30)	54.4 (36.18)	34.4 (56.82)
	IC del 95 % para la media	-13.0, 63.5	16.4, 92.4	7.1, 61.8
	Mediana (Q1, Q3)	18.5 (-7.0, 58.0)	49.0 (22.6, 78.2)	22.6 (5.2, 78.2)
10	Mín, máx	-98, 135	21, 107	-98, 135
	Cambio con respecto al valor basal al Mes 36			
	n	12	5	17
	Media (DE)	9.8 (85.98)	43.5 (45.19)	19.7 (76.44)
	IC del 95 % para la media	-44.8, 64.5	-12.6, 99.6	-19.6, 59.0
15	Mediana (Q1, Q3)	11.6 (-13.7, 51.5)	59.0 (20.5, 80.0)	24.2 (-12.0, 59.0)
	Mín, máx	-204, 131	-24, 82	-204, 131
20				
25				
30				

Tabla 23: Resumen de 6-MWD (metros) con respecto al valor basal hasta el mes 48 - Fase 3 y Fase 4 (Población de eficacia) - Estudio ATB200-02 (Continuación)

Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
Cambio con respecto al valor basal al Mes 48			
n	9	4	13
Media (DE)	20.7 (101.84)	52.2 (46.59)	30.4 (87.67)
IC del 95 % para la media	-57.6, 99.0	-21.9, 126.3	-22.6, 83.4
Mediana (Q1, Q3)	27.0 (-3.3, 83.7)	40.5 (16.3, 88.0)	27.0 (13.7, 83.7)
Mín, máx	-215, 138	14, 114	-215, 138

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; IC = intervalo de confianza; máx = máximo; mín = mínimo; N = número total de sujetos inscritos; n = subconjunto de sujetos; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar

Nota: La distancia caminada en 6 minutos (6MWD) es la distancia en metros caminada en el ensayo de caminata de 6 minutos. La realizaron únicamente sujetos ambulatorios.

La coadministración de cipaglucosidasa alfa 20 mg/kg en infusión IV y 260 mg de miglustat (es decir, en la Fase 2, Período 5, Fase 3 y Fase 4) también produjo mejoras en otras medidas de la función motora en sujetos ambulatorios con experiencia con ERT y sin tratamiento previo con ERT, incluyendo 10MWT, GSGC y TUG. La mejora inicial se observó en 1 a 2 años y se mantuvo por encima del valor basal hasta el mes 48.

Función pulmonar

Después de 48 meses de tratamiento en las Fases 3 y 4, la coadministración de cipaglucosidasa alfa 20 mg/kg en infusión IV y 260 mg de miglustat (es decir, en las Fases 2, 5, 3 y 4) dio como resultado un % predicho de FVC estable o mejorado para los sujetos con experiencia con ERT (Cohortes 1 y 4), los sujetos sin tratamiento previo con ERT (Cohorte 3) y globales (Cohortes 1, 3 y 4) (Tabla 24, FIG. 47A-47B). Los valores se mantuvieron iguales o superiores a los basales hasta el mes 48. Para la Cohorte 2 (sujetos no ambulatorios), el % predicho de FVC en sedestación se mantuvo estable en 2 sujetos con datos disponibles hasta los 36 meses.

El CFBL medio en el % predicho de la FVC en sedestación fue generalmente estable ($\text{CFBL} \pm 3\%$ puntos) hasta los 48 meses de seguimiento en las cohortes con experiencia con ERT (FIG. 47A, Tabla 26B), con mejoras ($\text{CFBL} > 3\%$ puntos) en los meses 48 en el 66.7 % de los pacientes con experiencia con ERT y en el 75 % de los pacientes sin tratamiento previo con ERT. Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, el % predicho de la FVC en sedestación mejoró ($> 3\%$ puntos) o permaneció estable ($\pm 3\%$ puntos) con respecto al valor basal en 9/16, 11/13, 8/10 y 4/6 pacientes con experiencia con ERT, respectivamente. Esto se ve respaldado además por los resultados de la presión espiratoria máxima (MEP), que también mejoraron numéricamente con respecto al valor basal a los 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento en los pacientes con experiencia con ERT (Tabla 26B).

En la cohorte sin tratamiento previo con ERT, el CFBL medio en el % predicho de FVC en sedestación mejoró a los 3 meses y después se mantuvo generalmente estable hasta los 48 meses de seguimiento (FIG. 47B, Tabla 26B), excepto en un paciente que experimentó un gran descenso en el % predicho de FVC en sedestación en el mes 21, que volvió a los niveles previos en la siguiente visita en el mes 24. Las mejoras del % predicho de la FVC en sedestación medio fueron más marcadas en la cohorte sin tratamiento previo con ERT que en la cohorte con experiencia con ERT durante 48 meses de seguimiento (FIG. 47B, Tabla 26B). Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, el % predicho de la FVC en

sedestación mejoró (>3 % puntos) o permaneció estable (± 3 % puntos) con respecto al valor basal en 5/6, 6/6, 5/5 y 4/4 de los pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente. Los datos del porcentaje predicho de FVC en sedestación se vieron respaldados por resultados similares en otras medidas pulmonares, incluyendo el % predicho de la presión inspiratoria máxima (MIP) y la MEP. La MIP mejoró numéricamente en los pacientes sin tratamiento previo con ERT a los 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento (Tabla 26B).

Se dispone de datos limitados sobre la eficacia a largo plazo de la cohorte 2 con experiencia con ERT no ambulatoria. Se dispuso de datos del porcentaje predicho de FVC en sedestación de dos pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios después de 36 meses y de un paciente a los 48 meses de seguimiento. Después de 36 meses de seguimiento, uno de los pacientes mejoró y el otro empeoró en comparación con los valores basales. El paciente con datos disponibles después de 48 meses de seguimiento, se mantuvo en general estable en comparación con el valor basal (Tabla 26B).

Tabla 24: Resumen del % predicho de FVC en sedestación con respecto al valor basal hasta el mes 48 - Fase 3 y Fase 4 (sujetos ambulatorios; población de eficacia) - Estudio ATB200-02

Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
Referencia			
n	16	6	22
Media (DE)	57.4 (17.42)	57.2 (20.84)	57.3 (17.89)
IC del 95 % para la media	48.1, 66.7	35.3, 79.0	49.4, 65.3
Mediana (Q1, Q3)	56.0 (46.0, 70.0)	59.0 (38.0, 77.0)	56.0 (45.0, 70.0)

	Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
5	Mín, máx	31, 88	31, 79	31, 88
	Cambio con respecto al valor basal al Mes 12			
	n	16	6	22
	Media (DE)	-1.2 (5.95)	3.2 (8.42)	0.0 (6.79)
10	IC del 95 % para la media	-4.4, 2.0	-5.7, 12.0	-3.0, 3.0
	Mediana (Q1, Q3)	-1.0 (-5.5, 4.0)	4.5 (-4.0, 11.0)	-0.5 (-5.0, 5.0)
	Mín, máx	-12, 8	-9, 12	-12, 12
	Cambio con respecto al valor basal al Mes 24			
15	n	13	6	19
	Media (DE)	1.0 (7.96)	4.7 (5.09)	2.2 (7.24)
	IC del 95 % para la media	-3.8, 5.8	-0.7, 10.0	-1.3, 5.6
20	Mediana (Q1, Q3)	1.0 (-2.0, 6.0)	4.0 (0.0, 9.0)	2.0 (-2.0, 6.0)
	Mín, máx	-14, 15	-1, 12	-14, 15
	Cambio con respecto al valor basal al Mes 36			
	n	10	5	15
25	Media (DE)	-0.3 (6.68)	6.2 (3.35)	1.9 (6.48)
	IC del 95 % para la media	-5.1, 4.5	2.0, 10.4	-1.7, 5.5
	Mediana (Q1, Q3)	-1.5 (-3.0, 2.0)	5.0 (4.0, 6.0)	2.0 (-3.0, 6.0)
30	Mín, máx	-11, 13	4, 12	-11, 13

Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
Cambio con respecto al valor basal al Mes 48			
n	6	4	10
Media (DE)	1.0 (6.42)	8.3 (4.50)	3.9 (6.61)
IC del 95 % para la media	-5.7, 7.7	1.1, 15.4	-0.8, 8.6
Mediana (Q1, Q3)	3.5 (-7.0, 5.0)	9.5 (5.0, 11.5)	4.5 (2.0, 8.0)
Mín, máx	-7, 8	2, 12	-7, 12

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): IC = intervalo de confianza; FVC = capacidad vital forzada; máx = máximo; mín = mínimo; N = número total de sujetos inscritos; n = subconjunto de sujetos; PFT = ensayo de función pulmonar; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar

Nota: Los PFT debían resumirse en el momento basal, cada 3 meses en la Fase 3 y cada 6 meses en la Fase 4 para todos los sujetos ambulatorios y para los sujetos no ambulatorios sin asistencia ventilatoria invasiva. Los valores más altos indican una mejora de la capacidad vital.

Fuerza muscular

Después de 48 meses de tratamiento en las Fases 3 y 4, la coadministración de cipaglucosidasa alfa 20 mg/kg en infusión IV y 260 mg de miglustat (es decir, en las Fases 2, 5, 3 y 4) dio como resultado una fuerza muscular estable o mejorada en las extremidades inferiores y superiores y en los grupos musculares proximales de los sujetos ambulatorios con experiencia con ERT (Cohortes 1 y 4) y de los sujetos sin tratamiento previo con ERT (Cohorte 3), medida mediante MMT y QMT. Se observaron resultados estables en sujetos no ambulatorios (Cohorte 2; sólo

extremidades superiores). Los resultados de MMT de extremidades inferiores se muestran en la Tabla 25 y en las FIG. 48A y 48B.

Independientemente del estado del tratamiento con ERT en el momento basal, los pacientes ambulatorios experimentaron mejoras iniciales tempranas de la fuerza muscular basadas en las puntuaciones de extremidades inferiores de MMT, que se mantuvieron hasta los 48 meses de seguimiento (FIG. 48A y 48B, Tabla 26B). Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, la puntuación de extremidades inferiores de MMT mejoró numéricamente con respecto al valor basal en 14/15, 11/13, 10/10 y 8/8 pacientes con experiencia con ERT y en 4/5, 4/5, 4/4 y 3/4 pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente.

Tabla 25: Resumen de la puntuación de extremidades inferiores de MMT con respecto al valor basal hasta el mes 48 - Fase 3 y Fase 4 (sujetos ambulatorios; población de eficacia) - Estudio ATB200-02

Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
Referencia			
n	15	5	20
Media (DE)	30.0 (3.44)	29.0 (1.73)	29.8 (3.09)
IC del 95 % para la media	28.1, 31.9	26.8, 31.2	28.3, 31.2
Mediana (Q1, Q3)	30.0 (28.0, 32.0)	30.0 (29.0, 30.0)	30.0 (28.5, 32.0)
Mín, máx	21, 34	26, 30	21, 34
Cambio con respecto al valor basal al Mes 12			
n	15	5	20
Media (DE)	3.1 (2.34)	2.8 (4.97)	3.0 (3.04)

	Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
5	IC del 95 % para la media	1.8, 4.4	-3.4, 9.0	1.6, 4.4
	Mediana (Q1, Q3)	2.0 (2.0, 5.0)	4.0 (0.0, 5.0)	3.0 (2.0, 5.0)
	Mín, máx	-2, 6	-4, 9	-4, 9
10	Cambio con respecto al valor basal al Mes 24			
	n	13	5	18
	Media (DE)	2.1 (2.18)	3.0 (3.94)	2.3 (2.68)
	IC del 95 % para la media	0.8, 3.4	-1.9, 7.9	1.0, 3.7
15	Mediana (Q1, Q3)	2.0 (1.0, 4.0)	3.0 (2.0, 3.0)	2.0 (1.0, 4.0)
	Mín, máx	-2, 6	-2, 9	-2, 9
	Cambio con respecto al valor basal al Mes 36			
	n	10	4	14
20	Media (DE)	2.5 (3.69)	3.3 (2.75)	2.7 (3.36)
	IC del 95 % para la media	-0.1, 5.1	-1.1, 7.6	0.8, 4.7
	Mediana (Q1, Q3)	1.5 (0.0, 4.0)	3.5 (1.0, 5.5)	2.0 (0.0, 4.0)
25	Mín, máx	0, 12	0, 6	0, 12
	Cambio con respecto al valor basal al Mes 48			
	n	8	4	12
30	Media (DE)	3.5 (2.51)	1.0 (3.83)	2.7 (3.08)

Visita/Estadística	Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16)	Cohorte 3 (N = 6)	Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (N = 22)
IC del 95 % para la media	1.4, 5.6	-5.1, 7.1	0.7, 4.6
Mediana (Q1, Q3)	3.0 (2.0, 5.0)	2.0 (-2.0, 4.0)	3.0 (1.0, 4.0)
Mín, máx	0, 8	-4, 4	-4, 8

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): IC = intervalo de confianza; FVC = capacidad vital forzada; máx = máximo; mín = mínimo; N = número total de sujetos inscritos; n = subconjunto de sujetos; PFT = ensayo de función pulmonar; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar

Nota: Los MMT debían resumirse en el momento basal, cada 3 meses en la Fase 3 y cada 6 meses en la Fase 4 para todos los sujetos. Los valores más altos indican una menor repercusión de la enfermedad en las funciones musculares.

Los resultados favorables observados durante 48 meses de tratamiento en 6MWD y FVC se ven reforzados por las tendencias direccionales favorables en varios otros criterios de valoración secundarios para la fuerza muscular, la función motora y la función respiratoria. Estos hallazgos se vieron respaldados por los resultados de PRO (FSS, R-PAct, RHS y SGIC), así como por los resultados de PGIC, que demostraron mejoras significativas en la fatiga percibida por los sujetos, la capacidad para realizar actividades cotidianas y el bienestar físico global, lo que respalda el beneficio global de este tratamiento.

Los PRO respaldaron las mejoras observadas en la función motora, la fuerza muscular y los ensayos de función pulmonar. En el momento basal, todos los pacientes presentaban una repercusión significativa de la fatiga, que mejoró tras 48 meses de seguimiento, como muestra el CFBL medio favorable de FSS. Después de 48 meses de seguimiento, todos los pacientes ambulatorios informaron de

puntuaciones de R-PAct y RHS estables en comparación con las puntuaciones basales (Tabla 26B). Los resultados de SGIC para el bienestar físico global mejoraron en la mayoría de los pacientes de todas las cohortes tras 48 meses de seguimiento (Tabla 26C). Los resultados de PGIC indicaron una mejora o estabilización para todas las cohortes después de 48 meses de seguimiento y respaldaron los resultados de otros resultados de eficacia (Tabla 26C).

Se dispone de los resultados de PRO de dos pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios hasta los 48 meses de seguimiento y demuestran una mejora de las puntuaciones de FSS y RHS estables en comparación con los valores basales. Las puntuaciones de R-PAct también mostraron una mejora media con respecto al valor basal hasta los 48 meses de seguimiento en los dos pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios, lo que indica una mejora de la capacidad para realizar actividades cotidianas y participar en situaciones sociales (Tabla 26B). Un paciente no informó de ningún cambio y otro informó de una mejora con respecto al valor basal en el bienestar físico global de SGIC. Los resultados de PGIC para los dos pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios no mostraron ningún cambio para un paciente y un declive para el otro (Tabla 26C).

Resultados farmacodinámicos

Durante los 48 meses de seguimiento, cipaglucosidasa alfa más miglustat se asoció a reducciones medias con respecto al valor basal en la CK plasmática tanto en cohortes ambulatorias con experiencia con ERT como sin tratamiento previo con ERT (FIG. 49B, Tabla 26B). Después de 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento, los niveles de CK en plasma disminuyeron numéricamente con respecto al valor basal en 13/15, 14/15, 9/11 y 8/9 pacientes con experiencia con ERT y en 6/6, 6/6, 5/5 y 4/5 pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente. Entre los pacientes que tenían datos de CK disponibles en el momento basal y en el mes 48, seis de nueve (66.7 %) pacientes con experiencia con ERT tenían niveles anormales de CK en el momento basal y dos de ellos (33.3 %) tenían niveles normales de CK en el mes 48; dos de cinco (40.0 %) pacientes sin tratamiento previo con ERT tenían niveles anormales de CK en el momento basal que seguían siendo anormales en el

mes 48. Se observaron tendencias similares con Hex4 en orina, que disminuyó numéricamente con respecto al valor basal tras 12, 24, 36 y 48 meses de seguimiento en 16/16, 11/14, 11/12 y 6/9 pacientes con experiencia con ERT y 5/6, 5/6, 4/5 y 4/5 pacientes sin tratamiento previo con ERT, respectivamente (FIG. 49A, Tabla 26B). Entre los pacientes que disponían de datos de Hex4 en el momento basal y en el mes, cinco de nueve (55.6 %) pacientes con experiencia con ERT tenían niveles anormales de Hex4 en el momento basal y cuatro de ellos (80.0 %) tenían niveles normales de Hex4 en el mes 48; cuatro de cinco (80.0 %) pacientes ambulatorios sin tratamiento previo con ERT tenían medidas anormales de Hex4 en el momento basal y uno de ellos (25.0 %) volvió a niveles normales de Hex4 en el mes 48.

Los pacientes con experiencia con ERT no ambulatorios mostraron reducciones duraderas de los niveles de CK en plasma con respecto al valor basal: 20.8 % (n=5), 25.3 % (n=5), 27.1 % (n=3) y 23.7 % (n=2) a los 12, 24, 36 y 48 meses, respectivamente. Adicionalmente, también se observó un descenso constante de los niveles de Hex4 en orina con respecto al valor basal durante el período de seguimiento. Después de 12, 24, 36 y 48 meses, los niveles de Hex4 disminuyeron un 15.6 % (n=5), 34.1 % (n=5), 36.5 % (n=4) y 9.4 % (n=2) con respecto al valor basal, respectivamente (Tabla 26B).

Resultados farmacocinéticos

Sólo se tomaron muestras de sangre para las concentraciones plasmáticas de proteína GAA y miglustat para la Cohorte 1 (con experiencia con ERT) y la Cohorte 3 (sin tratamiento previo con ERT). Para impedir cualquier carga indebida para los pacientes, no se tomaron muestras de sangre para PK en los pacientes no ambulatorios (Cohorte 2) y, debido a la similitud con la Cohorte 1, en los de la Cohorte 4. La proteína GAA total plasmática, medida por el péptido distintivo T09, aumentó de forma dependiente de la dosis tras dosis únicas ascendentes de cipaglucosidasa alfa 5 mg/kg, 10 mg/kg y 20 mg/kg. En general, la mediana del tiempo de pico de las concentraciones del péptido distintivo T09 ($t_{\text{máx}}$) fue similar en todos los tratamientos y coherente con la duración de la infusión de cipaglucosidasa

de aproximadamente 4 horas. Las exposiciones ($C_{\text{máx}}$ y el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo del fármaco [ABC]) aumentaron de forma dependiente de la dosis. Las exposiciones plasmáticas a la proteína GAA total fueron similares entre los pacientes ambulatorios de la Cohorte 1 y de la Cohorte 3.

5 La exposición plasmática al miglustat aumentó de forma dependiente de la dosis en los pacientes ambulatorios de la Cohorte 1 y 3. El muestreo PK disperso de 48 meses en sujetos de la Cohorte 1 indicó que las exposiciones eran similares a las exposiciones al principio del estudio (Fase 2), y confirmó la ausencia de repercusión de inmunogenicidad en las exposiciones a cipaglucosidasa alfa.

10 La administración de miglustat una hora antes del inicio de la infusión de cipaglucosidasa alfa produjo mayores ABC que cipaglucosidasa alfa 20 mg/kg sola. La semivida en la fase de distribución fue notablemente superior después de la coadministración de miglustat. Miglustat se eliminó rápidamente de la circulación.

15 Los datos de eficacia en los dominios importantes de la enfermedad de Pompe mostraron que la coadministración de cipaglucosidasa alfa de 20 mg/kg en infusión IV y 260 mg de miglustat dio como resultado mejoras clínicamente significativas de la función motora, los PFT y la fuerza muscular. Se demostraron mejoras en sujetos ambulatorios en diversos dominios de eficacia, y las pruebas presentadas en la Tabla 26A respaldan en general el mantenimiento de las mejoras
20 hasta los 48 meses (cuando había datos disponibles).

25

30

Tabla 26A: Resumen de las Evaluaciones de Eficacia en Sujetos Ambulatorios - Cambio con respecto al valor basal en la Fase 3 y Fase 4 en el Mes 24 y 48 - Estudio ATB200-02

Evaluaciones de la respuesta clínica (farmacodinámica y eficacia seleccionadas)	Valor basal medio (DE) y cambio con respecto al valor basal a los 24 y 48 meses								
	Con experiencia con ERT Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16) ^a			Sin tratamiento previo con ERT Cohorte 3 (N = 6) ^a			Global Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (n = 22) ^a		
	BSL	CFB a los 24 meses	CFB a los 48 meses	BSL	CFB a los 24 meses	CFB a los 48 meses	BSL	CFB a los 24 meses	CFB a los 48 meses
6MWD (m)	393.5 (119.66) (n=16)	25.2 (63.30) (n=13)	20.7 (101.84) (n = 9)	396.0 (75.20) (n = 6)	54.4 (36.18) (n = 6)	52.2 (46.59) (n = 4)	394.2 (107.59) (n = 22)	34.4 (56.82) (n=19)	30.4 (87.67) (n=13)
FVC en sedestación (% predicho)	57.4 (17.42) (n = 16)	1.0 (7.96) (n=13)	1.0 (6.42) (n = 6)	57.2 (20.84) (n = 6)	4.7 (5.09) (n = 6)	8.3 (4.50) (n = 4)	57.3 (17.89) (n = 22)	2.2 (7.24) (n=19)	3.9 (6.61) (n=10)
MMT	65.1 (6.46)	2.5 (3.4)	4.0 (3.70)	67.2 (3.7)	2.0 (5.7)	-1.3 (4.9)	65.6 (5.88)	2.4 (4.0)	2.3 (4.7)

Evaluaciones de la respuesta clínica (farmacodinámica y eficacia seleccionadas)	Valor basal medio (DE) y cambio con respecto al valor basal a los 24 y 48 meses								
	Con experiencia con ERT Cohorte 1 + Cohorte 4 (N = 16) ^a			Sin tratamiento previo con ERT Cohorte 3 (N = 6) ^a			Global Cohorte 1 + Cohorte 3 + Cohorte 4 (n = 22) ^a		
	BSL	CFB a los 24 meses	CFB a los 48 meses	BSL	CFB a los 24 meses	CFB a los 48 meses	BSL	CFB a los 24 meses	CFB a los 48 meses
(puntuación total)	(n = 15)	5) (n=13)	(n = 8)	0) (n = 5)	0) (n = 5)	9) (n = 4)	(n = 20)	2) (n=18)	1) (n=12)
GSGC	14.3 (5.22) (n = 16)	-1.6 (5.2) (n=14)	-1.0 (6.02) (n = 9)	12.8 (3.5) (n = 6)	-1.7 (2.0) (n = 6)	-2.4 (2.7) (n = 5)	13.9 (4.79) (n = 22)	-1.7 (4.4) (n=20)	-1.5 (5.0) (n=14)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; BSL = valor basal; CFB = cambio con respecto al valor basal; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC = capacidad vital forzada; GSGC = Marcha, Escalera, maniobra de Gowers y Ensayo de la silla; MMT = ensayo muscular manual; m = mes(es); N = número de sujetos

Nota: Para GSGC, un número negativo indica una mejora.

^a n en el momento basal. Cualquier diferencia en el n en el momento basal se indica entre paréntesis.

Tabla 26B: Resumen de los resultados clínicos para ambulatorios y no ambulatorios

Medidas de los resultados	Pacientes ambulatorios							
	Con experiencia con ERT				Sin tratamiento previo con ERT			
Punto temporal (meses)	12	24	36	48	12	24	36	48
Función motora								
Porcentaje predicho de 6MWD	16	13	12	9	6	6	5	4
n	6.1	5.4	3.4	5.9	10.7	11.0	9.0	11.7
Media (DE)	(7.84)	(10.56)	(14.66)	(17.36)	(3.93)	(5.06)	(7.98)	(7.69)
de CFBL								
6MWD, metros	16	13	12	9	6	6	5	4
n	33.5	25.2	9.8	20.7	57.0	54.4	43.5	52.2
Media (DE)	(49.62)	(63.30)	(85.98)	(101.94)	(29.96)	(36.18)	(45.19)	(46.59)
de CFBL								
Ensayo de caminata de 10 metros, segundos	16	14	12	9	6	6	5	5
n	-0.1	1.0	3.9	0.6	-0.9	-0.5	0.1	0.7
	(1.47)	(3.19)	(12.56)	(1.74)	(0.75)	(1.00)	(0.61)	(1.66)

Media (DE) de CFBL								
Marcha, Escaleras, Gower y Silla n Media (DE) de CFBL	16 -1.3 (4.39)	14 -1.6 (5.20)	12 -1.1 (5.18)	9 -1.0 (6.02)	6 -0.8 (2.23)	6 -1.7 (2.07)	5 -2.0 (2.12)	5 -2.4 (2.70)
<i>Timed Up and Go</i> , segundos n Media (DE) de CFBL	15 -1.5 (2.68)	13 0.1 (2.24)	12 -1.5 (3.68)	9 -0.6 (2.41)	6 -0.7 (1.95)	6 -1.0 (2.00)	5 0.5 (3.59)	5 0.3 (2.33)
Función pulmonar								
Porcentaje predicho de FVC en sedestación n Media (DE) de CFBL	16 -1.2 (5.95)	13 1.0 (7.96)	10 -0.3 (6.68)	6 1.0 (6.42)	6 3.2 (8.42)	6 4.7 (5.09)	5 6.2 (3.35)	4 8.3 (4.50)
Porcentaje predicho de presión inspiratoria máxima % n	16 3.7 (11.6 1)	13 4.5 (20.6 7)	11 -0.5 (22.2 3)	6 -3.8 (5.41)	6 8.0 (15.4 6)	6 18.7 (23.9 0)	5 12.5 (20.7 1)	4 16.1 (17.2 3)

5	Media (DE) de CFBL								
	Porcentaje predicho de presión espiratoria máxima % n	16 9.4 (21.3 7)	13 16.8 (21.8 8)	11 13.7 (26.7 9)	6 17.9 (30.81)	6 11.6 (18.1 6)	6 17.9 (16.2 5)	5 14.2 (20.2 7)	4 24.8 (24.1 5)
	Media (DE) de CFBL								
10	Porcentaje predicho de Presión inspiratoria nasal por olfateo % n	16 2.1 (18.5 6)	13 5.3 (23.8 6)	11 −2.3 (23.6 5)	6 7.3 (21.79)	6 9.4 (13.0 4)	6 8.1 (11.4 8)	5 4.3 (9.30)	4 4.6 (7.76)
	Media (DE) de CFBL								
	Fuerza muscular								
20	Puntuación de MMT de cuerpo inferior n	15 3.1 (2.34)	13 2.1 (2.18)	10 2.5 (3.69)	8 3.5 (2.51)	5 2.8 (4.97)	5 3.0 (3.94)	4 (3.3 (2.75)	4 (1.0) 3.83)
	Media (DE) de CFBL								

5	Puntuación de MMT de cuerpo superior n	15 1.3 (2.52)	13 0.5 (2.30)	11 0.8 (2.75)	8 0.5 (2.00)	6 0.0 (1.67)	6 -1.5 (2.17)	5 1.0 (1.87)	5 -1.4 (2.61)
10	Media (DE) de CFBL								
	Puntuación de MMT total n	15 4.3 (3.20)	13 2.5 (3.45)	10 3.6 (5.23)	8 4.0 (3.70)	5 2.4 (4.39)	5 2.0 (5.70)	4 3.5 (3.00)	4 -1.3 (4.99)
15	Media (DE) de CFBL								
	Resultados informados por los pacientes								
20	Actividad específica de Pompe construida con Rasch n	15 1.3 (2.97)	13 2.2 (1.52)	11 -0.1 (3.24)	9 -0.3 (2.96)	6 2.0 (3.46)	6 2.2 (3.43)	5 1.4 (1.52)	5 -0.6 (5.22)
25	Media (DE) de CFBL								
	Escala de discapacidad de Rotterdam n	15 -0.3 (3.01)	14 -1.1 (3.91)	11 -2.3 (4.44)	9 -2.3 (3.16)	6 -0.4 (2.06)	6 -0.4 (2.14)	5 -1.2 (0.84)	5 -1.3 (2.56)

5	Media (DE) de CFBL								
	Escala de gravedad de fatiga	15 -2.9 (10.5 5)	14 -3.1 (8.82)	11 1.4 (16.7 4)	9 -3.4 (10.10)	6 -6.3 (7.06)	6 -5.5 (11.4 0)	5 -6.2 (10.5 7)	5 1.2 (7.95)
	Media (DE) de CFBL								
10	Biomarcadores								
15	Creatina cinasa sérica, U/l n % de media de CFBL (DE)	15 -20.5 (35.3 8)	15 -29.9 (21.6 7)	11 -30.0 (35.5 9)	9 -35.3 (27.11)	6 -50.6 (20.1 8)	6 -46.5 (19.3 2)	5 -50.7 (14.7 0)	5 -35.9 (36.1 2)
20	Hex4 urinario, mmol/mol de creatina n % de media de CFBL (DE)	16 -36.1 1 (20.4 0)	14 -11.8 (68.5 7)	12 -35.1 (42.2 0)	9 -4.0 (82.57)	6 -40.7 (40.6 0)	6 -49.5 (48.0 6)	5 -39.3 (59.1 9)	5 -39.9 (44.6 8)

25	Medidas de los resultados	Pacientes no ambulatorios			
		Con experiencia con ERT			
	Punto temporal (meses)	12	24	36	48
	Función motora	n/a	n/a	n/a	n/a
	Porcentaje predicho de 6MWD n	n/a	n/a	n/a	n/a

30

	Media (DE) de CFBL				
	6MWD, metros	n/a	n/a	n/a	n/a
	n				
5	Media (DE) de CFBL				
	Ensayo de caminata de 10 metros, segundos	n/a	n/a	n/a	n/a
	n				
	Media (DE) de CFBL				
10	Marcha, Escaleras, Gower y Silla	n/a	n/a	n/a	n/a
	n				
	Media (DE) de CFBL				
	<i>Timed Up and Go</i> , segundos	n/a	n/a	n/a	n/a
	n				
15	Media (DE) de CFBL				
	Función pulmonar				
	Porcentaje predicho de FVC en sedestación	2	1	2	1
	n	2.5	2.0 (N/A)	-2.0	-1.0
20	Media (DE) de CFBL	(9.19)		(7.07)	(N/A)
	Porcentaje predicho de presión inspiratoria máxima %	3	2	3	2
	n	1.1	3.3	-0.4	3.9
	Media (DE) de CFBL	(4.71)	(1.39)	(5.20)	(2.35)
25	Porcentaje predicho de presión espiratoria máxima %	3	2	3	2
	n	10.6	21.1	11.5	21.0
	Media (DE) de CFBL	(10.28)	(25.72)	(22.30)	(27.00)
30	Porcentaje predicho de Presión inspiratoria nasal por olfateo %	3	2	3	2

	n	4.5	7.8	-0.4	-4.1
	Media (DE) de CFBL	(13.96)	(13.65)	(4.03)	(3.26)
	Fuerza muscular				
5	Puntuación de MMT de cuerpo inferior	N/A	N/A	N/A	N/A
	n	N/A	N/A	N/A	N/A
	Media (DE) de CFBL				
10	Puntuación de MMT de cuerpo superior	4	4	4	N/A
	n	1.3	2.0	-0.8	N/A
	Media (DE) de CFBL	(3.40)	(6.63)	(10.72)	
15	Puntuación de MMT total	4	4	4	N/A
	n	1.3	2.0	-0.8	N/A
	Media (DE) de CFBL	(3.40)	(6.63)	(10.72)	
	Resultados informados por los pacientes				
20	Actividad específica de Pompe construida con Rasch	5	4	4	2
	n	1.4	0.8	0.8	2.0
	Media (DE) de CFBL	(1.95)	(0.96)	(0.96)	(4.24)
25	Escala de discapacidad de Rotterdam	4	4	4	2
	n	0.6	0.6	0.6	-1.5
	Media (DE) de CFBL	(3.15)	(4.66)	(1.67)	(4.95)
30	Escala de gravedad de fatiga	5	5	5	2
	n	-9.2	-23.0	-10.0	-12.0
	Media (DE) de CFBL	(11.37)	(17.78)	(9.35)	(15.56)

5	Biomarcadores				
	Creatina cinasa sérica, U/l				
	n	5	5	4	2
	% de media de CFBL (DE)	-20.8 (8.84)	-25.3 (16.83)	-27.1 (32.43)	-23.7 (23.90)
	Hex4 urinario, mmol/mol de creatina				
	n	5	5	4	2
10	% de media de CFBL (DE)	-15.6 (16.67)	-34.1 (14.08)	-36.5 (23.13)	-9.4 (1.71)

Tabla 26C: Resumen de la impresión global de cambio del sujeto y del médico a los 48 meses de seguimiento

	Ambulatorio Con experiencia con ERT		Con experiencia con ERT no ambulatorios	Ambulatorio Sin tratamiento previo con ERT
	Cohorte 1 N=7	Cohorte 4 N=6	Cohorte 2 N=5	Cohorte 3 N= 6
SGIC; Bienestar físico global				
Mejora, n (%)	6 (85.7)	4 (66.7)	3 (60.0)	5 (83.3)
Sin cambios, n (%)	1 (14.3)	1 (16.7)	2 (40.0)	1 (16.7)
Descenso, n (%)	0 (0)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)
PGIC				
Mejora, n (%)	4 (57.1)	2 (33.3)	3 (60.0)	6 (100.0)
Sin cambios, n (%)	3 (42.9)	4 (66.7)	2 (40.0)	0 (0)

Descenso, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
-----------------	-------	-------	-------	-------

Ejemplo 19: Estudio ATB200-03

El Estudio ATB200-03 es el Estudio pivotal de Fase 3 del programa clínico y la eficacia de cipaglucosidasa alfa/miglustat se basa principalmente en los resúmenes de los resultados de eficacia primaria y secundaria clave de este estudio.

Un total de 123 sujetos se aleatorizaron y dosificaron (95 con experiencia con ERT y 28 sin tratamiento previo con ERT) y 117 completaron el estudio (con 6 interrupciones en la población con experiencia con ERT) en 62 centros de 24 países. La duración media (DE) de la exposición fue similar entre los sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat y alglucosidasa alfa/placebo (11.8 (1.80) meses y 12.0 (0.71) meses, respectivamente) con una duración máxima de 14.8 meses y 12.9 meses, respectivamente. La tasa de abandonos fue muy baja y los 117 sujetos que completaron el estudio se inscribieron posteriormente en la extensión abierta, el Estudio ATB200-07.

Los datos demográficos iniciales eran representativos de la población y, en general, similares entre los grupos de tratamiento con cipaglucosidasa alfa/miglustat y alglucosidasa alfa/placebo. La mayoría de los sujetos (95 [77.2 %]) tenían experiencia con ERT, con una duración media (DE) del tratamiento con ERT de 7.4 (3.45) años. Los sujetos recibieron ERT previa durante en promedio 7.5 años en el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat y de 7.1 años en el grupo de alglucosidasa alfa/placebo.

Los valores basales de 6MWD y FVC, así como la puntuación de MMT y GSGC fueron representativos de la población y, en general, similares en los grupos de tratamiento. La media (DE) de 6MWD basal fue de 357.9 (111.84) metros y 350.1 (119.78) metros, respectivamente, para los sujetos de los grupos cipaglucosidasa alfa/miglustat y alglucosidasa alfa/placebo. Dentro de cada grupo de tratamiento, la 6MWD y la FVC basales fueron mayores en los sujetos sin tratamiento previo con ERT que en los sujetos con experiencia con ERT (Tabla 27).

Tabla 27: 6MWD basal y % predicho de FVC - Estudio ATB200-03

Criterio de valoración		Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat		Alglucosidasa Alfa	
6MWD, m		(N = 85)		(N = 38)	
5	Media (DE)	357.93 (111.843)		350.14 (119.776)	
	Mediana (mín, máx)	359.50 (79.0, 575.0)		358.45 (112.5, 623.0)	
		Con experiencia con ERT	Sin tratamiento previo con ERT	Con experiencia con ERT	Sin tratamiento previo con ERT
10	n	65	20	30	8
	Media (DE)	346.94 (110.213)	393.64 (112.388)	334.62 (114.023)	408.34 (130.628)
	Mediana (mín, máx)	352.50 (79.0, 557.5)	375.15 (154.0, 575.0)	343.50 (112.5, 532.3)	384.25 (201.0, 623.0)
15					
20	% predicho de FVC, en sedestación	N = 85		N = 38	
	Media (DE)	70.74 (19.573)		70.04 (21.301)	
	Mediana (mín, máx)	70.00 (30.5, 132.5)		71.25 (31.5, 122.0)	
25		Con experiencia con ERT	Sin tratamiento previo con ERT	Con experiencia con ERT	Sin tratamiento previo con ERT
	n	65	20	30	8

Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat		Alglucosidasa Alfa	
6MWD, m	(N = 85)		(N = 38)	
Media (DE)	67.85 (19.052)	80.15 (18.689)	67.48 (20.993)	79.63 (20.962)
Mediana (mín, máx)	68.00 (30.5, 132.5)	82.25 (48.0, 111.0)	69.00 (31.5, 122.0)	88.50 (46.5, 98.0)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC = capacidad vital forzada; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada población; n = número de sujetos analizados en el momento basal; SD = desviación estándar

El ensayo del criterio de valoración primario se realizó en primer lugar con un nivel de significación de 0.025 unilateral y, si resultaba significativa, los criterios de valoración secundarios ordenados se sometieron a un ensayo similar con el mismo nivel de significación. La significación estadística de los criterios de valoración secundarios clave se interpretó siguiendo un orden de ensayo jerárquico, cada uno con un nivel alfa unilateral de 0.025. Si en algún momento no se rechazara la hipótesis nula, ni esa comparación ni ninguna otra por debajo de ella podrían reivindicarse como estadísticamente significativas en cuanto a la superioridad, y los análisis posteriores consistirían en evaluar la significación nominal en cuanto a la superioridad. Los análisis primarios de eficacia se realizaron usando el modelo de efectos mixtos para medidas repetidas (MMRM) para la 6MWD en la población observada por intención de tratar (ITT) que incluye todos los datos observados disponibles sin ninguna imputación de datos perdidos (ITT-OBS) y análisis de covarianza (ANCOVA) para todos los demás criterios de valoración en la población observada por intención de tratar (ITT-LOCF). Se especificó un ANCOVA no paramétrico basado en la aleatorización como primer análisis de sensibilidad para la 6MWD y FVC. Este análisis no paramétrico debía realizarse formalmente si los análisis paramétricos primarios no cumplían los supuestos de normalidad. A efectos

de presentación de los datos en el presente documento, a continuación se indican los valores p bilateral, a menos que se especifique lo contrario.

En la Tabla 28 se resumen los resultados de la variable principal y de las 6 variables secundarias clave de la población de ITT global, que incluye tanto a los sujetos con experiencia con ERT como a los que no la tienen. La 6MWD mostró una mejora superior con cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo, pero no alcanzó significación estadística para la superioridad sobre el tratamiento aprobado ($p=0.608$). En el % predicho de FVC, cipaglucosidasa alfa/miglustat demostró una diferencia nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico ($p=0.048$) y clínicamente significativa de superioridad frente a alglucosidasa alfa/placebo en la población global ITT.

Los resultados de otros criterios de valoración secundarios clave para la función motora, la función pulmonar, la fuerza muscular y los PRO favorecieron numéricamente a cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo, que muestran también GSGC una significación estadística nominal sobre la superioridad.

Tabla 28: Resumen de los resultados de los criterios de valoración primarios y secundarios clave (Población de ITT) - Estudio ATB200-03

Nivel Criterio de valoración	Número de observaciones utilizadas para el análisis en Cipaglucosida Alfa/Miglustat	Número de observaciones utilizadas para el análisis en Alglucosida Alfa/Placebo	Media de MC de diferencia de tratamiento (EE) ^a	IC del 95 % de la diferencia	Valor de p bilateral
Criterio de valoración primario ^b					
CHG hasta la Semana 52 en 6MWD (m)	81	37	5.33 (10.367)	(-15.21, 25.88)	0.608
Primer criterio de valoración secundario clave ^c					
CHG hasta la Semana 52 en % predicho de FVC en sedestación	84	38	2.32 (1.162)	(0.02, 4.62)	0.048

Nivel Criterio de valoración	Número de observaciones utilizadas para el análisis en Cipaglucosida Alfa/Miglustat	Número de observaciones utilizadas para el análisis en Alglucosidasa Alfa/Placebo	Media de MC de diferencia de tratamiento (EE) ^a	IC del 95 % de la diferencia	Valor de p bilateral
Criterios de valoración secundarios clave adicionales					
CHG hasta la Semana 52 en la puntuación de extremidades inferiores de MMT	80	35	0.99 (0.716)	(-0.43, 2.41)	0.16 8
CHG hasta la Semana 26 en 6MWD (m)	85	38	5.46 (6.484)	(-7.39, 18.30)	0.40 2

Tabla 28: Resumen de los resultados de los criterios de valoración primarios y secundarios clave (Población de ITT) - Estudio ATB200-03 (continuación)

Nivel Criterio de valoración	Número de observacio nes utilizadas para el análisis en Cipaglucos idasa Alfa/Miglus tat	Número de observacio nes utilizadas para el análisis en Alglucosid asa Alfa/Placeb o	Media de MC de diferencia de tratamient o (EE) ^a	IC del 95 % de la diferencia	Valor de p bilate ral
CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Función física ^d	84	38	1.37 (1.714)	(-2.03, 4.77)	0.426
CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Fatiga ^d	85	38	0.13 (1.079)	(-2.00, 2.27)	0.903
CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de GSGC	72	31	-1.30 (0.524)	(-2.34, - 0.26)	0.015

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; FVC = capacidad vital forzada; GSGC = Marcha, Escaleras, maniobra de Gowers y Ensayo de la silla; ITT = intención de tratar; ITT-OBS = población por intención de tratar que incluye todos los datos observados disponibles sin ninguna imputación de datos perdidos en la semana 52; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; MMRM = modelo de efectos mixtos de medidas repetidas; MMT = ensayo muscular manual; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; EE = error estándar

a Cipaglucoasidasa alfa/miglustat - alglucoasidasa alfa/placebo.

b Se usó el enfoque de MMRM para el análisis primario del criterio de valoración primario basado en la población de ITT-OBS.

c Para el análisis primario de los criterios de valoración secundarios clave se usó el modelo ANCOVA basado en la población de ITT-LOCF.

d La puntuación total se calculó sumando las puntuaciones (1 a 5) de todos los puntos.

Debe tenerse en cuenta que hubo puntos de datos aberrantes del sujeto 4005-2511, un sujeto sin tratamiento previo con ERT, en el brazo de comparación que resultaron ser valores atípicos muy influyentes y distorsionaron las estimaciones de cambio medio calculadas a partir de los datos en bruto. El punto de datos de este único sujeto representó aproximadamente el 56 % del cambio medio con respecto al valor basal en la semana 52 en el grupo de comparación (es decir, alglucoasidasa alfa/placebo) e infló la varianza en el grupo de comparación hasta aproximadamente 6 veces la del grupo de cipaglucoasidasa alfa/miglustat.

Se realizó un análisis preespecificado de exclusión de valores atípicos en la 6MWD en la Población de ITT global que excluía valores atípicos con residuos externamente estudiados > 3 en magnitud y los sujetos tratados con el brazo de cipaglucoasidasa alfa/miglustat caminaron en promedio 14 metros más que los sujetos del brazo de alglucoasidasa alfa/placebo (p=0.100) (Tabla 29). Estos

resultados son coherentes con los resultados de la Población de ITT global en la que se excluyó al Sujeto 4005-2511.

Tabla 29: Análisis de sensibilidad para el criterio de valoración principal: ANCOVA para el cambio con respecto al valor basal en 6MWD (metros) en la semana 52 (Población de ITT-LOCF excluyendo valores atípicos con residuos estudiados externamente > 3) - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)	Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^a		
n	85	37
Media de MC (EE)	20.91 (4.519)	6.95 (6.951)
IC del 95 % de Media de MC	(11.96, 29.86)	(-6.82, 20.72)
Diferencia en medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		13.96 (8.421)
IC del 95 % de la diferencia		(-2.72, 30.64)
Valor de p bilateral		0.100

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; ANCOVA = análisis de covarianza; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT-LOCF = Intención de tratar-Última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; EE = error estándar

Nota: El ANCOVA se basó en ITT-LOCF excluyendo los valores atípicos con residuos externamente estudiados > 3 en magnitud (valor absoluto).

^a Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la 6MWD basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT) y el género.

Se comprobaron los supuestos para el análisis por MMRM de 6MWD, incluido el supuesto de normalidad. A partir del examen del diagrama de diagnóstico y del ensayo de Shapiro-Wilk, la hipótesis de normalidad para el análisis por MMRM se incumplió claramente (ensayo de Shapiro-Wilk $p < 0.01$). Por lo tanto, se realizó un análisis de covarianza no paramétrico basado en la aleatorización, de acuerdo con lo especificado, para proporcionar una mejor estimación del efecto del tratamiento. El análisis de covarianza no paramétrico basado en la aleatorización arrojó una diferencia media de tratamiento por mínimos cuadrados (IC del 95 %) de 6.61 (-15.12, 28.35), con un valor de p de 0.551.

Para respaldar la importancia clínica y la consistencia del efecto del tratamiento con cipaglucosidasa alfa/miglustat sobre los criterios de valoración primarios y secundarios clave de 6MWD y % predicho de FVC, ambos dominios importantes de la enfermedad en pacientes con enfermedad de Pompe, se realizó un ensayo global *a posteriori* (Tabla 30). Este ensayo global se realizó clasificando la respuesta de cada sujeto por separado para cada uno de estos 2 criterios de valoración desde la mejora inferior hasta la superior, sumando los 2 rangos para cada sujeto y analizando los rangos sumados mediante el ensayo de suma de rangos de Wilcoxon para evaluar la superioridad de cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo. El ensayo global mostró una mejora superior en la 6MWD o de la FVC en los pacientes tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.022$). Este ensayo global respalda los resultados observados en cada uno de estos criterios de valoración por separado en el conjunto de la Población de ITT estudiada.

Tabla 30: Ensayo de suma de rangos de Wilcoxon basado en la suma de rangos para 6MWD y FVC (Población de ITT) - Estudio ATB200-03

Tratamiento	N	Suma de puntuaciones	Puntuación media	Estadística	Estadística Z	Valor de p bilateral ^a
Alglucosidasa alfa/placebo	38	1915.5	50.4	1916	-2.3	0.022
Cipaglucosidasa alfa/miglustat	84 ^b	5587.5	66.5			

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; FVC = capacidad vital forzada; ITT = intención de tratar; N = número de sujetos

Nota: Este ensayo global se realizó clasificando la respuesta de cada sujeto (es decir, el cambio con respecto al valor basal hasta la semana 52) por separado para cada criterio de valoración, de mejora inferior a mejora superior, sumando los 2 rangos para cada sujeto y analizando los rangos sumados usando el ensayo de suma de rangos de Wilcoxon.

^a Los valores de P proceden del ensayo de Wilcoxon para 2 muestras con aproximación t.

^b Para el % predicho de FVC (N = 84), el sujeto 2301-1421 tenía un resultado basal del 70.5 %, pero posteriormente se retiró del estudio debido a que no quería desplazarse al lugar y, por lo tanto, fue excluido del análisis.

Después del bloqueo de la base de datos, las discusiones con el investigador principal revelaron que el sujeto 4005-2511 deliberadamente tuvo un rendimiento inferior en la 6MWD y en los ensayos de función pulmonar en el momento del cribado para garantizar que cumpliría los criterios de inclusión y conseguir entrar en el estudio. Se realizó un análisis de sensibilidad preespecificado que excluía los puntos de datos atípicos, lo que excluyó los puntos de datos de este sujeto. Dado

que el sujeto admitió un rendimiento inferior en su ensayo de cribado, sus resultados clínicamente inverosímiles y el análisis de sensibilidad de valores atípicos preespecificado que indicaba diferencias sustanciales con respecto al análisis de ITT que incluía al sujeto, todos los análisis de eficacia de la población de ITT se realizaron con y sin este sujeto atípico. Los detalles de este sujeto y los resultados de los análisis secundarios con este sujeto incluido en la población global y en la población sin tratamiento previo con ERT pueden consultarse en el CSR del Estudio ATB200-03. Cabe señalar que el sujeto atípico pertenecía a la población sin tratamiento previo con ERT. Por lo tanto, los resultados del análisis en la población con experiencia con ERT no se vieron afectados.

Criterio de valoración primario: 6MWD

En el estudio ATB200-03, el cambio medio (DE) en 6MWD (metros) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de 20.6 (42.27) metros para el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat en comparación con 8.0 (40.56) metros para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Por lo tanto, los sujetos tratados con cipaglicosidasa alfa demostraron mejoras a lo largo del tiempo en 6MWD, hasta 52 semanas. De forma similar a la población de ITT global, incluso después de excluir el valor atípico, se violó el supuesto de normalidad para el análisis por MMRM basándose en el examen del diagrama de diagnóstico y el ensayo de Shapiro-Wilk (valor de p del ensayo de Shapiro-Wilk < 0.01). Por lo tanto, el análisis no paramétrico basado en ANCOVA se realizó como en la población de ITT global, incluyendo el valor atípico.

El análisis de covarianza no paramétrico basado en la aleatorización tuvo una media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) de 13.66 (-1.17, 28.48), con un valor de p de 0.071.

La Tabla 31 resume el cambio medio en 6MWD (metros) por visita (Población de ITT) y análisis por MMRM (Población de ITT-OBS) para la Población con experiencia con ERT. La Tabla 31 también resume el análisis de covarianza no paramétrico basado en la aleatorización para el cambio en 6MWD en la Semana 52

para los sujetos en la Población de ITT-LOCF. La FIG. 23B muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 31: Resumen del cambio en 6MWD (metros) por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y análisis por MMRM (Población de ITT-OBS excluyendo al Sujeto 4005-2511) - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	85	--	37	--
Media (DE)	357.93 (111.843)	--	350.95 (121.322)	--
Mediana (Q1, Q3)	359.50 (298.90, 418.50)	--	365.50 (285.50, 420.00)	--
Mín, máx	79.0, 575.0	--	112.5, 623.0	--
Semana 52 - Observado				
n	81	81	36	36
Media (DE)	376.41 (122.925)	20.56 (42.266)	359.70 (137.361)	8.02 (40.564)
Mediana (Q1, Q3)	380.50 (300.00, 465.00)	12.50 (-3.75, 43.50)	371.75 (262.50, 457.50)	3.15 (-21.75, 22.78)
Mín, máx	79.6, 601.5	-59.5, 173.5	67.0, 648.6	-55.6, 127.0
Semana 52 - LOCF				
n	85	85	37	37

		Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
		Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Media (DE)	378.72 (123.348)	20.79 (42.773)	358.19 (135.750)	7.24 (40.277)
10	Mediana (Q1, Q3)	380.50 (300.00, 473.00)	12.50 (-6.90, 43.50)	370.00 (263.00, 446.50)	1.40 (-21.00, 20.00)
	Mín, máx	79.6, 601.5	-59.5, 173.5	67.0, 648.6	-55.6, 127.0
Estimación y comparación de los parámetros de MMRM en la Semana 52 ^b					
15	n	81		36	
	Media de MC (EE)	21.31 (4.649)		7.10 (7.043)	
	IC del 95 % de Media de MC	(12.10, 30.53)		(-6.86, 21.06)	
20	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)			14.21 (8.481)	
	IC del 95 % de la diferencia			(-2.60, 31.02)	
	Valor de p bilateral			0.097	
25	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA no paramétrico ^c				
	Diferencia en media de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa - alglucosidasa alfa/placebo)			13.66 (7.564)	
	IC del 95 % de la diferencia			(-1.17, 28.48)	
	Valor de p bilateral			0.071	
30					

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; ANCOVA = análisis de covarianza; CHG
 = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de
 reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; ITT-OBS = población intención de
 5 tratar que incluye todos los datos observados disponibles sin ninguna imputación de
 datos perdidos en la semana 52; LOCF = última observación trasladada; MC =
 mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; MMRM = modelo de efectos
 mixtos para medidas repetidas; N = número de sujetos en cada grupo de
 tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 =
 10 tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

^a El valor basal fue la media de los 2 últimos valores obtenidos en la
 fecha de la primera dosis o antes.

^b Para el análisis se usó el enfoque de MMRM (mediante estimación de
 máxima verosimilitud restringida). El modelo incluía términos para el tratamiento,
 15 la 6MWD basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el
 estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT),
 el género, el tiempo y la interacción tratamiento-tiempo. Se usó el tiempo como
 medida repetida y se aplicó un enfoque de covarianza no estructurada.

^c ANCOVA no paramétrico comparado entre los grupos de tratamiento,
 20 ajustando por 6MWD basal, edad, altura, peso (todas como covariables continuas),
 estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT)
 como estratos, y género.

Criterio de valoración secundario: % predicho de FVC en sedestación

El primer criterio de valoración secundario clave fue el % predicho de FVC en
 25 sedestación. En la FVC, cipaglucoasidasa alfa/miglustat demostró una mejora
 nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico y una diferencia
 clínicamente significativa de superioridad frente a alglucoasidasa alfa/placebo en la
 población global ($p=0.023$). Cipaglucoasidasa alfa/miglustat disminuyó
 significativamente la tasa de deterioro respiratorio en los sujetos tratados con
 30 cipaglucoasidasa alfa/miglustat, que mostraron un declive absoluto del 0.9 % en

comparación con un declive absoluto del 4.0 % en los sujetos tratados con alglucosidasa alfa/placebo después de 52 semanas.

La Tabla 32 resume el cambio medio en la FVC por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (para datos con distribución normal). La FIG. 23B muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 32: Resumen del cambio en el % predicho de FVC en sedestación por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Excluyendo al sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	85		37	
Media (DE)	70.74 (19.573)		69.68 (21.475)	
Mediana (Q1, Q3)	70.00 (56.00, 84.00)		71.00 (50.00, 89.00)	
Mín, máx	30.5, 132.5		31.5, 122.0	
Semana 52 - LOCF				
n	84 ^b	84	37	37
Media (DE)	69.81 (19.861)	-0.93 (6.231)	65.73 (21.109)	-3.95 (4.892)
Mediana (Q1, Q3)	69.00 (57.00, 82.00)	-1.00 (-5.00, 4.00)	69.00 (49.00, 80.00)	-3.00 (-6.50, 0.00)
Mín, máx	30.0, 137.0	-17.0, 14.0	28.0, 108.0	-19.5, 2.0

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Estimación y comparación de parámetros de ANCOVA en la Semana 52^c				
n	84		37	
Media de MC (EE)	-1.04 (0.624)		-3.70 (0.953)	
IC del 95 % de las medias de MC	(-2.28, 0.19)		(-5.59, -1.81)	
Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)			2.66 (1.156)	
IC del 95 % de la diferencia			(0.37, 4.95)	
Valor de p bilateral			0.023	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC = capacidad vital forzada; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; SD = desviación estándar; EE = error estándar

^a El valor basal fue la media de los 2 últimos valores obtenidos en la fecha de la primera dosis o antes.

^b Para el % predicho de FVC (N = 84), el sujeto 2301-1421 tenía un resultado basal del 70.5 %, pero posteriormente se retiró del estudio debido a que no quería desplazarse al lugar y, por lo tanto, fue excluido del análisis.

^c Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA basado en los datos observados, incluyendo los términos de tratamiento, % predicho de FVC en sedestación basal, edad, altura, peso (todas ellas como covariables continuas), estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT) y género

El ensayo global también se realizó en los criterios de valoración primarios y secundarios clave de 6MWD y FVC excluyendo al sujeto atípico (Tabla 33). Los resultados de este ensayo *a posteriori* respaldan aún más la importancia y consistencia del efecto del tratamiento con cipaglucoasidasa alfa/miglustat sobre la 6MWD y la FVC en la Población de ITT global.

Tabla 33: Ensayo de suma de rangos de Wilcoxon basada en la suma de rangos para 6MWD y % predicho de FVC (excluyendo al Sujeto 4005-2511) - Estudio ATB200-03

Tratamiento	N	Suma de puntuaciones	Puntuación media	Estadística	Estadística Z	Valor de p bilateral ^a
Alglucosidasa alfa/placebo	37	1793.5	48.5	1794	-2.6	0.010
Cipaglucoasidasa alfa/miglustat	84 ^b	5587.5	66.5			

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; FVC = capacidad vital forzada; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles

Nota: Este ensayo global se realizó clasificando la respuesta de cada sujeto (es decir, el cambio con respecto al valor basal hasta la semana 52) por separado para cada criterio de valoración, de mejora inferior a mejora superior, sumando los 2 rangos para cada sujeto y analizando los rangos sumados usando el ensayo de suma de rangos de Wilcoxon.

^a Los valores de P proceden del ensayo de Wilcoxon para 2 muestras con aproximación t.

^b Para el % predicho de FVC (N = 84), el sujeto 2301-1421 tenía un resultado basal del 70.5 %, pero posteriormente se retiró del estudio debido a que no quería desplazarse al lugar y, por lo tanto, fue excluido del análisis.

Puntuación de extremidades inferiores de MMT

En el Estudio ATB200-03, el cambio medio (DE) en la puntuación de extremidades inferiores de MMT con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora numérica de 1.6 (3.78) para el grupo de cipaglucoosidasa alfa/miglustat en comparación con 0.9 (2.58) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo, aunque no se alcanzó la superioridad estadística en esta evaluación de la fuerza muscular (p=0.191).

La Tabla 34 resume el cambio en la puntuación de extremidades inferiores de MMT por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y el modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF). La FIG. 28 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 34: Resumen del cambio en la puntuación de extremidades inferiores de MMT por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Excluyendo al sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucoosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	84		34	
Media (DE)	27.96 (5.757)		27.65 (6.169)	

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Mediana (Q1, Q3)	28.00 (24.00, 32.00)		28.00 (24.00, 32.00)
	Mín, máx	15.0, 39.0		14.0, 40.0
	Semana 52 - LOCF			
10	n	80	80	34
	Media (DE)	29.73 (6.042)	1.56 (3.783)	28.53 (6.999)
	Mediana (Q1, Q3)	30.00 (25.00, 35.00)	1.00 (0.00, 4.00)	29.00 (24.00, 34.00)
	Mín, máx	14.0, 40.0	-10.0, 18.0	10.0, 40.0
15	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b			
	n	80	34	
	Media de MC (EE)	1.64 (0.388)	0.68 (0.603)	
20	IC del 95 % de las medias de MC	(0.87, 2.41)	(-0.51, 1.88)	
25	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		0.96 (0.727)	
	IC del 95 % de la diferencia		(-0.48, 2.40)	
	Valor de p bilateral		0.191	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC =

intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación arrastrada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; MMT = ensayo muscular manual; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación total de la fuerza de las extremidades inferiores de MMT incluye las siguientes 8 partes del cuerpo: flexión de cadera derecha/izquierda, abducción de cadera derecha/izquierda, flexión de rodilla derecha/izquierda y extensión de rodilla derecha/izquierda. La puntuación de MMT oscila entre 0 y 40, y las puntuaciones más bajas indican una fuerza muscular más débil.

^a El valor basal fue el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación basal de extremidades inferiores de MMT, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT) y el género.

6MWD en la Semana 26

Los resultados de la semana 26 coincidieron en general con los de la semana 52. Para el modelo ANCOVA, la media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) fue de 8.17 (-4.24, 20.57) metros, con un valor de p de 0.195.

PROMIS-Función física

En el Estudio ATB200-03, el cambio medio (DE) en la puntuación total de PROMIS-Función física con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de 1.9 (7.50) para el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat en comparación con 0.2 (10.82) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. PROMIS-Función física mostró una mejora numéricamente superior en los sujetos tratados con cipaglicosidasa alfa/miglustat en comparación con los sujetos tratados con alglucosidasa alfa/placebo, pero estas mejoras no alcanzaron la superioridad estadística (p=0.276).

La Tabla 35 resume el cambio medio en la puntuación total del Formulario corto 20 a PROMIS-Función física por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 30 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 35: Resumen del cambio en el Formulario corto 20a de PROMIS-función física por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Excluidos los sujetos 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	84		37	
Media (DE)	66.86 (12.261)		67.97 (13.090)	
Mediana (Q1, Q3)	67.00 (60.00, 75.50)		67.00 (59.00, 74.00)	
Mín, máx	37.0, 96.0		44.0, 97.0	
Semana 52 - LOCF				
n	84	84	37	37
Media (DE)	68.80 (12.954)	1.94 (7.498)	68.16 (16.269)	0.19 (10.819)
Mediana (Q1, Q3)	68.00 (59.50, 77.00)	0.00 (-2.50, 6.00)	69.00 (56.00, 79.00)	-1.00 (-6.00, 4.00)
Mín, máx	36.0, 99.0	-14.0, 28.0	37.0, 97.0	-30.0, 30.0
Estimación de parámetros de ANCOVA y comparación en la Semana 52 ^b				
n	84		37	

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Media de MC (EE)	1.98 (0.921)	0.11 (1.406)	
10	IC del 95 % de las medias de MC	(0.15, 3.80)	(-2.68, 2.89)	
15	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		1.87 (1.706)	
	IC del 95 % de la diferencia		(-1.51, 5.25)	
	Valor de p bilateral		0.276	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

ANCOVA = análisis de covarianza; IC = intervalo de confianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; SD = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación total está en el intervalo de 20 a 100, y una puntuación más alta indica una menor repercusión en la función física.

^a El valor basal fue el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de PROMIS-Función

física basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT) y el género.

PROMIS-Fatiga

El cambio medio (DE) en la puntuación total de PROMIS-Fatiga con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de -1.9 (0.59) para el grupo de cipaglucoasida alfa/miglustat en comparación con -1.9 (0.90) para el grupo de alglucoasida alfa/placebo. PROMIS-Fatiga mostró una mejora similar entre los sujetos tratados con cipaglucoasida alfa/miglustat y alglucoasida alfa/placebo ($p=0.970$).

La Tabla 36 resume el cambio medio en la puntuación total de PROMIS-Fatiga por visita (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 para la Población de ITT excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 31 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 36: Resumen del cambio en el Formulario corto 8a de PROMIS-Fatiga por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y puntuación total de modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Excluidos los sujetos 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucoasida Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucoasida Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	85		37	
Media (DE)	22.26 (8.304)		21.08 (6.098)	
Mediana (Q1, Q3)	22.00 (16.00, 29.00)		21.00 (17.00, 24.00)	

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Mín, máx	8.0, 40.0	8.0, 34.0	
Semana 52 - LOCF				
	n	85	37	37
	Media (DE)	20.24 (7.492)	-2.02 (5.763)	19.41 (6.735)
10	Mediana (Q1, Q3)	19.00 (16.00, 26.00)	-1.00 (-5.00, 2.00)	18.00 (15.00, 24.00)
	Mín, máx	8.0, 40.0	-19.0, 12.0	-1.00 (-5.00, 3.00)
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b				
	n	85	37	
15	Media de MC (EE)	-1.90 (0.585)	-1.94 (0.901)	
20	IC del 95 % de las medias de MC	(-3.06, -0.74)	(-3.73, -0.15)	
	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		0.04 (1.092)	
25	IC del 95 % de la diferencia		(-2.12, 2.20)	
	Valor de p bilateral		0.970	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx =

máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

5 Nota: Si faltaban parcialmente puntuaciones postbasales pero se disponía de $\geq 50\%$ de puntos, la puntuación total se calculó como la media de los puntos no faltantes multiplicada por el número total de puntos previstos.

10 Nota: La puntuación total osciló entre 8 y 40, lo que indica la puntuación más baja una menor repercusión de la fatiga, y se calculó sumando las puntuaciones (de 1 a 5) de los 8 puntos.

^a El valor basal fue el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

15 ^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de PROMIS-Fatiga basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT) y el género.

GSGC

20 En el Estudio ATB200-03, el cambio medio (DE) en la puntuación total de GSGC con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de -0.53 (2.54) para el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat en comparación con 0.77 (1.81) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. En la población global, GSGC mostró mejoras nominalmente significativas tras el tratamiento con cipaglicosidasa alfa/miglustat en comparación con alglucosidasa alfa, con un valor de p de 0.009.

25 La Tabla 37 resume el cambio medio en la puntuación total de GSGC por visita (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 para la Población de ITT excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 29 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

30

Tabla 37: Resumen del cambio en la puntuación total de GSGC por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Excluyendo al sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

5		CipaglucoSIDasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
		Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
10	Valor basal ^a				
	n	74		32	
	Media (DE)	14.51 (5.171)		14.50 (4.718)	
	Mediana (Q1, Q3)	16.00 (12.00, 18.00)		16.00 (10.50, 18.00)	
	Mín, máx	4.0, 24.0		4.0, 22.0	
15	Semana 52 - LOCF				
	n	72	72	30	30
	Media (DE)	13.74 (5.371)	-0.53 (2.542)	15.00 (4.488)	0.77 (1.813)
	Mediana (Q1, Q3)	15.00 (9.50, 18.00)	0.00 (-2.00, 1.00)	16.00 (13.00, 18.00)	0.50 (0.00, 2.00)
	Mín, máx	4.0, 24.0	-8.0, 4.0	5.0, 22.0	-4.0, 5.0
20	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b				
	n	72		30	
	Media de MC (EE)	-0.567 (0.280)		0.847 (0.440)	
	IC del 95 % de las medias de MC	(-1.123, -0.010)		(-0.026, 1.720)	
30					

5	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 85)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 37)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		-1.414 (0.528)	
	IC del 95 % de la diferencia		(-2.463, -0.364)	
10	Valor de p bilateral		0.009	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; GSGC = Marcha, Escaleras, maniobra de Gowers y Ensayo de la silla; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; SD = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación de la marcha se basó en el ensayo de caminar 10 m; la puntuación de las escaleras se basó en que el sujeto subiera escaleras; la puntuación de la maniobra de Gowers se basó en que el sujeto se tumbara en el suelo y, después, se levantara del suelo para ponerse de pie; la puntuación de la silla se basó en que el sujeto se levantara de una posición en sedestación en una silla para ponerse de pie.

Nota: La puntuación total de GSGC fue la suma de los 4 ensayos y está comprendida entre un mínimo de 4 puntos (rendimiento normal) y un máximo de 27 puntos (peor puntuación).

Nota: La media de MC y la EE se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA.

^a El valor basal fue el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de GSGC, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT) y el género.

5 Los valores absolutos de los componentes cronometrados de GSGC con respecto al valor basal hasta la Semana 52 en la Población de ITT, excluyendo al Sujeto 4005-2511, favorecieron claramente el tratamiento con cipaglucoosidasa alfa/miglustat en comparación con alglucoosidasa alfa/placebo.

Población con experiencia con ERT

10 Cabe señalar que el sujeto atípico (Sujeto 4005-2511) pertenecía a la Población sin tratamiento previo con ERT. Por lo tanto, los resultados en la población con experiencia con ERT no se vieron afectados.

Criterio de valoración primario: 6MWD en la Semana 52

15 En la población con experiencia con ERT (n = 95), el cambio medio (DE) en 6MWD (metros) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de 16.3 (39.46) metros para el grupo de cipaglucoosidasa alfa/miglustat en comparación con 0.7 (39.84) metros para el grupo de alglucoosidasa alfa/placebo. Por lo tanto, los sujetos con experiencia con ERT tratados con cipaglucoosidasa alfa demostraron mejoras a lo largo del tiempo en la 6MWD, hasta las 52 semanas.

20 Para el análisis por MMRM usando la estimación de máxima verosimilitud restringida, la media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) fue del 16.45 % (-1.86, 34.77), con un valor de p nominal de 0.078 (Tabla 38).

25 Al igual que en la Población de ITT, excluyendo el valor atípico, el supuesto de normalidad para el análisis por MMRM se incumplió de acuerdo con el examen del diagrama de diagnóstico y el ensayo de Shapiro-Wilk (valor de p del ensayo de Shapiro-Wilk < 0.01). Por lo tanto, el ANCOVA no paramétrico basado en la aleatorización se realizó de acuerdo con lo previsto, lo que arrojó un valor de p nominal de 0.047. La FIG. 25 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

30

Tabla 38: Resumen del cambio en 6MWD (metros) por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y análisis por MMRM (Población de ITT-OBS) - Población con experiencia con ERT - Estudio ATB200-03

5		Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
		Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
10	Valor basal ^a				
	n	65		30	
15	Media (DE)	346.94 (110.213)		334.62 (114.023)	
	Mediana (Q1, Q3)	352.50 (294.50, 403.00)		343.50 (260.60, 420.00)	
	Mín, máx	79.0, 557.5		112.5, 532.3	
20	Semana 52 - Observado				
	n	61	61	29	29
	Media (DE)	359.79 (122.494)	16.34 (39.462)	335.66 (131.666)	0.70 (39.841)
	Mediana (Q1, Q3)	360.50 (296.00, 428.00)	9.65 (-7.90, 41.00)	348.00 (250.40, 438.60)	-8.65 (-24.40, 17.35)
	Mín, máx	79.6, 601.5	-57.1, 173.5	67.0, 576.0	-55.6, 127.0
25	Semana 52 - LOCF				
	n	65	65	30	30
	Media (DE)	363.83 (123.522)	16.89 (40.393)	334.60 (129.506)	-0.02 (39.345)
30					

5

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Mediana (Q1, Q3)	363.50 (296.00, 435.00)	9.65 (-7.90, 41.00)	339.03 (250.40, 438.60)	-8.93 (-24.40, 17.35)
Mín, máx	79.6, 601.5	-57.1, 173.5	67.0, 576.0	-55.6, 127.0
Estimación y comparación de parámetros a partir de MMRM ^b				
n	61		29	
Media de MC (EE)	17.04 (5.151)		0.59 (7.569)	
IC del 95 % de las medias de MC	(6.79, 27.29)		(-14.5, 15.65)	
Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)			16.45 (9.209)	
IC del 95 % de la diferencia			(-1.86, 34.77)	
Valor de p bilateral			0.078	
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA no paramétrico ^c				
Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa - alglucosidasa alfa/placebo)			16.76 (8.433)	
IC del 95 % de la diferencia			(0.24, 33.29)	
Valor de p bilateral			0.047	

30

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; ANCOVA = análisis de covarianza; CHG
 = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de
 reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; ITT-OBS = población intención de
 5 tratar que incluye todos los datos observados disponibles sin ninguna imputación de
 datos perdidos en la semana 52; LOCF = última observación trasladada; MC =
 mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; MMRM = modelo de efectos
 mixtos para medidas repetidas; N = número de sujetos en cada grupo de
 tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 =
 10 tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

^a El valor basal fue la media de los 2 últimos valores obtenidos en la
 fecha de la primera dosis o antes.

^b Para el análisis se usó el enfoque de MMRM (mediante estimación de
 máxima verosimilitud restringida). El modelo incluye términos para el tratamiento,
 15 la 6MWD basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el
 género, el tiempo y la interacción tratamiento-tiempo. Se usó el tiempo como
 medida repetida y se aplicó un enfoque de covarianza no estructurada.

^c ANCOVA no paramétrico comparado entre los grupos de tratamiento,
 ajustando por 6MWD basal, edad, altura, peso (todas como covariables continuas)
 20 y género.

% predicho de FVC en sedestación

En el subgrupo con experiencia con ERT, cipaglucosidasa alfa/miglustat
 demostró una mejora nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico
 y una diferencia clínicamente significativa de superioridad frente a alglucosidasa
 25 alfa/placebo ($p=0.006$). Cipaglucosidasa alfa/miglustat mejoró ligeramente la tasa
 de deterioro respiratorio en los sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat,
 que mostraron un aumento absoluto del 0.1 % en comparación con un declive
 absoluto del 4.0 % en los sujetos tratados con alglucosidasa alfa/placebo después
 de 52 semanas.

La Tabla 39 resume el cambio medio en el % predicho de FVC por visita y la media de MC de diferencia de tratamiento (con ANCOVA para datos distribuidos normalmente) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 para los sujetos con experiencia con ERT. La FIG. 25 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 39: Resumen del cambio en el % predicho de FVC en sedestación por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población con experiencia con ERT - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	65		30	
Media (DE)	67.85 (19.052)		67.48 (20.993)	
Mediana (Q1, Q3)	68.00 (54.50, 81.00)		69.00 (50.00, 81.50)	
Mín, máx	30.5, 132.5		31.5, 122.0	
Semana 52 - LOCF				
n	64	64	30	30
Media (DE)	67.86 (19.777)	0.05 (5.843)	63.47 (20.480)	-4.02 (5.009)
Mediana (Q1, Q3)	67.50 (54.50, 79.50)	0.50 (-4.50, 4.00)	62.00 (49.00, 76.00)	-3.25 (-7.00, 0.00)
Mín, máx	30.0, 137.0	-17.0, 14.0	28.0, 108.0	-19.5, 2.0
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA				
n	64		30	

		Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
		Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Media de MC (EE)	-0.12 (0.688)		-3.64 (1.019)	
10	IC del 95 % de las medias de MC	(-1.49, 1.24)		(-5.66, -1.61)	
15	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)			3.51 (1.250)	
	IC del 95 % de la diferencia			(1.03, 5.99)	
	Valor de p bilateral			0.006	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC = capacidad vital forzada; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; SD = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: Todas las estimaciones se obtuvieron a partir de un modelo ANCOVA que incluía términos para el tratamiento, el % predicho de FVC en sedestación basal, la edad, la estatura, el peso (todas ellas como covariables continuas) y el género.

^a El valor basal fue la media de los 2 últimos valores obtenidos en la fecha de la primera dosis o antes.

Puntuación de extremidades inferiores de MMT

El cambio medio (DE) en la puntuación de extremidades inferiores de MMT con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora de 1.6 (4.13) para el grupo de cipagluosidasa alfa/miglustat en comparación con 0.9 (2.81) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Los resultados de las puntuaciones de extremidades inferiores de MMT en ambos grupos de tratamiento mostraron mejora y favorecieron direccionalmente a cipagluosidasa alfa/miglustat sobre alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.436$).

La Tabla 40 resume el cambio medio en la puntuación de extremidades inferiores de MMT por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) para la Población con experiencia con ERT. La FIG. 28 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 40: Resumen del cambio en la puntuación de extremidades inferiores de MMT por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población con experiencia con ERT - Estudio ATB200-03

	Cipagluosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	64		27	
Media (DE)	26.38 (5.144)		26.11 (5.813)	
Mediana (Q1, Q3)	26.00 (23.50, 30.00)		26.00 (23.00, 29.00)	
Mín, máx	15.0, 39.0		14.0, 40.0	
Semana 52 - LOCF				

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
n	60	60	27	27
Media (DE)	28.18 (5.589)	1.63 (4.129)	26.96 (6.802)	0.85 (2.811)
Mediana (Q1, Q3)	28.00 (24.00, 32.50)	1.00 (0.00, 4.00)	28.00 (22.00, 32.00)	1.00 (0.00, 3.00)
Mín, máx	14.0, 40.0	-10.0, 18.0	10.0, 40.0	-5.0, 7.0
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b				
n	60		27	
Media de MC (EE)	1.60 (0.486)		0.90 (0.735)	
IC del 95 % de las medias de MC	(0.64, 2.57)		(-0.56, 2.36)	
Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)			0.70 (0.896)	
IC del 95 % de la diferencia			(-1.08, 2.49)	
Valor de p bilateral			0.436	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación arrastrada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; MMT = ensayo muscular manual; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación total de extremidades inferiores incluía las siguientes 8 partes del cuerpo: flexión de la cadera derecha/izquierda, abducción de la cadera derecha/izquierda, flexión de la rodilla derecha/izquierda y extensión de la rodilla derecha/izquierda. La puntuación oscila entre 0 y 40. Las puntuaciones más bajas indican una menor fuerza muscular.

^a El valor basal es el valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación de extremidades inferiores de MMT basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

Los resultados del cambio en la 6MWD con respecto al valor basal hasta la semana 26 para los sujetos con experiencia con ERT coincidieron en general con los resultados en la semana 52. Para el modelo ANCOVA, la media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) fue de 9.62 (-3.82, 23.06) metros, con un valor de p de 0.158.

PROMIS-Función física

El cambio medio (DE) en la puntuación total de PROMIS-Función física con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de 1.8 (7.18) para el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat en comparación con 1.0 (11.20) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Los resultados de la escala PROMIS-Función física mostraron mejora y favorecieron direccionalmente a cipaglicosidasa alfa/miglustat sobre alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.110$).

La Tabla 41 resume el cambio medio en la puntuación total de PROMIS-Función Física por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) para la Población con experiencia con ERT. La FIG. 30 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 41: Resumen del cambio en el Formulario corto 20a de PROMIS-función física por visita con respecto al valor basal hasta la Semana

52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población con experiencia con ERT - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Valor basal ^a			
	n	64	30	
10	Media (DE)	64.43 (11.379)	66.87 (12.286)	
	Mediana (Q1, Q3)	64.50 (58.00, 71.00)	67.00 (59.00, 73.00)	
	Mín, máx	37.0, 94.0	44.0, 97.0	
	Semana 52 - LOCF			
15	n	64	30	30
	Media (DE)	66.19 (12.325)	65.90 (15.790)	-0.97 (11.196)
	Mediana (Q1, Q3)	66.00 (58.00, 74.00)	66.00 (56.00, 75.00)	-2.00 (-6.00, 3.00)
	Mín, máx	36.0, 99.0	37.0, 97.0	-30.0, 30.0
20	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b			
	n	64	30	
	Media de MC (EE)	1.90 (1.071)	-1.25 (1.587)	
25	IC del 95 % de las medias de MC	(-0.23, 4.02)	(-4.40, 1.91)	

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		3.14 (1.948)	
	IC del 95 % de la diferencia		(-0.73, 7.02)	
10	Valor de p bilateral		0.110	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación total oscila entre 20 y 100, y una puntuación más alta indica una menor repercusión en la función física.

^a El valor basal fue el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de PROMIS-Función física basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

PROMIS-Fatiga

El cambio medio (DE) en la puntuación total de PROMIS-Fatiga con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de -0.1 (5.99) para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat en comparación con -0.5 (5.72) para el

grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Las puntuaciones de PROMIS-Fatiga mostraron mejora, pero mejoraron de forma similar entre los sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat y alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.476$).

La Tabla 42 resume el cambio medio en la puntuación total de PROMIS-Fatiga por visita (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 para la Población con experiencia con ERT. La FIG. 31 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 42: Resumen del cambio en la puntuación del Formulario corto 8a de PROMIS-función física por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población con experiencia con ERT - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	65		30	
Media (DE)	22.00 (7.924)		20.37 (5.379)	
Mediana (Q1, Q3)	23.00 (16.00, 29.00)		20.00 (17.00, 23.00)	
Mín, máx	8.0, 39.0		8.0, 32.0	
Semana 52 - LOCF				
n	65	65	30	30
Media (DE)	21.86 (7.888)	-0.14 (5.986)	19.87 (6.882)	-0.50 (5.722)
Mediana (Q1, Q3)	22.00 (17.00, 28.00)	0.00 (-4.00, 3.00)	18.00 (16.00, 24.00)	0.50 (-5.00, 3.00)
Mín, máx	8.0, 39.0	-16.0, 19.0	8.0, 38.0	-11.0, 11.0

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 65)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 30)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b			
	n	65	30	
	Media de MC (EE)	-1.63 (0.637)	-0.79 (0.953)	
10	IC del 95 % de las medias de MC	(-2.89, -0.36)	(-2.68, 1.10)	
15	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		-0.84 (1.169)	
	IC del 95 % de la diferencia		(-3.16, 1.49)	
	Valor de p bilateral		0.476	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación total oscila entre 8 y 40. Una puntuación más baja indica una menor repercusión de la fatiga, y se calcula sumando las puntuaciones (de 1 a 5) de los 8 puntos.

^a El valor basal es el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de PROMIS-Fatiga basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

GSGC

El cambio medio (DE) en la puntuación total de GSGC con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de -0.5 (2.53) para el grupo de cipaglucoosidasa alfa/miglustat en comparación con 0.6 (1.83) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. De forma similar a la población global, GSGC mostró mejoras nominalmente significativas tras el tratamiento con cipaglucoosidasa alfa/miglustat en comparación con alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.050$).

La Tabla 43 resume el cambio medio en la puntuación total de GSGC por visita (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 para la Población con experiencia con ERT. La FIG. 29 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 43: Resumen del cambio en la puntuación total de GSGC por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población con experiencia con ERT - Estudio ATB200-03

	Cipaglucoosidasa Alfa/Miglustat (N = 55)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 25)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	55		25	
Media (DE)	15.61 (4.073)		15.52 (4.350)	

5		Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 55)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 25)	
		Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
	Mediana (Q1, Q3)	16.00 (13.00, 18.00)		17.00 (14.00, 18.00)	
	Mín, máx	6.0, 24.0		4.0, 22.0	
10	Semana 52 - LOCF				
	n	54	54	23	23
	Media (DE)	14.96 (4.809)	-0.53 (2.534)	15.87 (4.170)	0.61 (1.828)
	Mediana (Q1, Q3)	17.00 (11.00, 19.00)	0.00 (-2.00, 1.00)	17.00 (14.00, 18.00)	0.00 (0.00, 2.00)
	Mín, máx	4.0, 24.0	-7.0, 4.0	5.0, 22.0	-4.0, 5.0
15	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b				
	n	54		23	
20	Media de MC (EE)	-0.54 (0.318)		0.65 (0.494)	
	IC del 95 % de las medias de MC	(-1.18, 0.09)		(-0.34, 1.63)	
	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)	-1.19 (0.596)			
	IC del 95 % de la diferencia	(-2.38, -0.00)			
25	Valor de p bilateral	0.050			

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC =

intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; GSGC = Marcha, Escaleras, maniobra de Gowers y Ensayo de la silla; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; máx = máximo; mín = mínimo; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; SD = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación de la marcha se basó en el ensayo de caminar 10 m; la puntuación de las escaleras se basó en que el sujeto subiera escaleras; la puntuación de la maniobra de Gowers se basó en que el sujeto se tumbara en el suelo y, después, se levantara del suelo para ponerse de pie; la puntuación de la silla se basó en que el sujeto se levantara de una posición en sedestación en una silla para ponerse de pie. La puntuación total de GSGC fue la suma de los 4 ensayos y está comprendida entre un mínimo de 4 puntos (rendimiento normal) y un máximo de 27 puntos (peor puntuación).

^a El valor basal fue el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de GSGC basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

Población sin tratamiento previo con ERT (excluyendo al Sujeto 4005-2511)

Criterio de valoración primario: 6MWD en la Semana 52

El cambio medio (DE) en 6MWD con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de 33.4 (48.70) metros para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat en comparación con 38.3 (29.32) metros para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. En la población sin tratamiento previo con ERT (n = 27), los sujetos de ambos grupos de tratamiento mostraron una mejora en la 6MWD en la semana 52 (p=0.748).

La Tabla 44 resume el cambio medio en 6MWD por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el análisis por MMRM (Población

de ITT-OBS) para la Población sin tratamiento previo con ERT excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 26B muestra un gráfico de líneas del resumen de estadísticas por visita, incluyendo al sujeto 4005-2511.

Tabla 44: Resumen del cambio en 6MWD (metros) por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y análisis por MMRM (Población de ITT-OBS) - Población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al Sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	20		7	
Media (DE)	393.64 (112.388)		420.94 (135.749)	
Mediana (Q1, Q3)	375.15 (329.50, 498.75)		385.50 (351.40, 522.65)	
Mín, máx	154.0, 575.0		201.0, 623.0	
Semana 52 - Observado				
n	20	20	7	7
Media (DE)	427.09 (112.473)	33.44 (48.704)	459.28 (121.657)	38.34 (29.315)
Mediana (Q1, Q3)	452 (348.75, 505.65)	24.00 (-0.00, 69.73)	446.50 (370.00, 570.65)	33.50 (18.60, 63.50)
Mín, máx	166.5, 599.3	-59.5, 120.0	284.5, 648.6	-4.3, 83.5
Semana 52 - LOCF				

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
n	20	20	7	7
Media (DE)	427.09 (112.473)	33.44 (48.704)	459.28 (121.657)	38.34 (29.315)
Mediana (Q1, Q3)	452.58 (348.75, 505.65)	24.00 (-0.00, 69.73)	446.50 (370.00, 570.65)	33.50 (18.60, 63.50)
Mín, máx	166.5, 599.3	-59.5, 120.0	284.5, 648.6	-4.3, 83.5

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Estimación y comparación de parámetros a partir de MMRM ^b			
	n	20	7	
	Media de MC (EE)	32.92 (9.912)	39.47 (17.15)	
10	IC del 95 % de las medias de MC	(12.40, 53.44)	(4.08, 74.87)	
15	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		-6.55 (20.207)	
	IC del 95 % de la diferencia		(-48.19, 35.08)	
	Valor de p bilateral		0.748	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; ITT-OBS = población intención de tratar que incluye todos los datos observados disponibles sin ninguna imputación de datos perdidos en la semana 52; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; MMRM = modelo de efectos mixtos para medidas repetidas; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

^a El valor basal fue la media de los 2 últimos valores obtenidos en la fecha de la primera dosis o antes.

^b Para el análisis se usó el enfoque de MMRM (mediante estimación de máxima verosimilitud restringida). El modelo incluye términos para el tratamiento, la 6MWD basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas), el género, el tiempo y la interacción tratamiento-tiempo. Se usó el tiempo como medida repetida y se aplicó un enfoque de covarianza no estructurada.

Para la población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al Sujeto 4005-2511, se violó el supuesto de normalidad para el análisis por MMRM basado en el examen del diagrama de diagnóstico y el ensayo de Shapiro-Wilk. Dado el pequeño tamaño de la muestra y las diferencias en las características basales (por ejemplo, sexo) entre los grupos de tratamiento, se realizó *a posteriori* el ensayo no paramétrico de suma de rangos de Wilcoxon.

La Tabla 45 presenta los resultados del ensayo no paramétrico de suma de rangos de Wilcoxon para el cambio en la 6MWD en la Semana 52 para la Población sin tratamiento previo con ERT excluyendo al Sujeto 4005-2511, usando la Población de ITT-LOCF. Para este ensayo, el cambio de localización (IC del 95 % del cambio de localización) fue de -9.0 (-46.50, 34.95), con un valor de p de 0.604.

Tabla 45: Ensayo no paramétrico de suma de rangos de Wilcoxon para el cambio con respecto al valor basal en 6MWD (metros) en la semana 52 (Población de ITT-LOCF) - Población sin tratamiento previo con ERT que excluye al Sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

Estimación y comparación de parámetros a partir del ensayo no paramétrico de suma de rangos de Wilcoxon ^a	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)	Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)
n	20	7
Desplazamiento de ubicación (EE asintótico)		-9.00 (20.778)
IC del 95 % del desplazamiento de ubicación		(-46.50, 34.95)
Valor de p bilateral		0.604

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; IC = intervalo de confianza; ERT =

terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; EE = error estándar

^a El desplazamiento de localización, el EE asintótico y la IC del 95 % proceden de la estimación de Hodges-Lehmann. El valor de P procede del ensayo Wilcoxon de 2 muestras con aproximación t.

% predicho de FVC en sedestación

El cambio medio (DE) en el % predicho de FVC en sedestación con respecto al valor basal hasta la Semana 52 fue del -4.1 % (6.53 %) para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat y del -3.6 % (4.71 %) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Usando un modelo ANCOVA para datos distribuidos normalmente, la media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) fue de -1.95 (-8.93, 5.03), con un valor de p de 0.566.

La Tabla 46 resume el cambio medio en el % predicho de la FVC en sedestación por visita (Población de ITT) y la media de MC de diferencia de tratamiento (con ANCOVA para datos distribuidos normalmente) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT-LOCF) para la población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 26B muestra un gráfico de líneas del resumen de estadísticas por visita, incluyendo al sujeto 4005-2511.

Tabla 46: Resumen de los cambios en el % predicho de FVC en sedestación por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al Sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	20		7	
Media (DE)	80.15 (18.689)		79.07 (22.578)	
Mediana (Q1, Q3)	82.25 (62.00, 94.75)		93.50 (49.50, 96.00)	
Mín, máx	48.0, 111.0		46.5, 98.0	
Semana 52 - LOCF				
n	20	20	7	7
Media (DE)	76.05 (19.300)	-4.10 (6.526)	75.43 (22.604)	-3.64 (4.706)
Mediana (Q1, Q3)	77.00 (61.50, 91.00)	-4.50 (-9.25, -1.00)	85.00 (45.00, 93.00)	-3.00 (-4.50, -1.00)
Mín, máx	36.0, 104.0	-12.5, 10.0	42.0, 94.0	-13.0, 2.0
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b				
n	20		7	
Media de MC (EE)	-4.49 (1.490)		-2.54 (2.758)	

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
IC del 95 % de las medias de MC	(-7.59, -1.38)		(-8.29, 3.22)	
Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)	-1.95 (3.346)			
IC del 95 % de la diferencia	(-8.93, 5.03)			
Valor de p bilateral	0.566			

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC = capacidad vital forzada, ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; SD = desviación estándar; EE = error estándar

^a El valor basal fue la media de los 2 últimos valores obtenidos en la fecha de la primera dosis o antes.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, % predicho de FVC en sedestación basal, edad, altura, peso (todas como covariables continuas) y género.

Puntuación de extremidades inferiores de MMT

El cambio medio (DE) en la puntuación de extremidades inferiores de MMT con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora de 1.4 (2.55)

para el grupo de cipaglucoasida alfa/miglustat en comparación con 1.0 (1.53) para el grupo de alglucoasida alfa/placebo ($p=0.534$).

La Tabla 47 resume el cambio medio en la puntuación de extremidades inferiores de MMT por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) para la Población sin tratamiento previo con ERT excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 81 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 47: Resumen del cambio en la puntuación MMT de la extremidad inferior por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al Sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucoasida Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucoasida Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	20		7	
Media (DE)	33.00 (4.686)		33.57 (3.359)	
Mediana (Q1, Q3)	34.50 (30.00, 36.00)		32.00 (30.00, 37.00)	
Mín, máx	22.0, 39.0		30.0, 38.0	
Semana 52 - LOCF				
n	20	20	7	7
Media (DE)	34.35 (4.977)	1.36 (2.554)	34.57 (3.910)	1.00 (1.528)
Mediana (Q1, Q3)	36.00 (30.00, 38.00)	1.00 (0.00, 2.00)	34.00 (32.00, 37.00)	2.00 (0.00, 2.00)
Mín, máx	25.0, 40.0	-2.0, 7.0	28.0, 40.0	-2.0, 2.0

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
5	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b			
	n	20	7	
	Media de MC (EE)	1.46 (0.547)	0.69 (1.013)	
10	IC del 95 % de las medias de MC	(0.32, 2.61)	(-1.43, 2.80)	
15	Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)		0.78 (1.230)	
	IC del 95 % de la diferencia		(-1.79, 3.34)	
	Valor de p bilateral		0.534	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación arrastrada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; MMT = ensayo muscular manual; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

^a El valor basal fue el último valor no ausente anterior a la fecha de la primera dosis.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación de extremidades inferiores

de MMT basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

6MWD en la Semana 26

Los resultados del cambio en 6MWD (metros) con respecto al valor basal hasta la semana 26 para la población sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al Sujeto 4005-2511, concordaron en general con los resultados de la semana 52. Para el modelo ANCOVA, la media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) fue de -10.38 (-49.27, 28.51) metros, con un valor de p de 0.584.

PROMIS-Función física

El cambio medio (DE) en la puntuación total de PROMIS-Función física con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de 2.5 (8.62) para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat en comparación con 5.1 (7.82) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Los resultados de las puntuaciones de PROMIS-Función Física en ambos grupos de tratamiento mostraron mejora y favorecieron direccionalmente a alglucosidasa alfa/placebo sobre cipaglucosidasa alfa/miglustat ($p=0.249$).

La Tabla 48 resume el cambio medio en la puntuación total de PROMIS-Función Física por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (Población de ITT-OBS) para la Población sin tratamiento previo con ERT excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 82 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 48: Resumen del cambio en el Formulario corto 20a de PROMIS-Función física por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Sujetos sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al Sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	20		7	
Media (DE)	74.65 (11.984)		72.71 (16.317)	
Mediana (Q1, Q3)	76.00 (67.00, 83.00)		67.00 (56.00, 91.00)	
Mín, máx	50.0, 96.0		53.0, 93.0	
Semana 52 - LOCF				
n	20	20	7	7
Media (DE)	77.15 (11.536)	2.50 (8.618)	77.86 (15.742)	5.14 (7.819)
Mediana (Q1, Q3)	77.50 (68.50, 87.50)	0.00 (-3.00, 7.50)	80.00 (69.00, 91.00)	5.00 (-1.00, 13.00)
Mín, máx	56.0, 95.0	-8.0, 28.0	50.0, 94.0	-6.0, 16.0
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b				
n	20		7	
Media de MC (EE)	1.87 (1.917)		6.96 (3.539)	

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
IC del 95 % de las medias de MC	(-2.13, 5.86)		(-0.43, 14.34)	
Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)			-5.09 (4.288)	
IC del 95 % de la diferencia			(-14.04, 3.85)	
Valor de p bilateral			0.249	

15 Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n =
20 número de sujetos con datos disponibles; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

25 Nota: La puntuación total oscila entre 20 y 100. Una puntuación más alta indica una menor repercusión en la función física, y se calcula sumando las puntuaciones (de 1 a 5) de los 20 puntos.

^a El valor basal es el último valor no omitido anterior a la fecha de la primera dosis.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de PROMIS-Función

física basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

PROMIS-Fatiga

El cambio medio (DE) en la puntuación total de PROMIS-Fatiga con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora media de -2.7 (5.17) para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat y de -5.4 (6.61) para el grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Los resultados de las puntuaciones de PROMIS-Fatiga en ambos grupos de tratamiento mostraron una mejora ($p=0.338$).

La Tabla 49 resume el cambio medio en la puntuación total de PROMIS-Fatiga por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) para la Población sin tratamiento previo con ERT excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 83 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 49: Resumen del cambio en la puntuación total del Formulario corto 8a de PROMIS-Fatiga por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Población sin tratamiento previo con ERT que excluye al Sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Valor basal ^a				
n	20		7	
Media (DE)	23.10 (9.614)		24.13 (8.360)	
Mediana (Q1, Q3)	20.95 (15.00, 29.50)		24.00 (20.00, 31.00)	
Mín, máx	10.0, 40.0		9.0, 34.0	

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 20)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
Semana 52 - LOCF				
n	20	20	7	7
Media (DE)	20.60 (9.681)	-2.50 (5.630)	16.43 (7.231)	-7.70 (8.771)
Mediana (Q1, Q3)	16.50 (15.00, 27.50)	-2.00 (-4.50, 0.00)	15.00 (8.00, 25.00)	-6.90 (-16.00, -1.00)
Mín, máx	8.0, 40.0	-19.0, 9.0	8.0, 26.0	-21.0, 5.0
Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b				
n	20		7	
Media de MC (EE)	-2.99 (1.487)		-6.28 (2.757)	
IC del 95 % de las medias de MC	(-6.09, 0.11)		(-12.03, -0.53)	
Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)			3.29 (3.346)	
IC del 95 % de la diferencia			(-3.69, 10.27)	
Valor de p bilateral			0.338	

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n =

número de sujetos con datos disponibles; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; DE = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación total oscila entre 8 y 40. Una puntuación más baja indica una menor repercusión de la fatiga, y se calcula sumando las puntuaciones (de 1 a 5) de los 8 puntos.

^a El valor basal es el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de PROMIS-Fatiga basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

GSSC

El cambio medio (DE) en la puntuación total de GSGC con respecto al valor basal hasta la Semana 52 mostró una mejora de -0.6 (2.64) para el grupo de cipaglucoasidasa alfa/miglustat y de 1.3 (1.80) para el grupo de alglucoasidasa alfa/placebo. Para el modelo ANCOVA, la media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) fue de -1.32 (-4.03, 1.39), con un valor de p de 0.320.

La Tabla 50 resume el cambio medio en la puntuación de GSGC total por visita (Población de ITT) con respecto al valor basal hasta la Semana 52 y el modelo ANCOVA (Población de ITT-OBS) para la Población sin tratamiento previo con ERT excluyendo al Sujeto 4005-2511. La FIG. 84 muestra un gráfico de líneas de del resumen de estadísticas por visita.

Tabla 50: Resumen del cambio en la puntuación total de GSGC por visita con respecto al valor basal hasta la Semana 52 (Población de ITT) y modelo ANCOVA (Población de ITT-LOCF) - Sujetos sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al sujeto 4005-2511 - Estudio ATB200-03

5	Cipaglicosidasa Alfa/Miglustat (N = 19)		Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 7)	
	Valor absoluto	CHG	Valor absoluto	CHG
10	Valor basal ^a			
	n	19	7	
	Media (DE)	11.32 (6.650)	10.86 (4.413)	
	Mediana (Q1, Q3)	12.00 (5.00, 18.00)	9.00 (8.00, 16.00)	
15	Mín, máx	4.0, 24.0	6.0, 18.0	
	Semana 52 - LOCF			
	n	18	7	7
	Media (DE)	10.06 (5.407)	-0.56 (2.640)	12.14 (4.598)
20	Mediana (Q1, Q3)	8.50 (5.00, 13.00)	-0.50 (-1.00, 1.00)	10.00 (9.00, 16.00)
	Mín, máx	4.0, 20.0	-8.0, 4.0	6.0, 19.0
	Estimación y comparación de parámetros a partir de ANCOVA ^b			
	n	18	7	
25	Media de MC (EE)	-0.41 (0.595)	0.91 (1.042)	
30	IC del 95 % de las medias de MC	(-1.66, 0.84)	(-1.28, 3.10)	

Diferencia de medias de MC (EE) (cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo)	-1.32 (1.289)
IC del 95 % de la diferencia	(-4.03, 1.39)
Valor de p bilateral	0.320

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

ANCOVA = análisis de covarianza; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; GSGC = Marcha, Escaleras, maniobra de Gowers y Ensayo de la silla; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MC = mínimos cuadrados; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; SD = desviación estándar; EE = error estándar

Nota: La puntuación de la marcha se basó en el ensayo de caminar 10 m; la puntuación de las escaleras se basó en que el sujeto subiera escaleras; la puntuación de la maniobra de Gowers se basó en que el sujeto se tumbara en el suelo y, después, se levantara del suelo para ponerse de pie; la puntuación de la silla se basó en que el sujeto se levantara de una posición en sedestación en una silla para ponerse de pie. La puntuación total de GSGC fue la suma de los 4 ensayos y está comprendida entre un mínimo de 4 puntos (rendimiento normal) y un máximo de 27 puntos (peor puntuación).

^a El valor basal fue el último valor no ausente antes de la administración de la primera dosis del fármaco de estudio.

^b Todas las estimaciones se obtuvieron a partir del modelo ANCOVA que incluye términos para el tratamiento, la puntuación total de GSGC basal, la edad, la altura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

Sumario de los resultados para ATB200-03

La Tabla 51 y la FIG. 85 resumen los resultados de los criterios de valoración primarios, secundarios clave y varios otros secundarios (función motora y pulmonar, fuerza muscular y PRO) y de biomarcadores (Hex4 y CK) para la Población de ITT

excluyendo al sujeto atípico, que muestran el tamaño del efecto estandarizado en el cambio con respecto al valor basal en la Semana 52 dentro de cada grupo de tratamiento para cada criterio de valoración. Los resultados en la gran mayoría de los criterios de valoración mejoraron en la semana 52 (designados por barras por encima de 0) y favorecieron direccionalmente a cipaglicosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo (designados por barras más altas a la izquierda/oscuras frente a barras más altas a la derecha/claras) en la FIG. 85.

Se observó una mejora estadísticamente significativa con respecto al valor basal (límite inferior del IC del 95 % >0 para los parámetros en los que el aumento es una mejoría; límite superior del IC del 95 % <0 para los parámetros en los que la disminución es una mejoría) para la cipaglicosidasa alfa/miglustat en una serie de parámetros: 6MWD, % predicho de 6MWD, MMT de extremidades inferiores, MMT de extremidades superiores, MMT global, PROMIS-Función Física, PROMIS-Fatiga, CK y Hex4, observándose un descenso estadísticamente significativo sólo para SVC en sedestación. En comparación, no se observó una mejora estadísticamente significativa con respecto al valor basal en ninguno de los parámetros con alglucosidasa alfa/placebo, y se observó un descenso estadísticamente significativo en GSGC, FVC en sedestación, FVC en decúbito supino, SVC en sedestación y CK.

Tabla 51: Resumen de los criterios de valoración de interés para la Población de ITT excluyendo al sujeto atípico 4005-2511 - Estudio ATB200-03

Categoría	Criterio de valoración	Rango del criterio de valoración	Sujetos globales				
			Cipaglucosidasa alfa/miglustat		Alglucosidasa alfa/placebo		Valor de P bilateral
			Mediana de valor basal	CFBL Semanal de LOCF (IC del 95 %)	Mediana de valor basal	CFBL semanal de LOCF (IC del 95 %)	
Función motora	6MWD	1	357.93	20.79 (11.56, 30.01)	350.95	7.24 (-6.19, 20.67)	0.071
	6MWD semana 26	Clave 2	357.93	17.44 (9.80, 25.08)	350.95	9.19 (-0.20, 18.59)	0.195
	GSGC	Clave 2	14.51	-0.53 (-1.13, 0.06)	14.50	0.77 (0.09, 1.44)	0.009
	% Predicho de 6MWD	2	57.82	4.07 (2.56, 5.59)	56.03	1.58 (-0.42, 3.58)	0.077
	Caminata de 10 m (s)	2	9.68	-0.53 (-1.81, 0.76)	9.58	1.90 (-0.17, 3.96)	0.025
	Subida de 4	2	14.09	-8.46 (-24.26, 7.34)	8.22	0.32 (-1.66, 2.29)	0.050

	escalones (s)						
5	Gowers (s)	2	10.84	-0.26 (-1.74, 1.22)	19.82	-2.19 (-5.04, 0.66)	0.305
	Ensayo de silla (s)	2	13.58	-10.17 (-29.40, 9.06)	4.52	-0.50 (-1.92, 0.92)	0.290
10	TUG (s)	2	12.88	-0.30 (-2.24, 1.65)	12.77	-0.13 (-1.11, 0.85)	0.748
15	FVC (En sedestación, % predicho)	Primera clave 2	70.74	-0.93 (-2.29, 0.42)	69.68	-3.95 (-5.58, -2.32)	0.023
20	FVC (En decúbito supino, % predicho)	2	54.78	-0.24 (-1.46, 0.99)	55.09	-3.00 (-4.67, 1.33)	0.009
	SVC (En sedestación, % predicho)	2	69.94	-2.32 (-4.25, -0.38)	68.59	-5.86 (-8.83, -2.90)	0.125
25	MIP (% predicho)	2	61.79	2.06 (-2.11, 6.23)	59.90	-2.70 (-8.32, 2.92)	0.278
30	MEP (% predicho)	2	70.72	0.62 (-4.14, 5.38)	65.08	-1.59 (-5.86, 2.67)	0.617

5	Fuerza muscular	MMT inferior	Clave 2	27.9 6	1.56 (0.72, 2.40)	27.6 5	0.88 (-0.02, 1.78)	0.191
		MMT superior	2	34.3 0	1.51 (0.76, 2.25)	34.7 0	0.68 (-0.51, 186)	0.117
		MMT global	2	62.2 5	3.07 (1.66, 4.48)	62.3 5	1.41 (-0.12, 2.94)	0.059
		QMT Total	2	165. 83	6.86 (-5.31, 19.04)	158. 8	8.20 (-2.38, 18.77)	0.751
15	QOL	PROMIS-F. física	Clave 2	66.8 6	1.94 (0.31, 3.57)	67.9 7	0.19 (-3.42, 3.80)	0.276
		PROMS-Fatiga	Clave 2	22.2 6	-2.02 (-3.26, -0.77)	21.0 8	-1.67 (-3.88, 0.54)	0.970
20	Biomarcador	CK	2	447. 0	-130.5 (-180.4, -80.7)	527. 8	60.2 (7.0, 113.3)	<0.001
		HEX4	2	4.61	-1.88 (-2.40, -1.36)	6.92	1.22 (-0.26, 2.70)	<0.001

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; ANCOVA = análisis de covarianza; BL = valor basal; CFBL = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; CK = creatina cinasa; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC = capacidad vital forzada; GSGC = Marcha, Escalera, maniobra de Gowers y ensayo de levantarse de una silla; Hex4 = tetrasacárido de hexosa; ITT = intención de tratar; LOCF = última observación trasladada; MEP = presión espiratoria máxima; MIP = presión inspiratoria máxima; MMT = ensayo muscular manual; PROMIS = Sistema de información de medición de resultados informados por los pacientes; QMT = ensayo muscular cuantitativo; QOL = calidad de vida; s = segundos; SVC = capacidad vital lenta; TUG = ensayo *Timed Up and Go*

Nota: Criterio de valoración 1 = Primario; Criterio de valoración 2 = Secundario

Nota: Media de CFBL sombreada = CFBL mejorado; Media de CLFBL no sombreada = CFBL empeorado.

Nota: Los criterios de valoración sombreados indican el grupo Cipa/mig favorecido.

Nota: Los valores p son nominales y se basan en ANCOVA, excepto para la 6MWD, que se basa en ANCOVA no paramétrico basado en aleatorización.

Nota: Basado en medias de LOCF.

Nota: Los valores p en negrita indican que el ensayo de superioridad del criterio de valoración especificado (por ejemplo, 6MWD) en esa población especificada (por ejemplo, global o con experiencia con ERT) fue nominalmente significativa.

Análisis de criterios de valoración primarios y secundarios usando MMRM con el punto temporal real de las evaluaciones - Estudio ATB200-03

Mientras que los análisis preespecificados (ANCOVA no paramétrico para el criterio de valoración principal de 6MWD y ANCOVA para los criterios de valoración secundarios clave) son la posición central de Amicus y se incluyen en la Hoja de Datos Fundamentales de la Compañía (CCDS), se realizaron análisis *a posteriori*

adicionales en respuesta a una petición del Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) durante la evaluación de la Solicitud de Autorización de Comercialización (MAA) de la UE. Estos análisis utilizaron un enfoque de MMRM con el punto temporal real de las evaluaciones y los resultados de estos análisis se presentan en el resumen de características del producto (SmPC) de la UE.

Análisis por MMRM en la población de ITT global

El análisis de 6MWD se realizó usando un modelo de MMRM con el punto temporal real de las evaluaciones en el ITT-OBS y excluyendo al sujeto atípico 4005-2511. Específicamente, la variable dependiente es el cambio con respecto al valor basal en la evaluación. Las variables independientes incluyen los efectos fijos y categóricos del tratamiento, el estado de ERT y el género, así como las covariables fijas y continuas del tiempo de evaluación (días), la 6MWD basal, la edad basal, el peso basal y la altura basal, y la interacción tratamiento-tiempo. También se incluye en el modelo un intercepto aleatorio de sujeto. A continuación, se estimó el cambio con respecto al valor basal en la semana 52 para cada grupo de tratamiento y la diferencia entre los grupos de tratamiento con las medias de MC en el día 364, junto con los IC del 95 %. Los resultados de este análisis se resumen en la Tabla 52. La distancia caminada en seis minutos para cipaglucoSIDasa alfa/miglustat mostró una mejora significativa con respecto al valor basal y una mejora superior frente a alglucoSIDasa alfa/placebo, pero no demostró superioridad estadística. En la semana 52, el grupo de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat tenía una media de MC de mejora (IC del 95 %) de 20.0 m (13.1, 26.9) con respecto al valor basal, en comparación con los 8.3 m (-2.2, 18.8) del grupo de alglucoSIDasa alfa/placebo. La media de MC de diferencia de tratamiento (IC 95 %) fue de 11.7 m (-1.0, 24.4).

Tabla 52: Resumen de los resultados de 6MWD basados en el modelo de MMRM, punto temporal real de las evaluaciones (población de ITT-OBS excluyendo al Sujeto 4005-2511) - Estudio ATB200-03

Criterio de valoración	Cipaglicosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento^a	IC del 95 % de la Diferencia^b
CHG hasta la semana 52 en 6MWD	20.0 (13.1, 26.9)	8.3 (-2.2, 18.8)	11.7	(-1.0, 24.4)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés): 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; ITT-OBS = población por intención de tratar que incluye todos los datos observados disponibles sin ninguna imputación de datos perdidos en la semana 52; MC = mínimos cuadrados; MMRM = modelo de efectos mixtos para medidas repetidas

^a diferencia = cipaglicosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo

^b Se usa el modelo de MMRM para el análisis basado en la población de ITT-OBS. El modelo incluye términos para el tratamiento, el tiempo de evaluación, la interacción entre el tratamiento y el tiempo de evaluación, el valor de 6MWD basal, la edad, la estatura, el peso (todos ellos como covariables continuas), el estado de ERT (sin tratamiento previo con ERT frente a con experiencia con ERT) y el género.

También se realizaron análisis de los criterios de valoración secundarios clave de % predicho de FVC en sedestación, puntuación de extremidades inferiores de MMT, PROMIS-Función física, PROMIS-Fatiga y puntuación total de GSGC usando el modelo de MMRM con el punto temporal real de las evaluaciones en la población de ITT-OBS. La Tabla 53 resume los resultados de los 5 criterios de

valoración secundarios clave para la población de ITT-OBS global combinada (con experiencia con terapia de reemplazo enzimático [ERT] y sin tratamiento previo con ERT) excluyendo al sujeto atípico (4005-2511). Para el % predicho de FVC, cipaglucoasidasa alfa/miglustat demostró una mejora nominalmente significativa (IC del 95 % de la diferencia excluido 0) frente a alglucosidasa alfa/placebo en la población de ITT-OBS global. Los resultados de los demás criterios de valoración secundarios clave enumerados, incluidas las evaluaciones de la función motora (MMT y GSGC) y los PRO (PROMIS-Función física y PROMIS-Fatiga), favorecieron numéricamente a cipaglucoasidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo, y GSGC también demostró una superioridad nominal. Como cambio con respecto al valor basal, se observaron mejoras medias para cipaglucoasidasa alfa/miglustat en MMT, PROMIS-Función física, PROMIS-Fatiga y GSGC. En conjunto, la consistencia de los resultados en varias dimensiones clínicas de la enfermedad de Pompe proporciona ensayos que respaldan el beneficio de la eficacia de cipaglucoasidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo en la población global.

Tabla 53: Resumen de los resultados de los criterios de valoración secundarios clave basados en el modelo de MMRM, punto temporal real de las evaluaciones (población de ITT-OBS excluyendo al Sujeto 4005-2511) - Estudio ATB200-03

Nivel Criterio de valoración	Cipaglucoasidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento ^a	IC del 95 % de la Diferencia ^b
CHG hasta la Semana 52 en % predicho de	-1.4 (-2.5, -0.3)	-3.7 (-5.4, -2.0)	2.3	(0.2, 4.4)

	Nivel Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento^a	IC del 95 % de la Diferencia^b
5	FVC en sedestación				
10	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación de extremidades inferiores de MMT	1.7 (1.1, 2.4)	0.7 (-0.4, 1.7)	1.1	(-0.1, 2.3)
15	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Función física ^c	2.2 (0.5, 3.9)	-0.3 (-2.9, 2.3)	2.5	(-0.6, 5.7)
20	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Fatiga ^c	-2.0 (-3.2, -0.9)	-1.7 (-3.4, 0.0)	-0.3	(-2.4, 1.8)
25	CHG hasta la Semana 52 en	-0.7 (-1.2, -0.2)	0.8 (0.0, 1.5)	-1.5	(-2.4, -0.6)

Nivel Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento ^a	IC del 95 % de la Diferencia ^b
la puntuación total de GSGC				

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

CHG = cambio con respecto al valor basal; IC = intervalo de confianza; ERT =
 terapia de reemplazo enzimático; FVC = capacidad vital forzada; GSGC = Marcha,
 Escaleras, maniobra de Gowers y Ensayo de la silla; ITT-OBS = población con
 intención de tratar que incluye todos los datos observados disponibles sin ninguna
 imputación de datos perdidos en la semana 52; MC = mínimos cuadrados; MMRM
 = modelo de efectos mixtos para medidas repetidas; MMT = ensayo muscular
 manual; PROMIS = sistema de información para la medición de los resultados
 informados por los pacientes

^a diferencia = cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa
 alfa/placebo. Tanto para PROMIS-Fatiga como para GSGC, la disminución indica
 mejora.

^b El modelo de MMRM se usa para el análisis de los criterios de
 valoración secundarios clave basados en la Población de ITT-OBS. El modelo
 incluye términos para el tratamiento, el tiempo de evaluación, la interacción entre
 el tratamiento y el tiempo de evaluación, el valor basal de la variable de respuesta,
 la edad, la estatura, el peso (todos ellos como covariables continuas), el estado de
 ERT (sin tratamiento previo con ERT o con experiencia con ERT) y el género.

^c La puntuación total se calculó sumando las puntuaciones (de 1 a 5) de
 todos los puntos.

Análisis por MMRM por estado de ERT

También se realizaron análisis de los criterios de valoración primarios y
 secundarios clave usando el mismo modelo anterior, de acuerdo con el estado de

la terapia de reemplazo enzimático (ERT). En la Tabla 54 se resumen los resultados del criterio de valoración principal y de 5 criterios de valoración secundarios clave para la población de ITT-OBS con experiencia con ERT. Para el criterio de valoración primario de cambio con respecto al valor basal hasta la semana 52 en 6MWD, cipaglucoasidasa alfa/miglustat demostró una mejora significativa con respecto al valor basal y nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico (IC del 95 % de la media de MC de diferencia de tratamiento excluida 0) y clínicamente significativa frente a alglucosidasa alfa/placebo. Del mismo modo, para el primer criterio de valoración secundario clave de % predicho de FVC, cipaglucoasidasa alfa/miglustat demostró una mejora nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico (IC del 95 % de la media de MC de diferencia de tratamiento excluido 0) y clínicamente significativo frente a alglucosidasa alfa/placebo. Los resultados de los demás criterios de valoración secundarios clave enumerados, incluidas las evaluaciones de la fuerza muscular y la función motora (MMT de extremidades inferiores y GSGC) y los PRO (PROMIS-Función física y PROMIS-Fatiga), favorecieron numéricamente a cipaglucoasidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo, demostrando también GSGC una superioridad nominal. Como cambio con respecto al valor basal, se observaron mejoras medias para cipaglucoasidasa alfa/miglustat en MMT, PROMIS-Función física, PROMIS-Fatiga y GSGC. En conjunto, la consistencia de los resultados en varias dimensiones de las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Pompe proporciona ensayos que respaldan el beneficio de la eficacia de cipaglucoasidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo en la población con experiencia con ERT.

Tabla 54: Resumen de los resultados de los criterios de valoración primarios y secundarios clave basados en el modelo de MMRM, punto

temporal real de las evaluaciones (población de ITT-OBS - Sujetos con experiencia con ERT) - Estudio ATB200-03

5	Nivel Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento^a	IC del 95 % de la Diferencia^b
	Criterio de valoración primario				
10	CHG hasta la Semana 52 en 6MWD	15.8 (8.3, 23.4)	0.9 (-10.2, 12.1)	14.9	(1.2, 28.6)
	Criterios de valoración secundarios clave				
15	CHG hasta la Semana 52 en % predicho de FVC en sedestación	-0.2 (-1.5, 1.1)	-3.8 (-5.7, -1.9)	3.6	(1.3, 5.9)
20	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación de extremidades inferiores de MMT	1.8 (1.0, 2.6)	0.9 (-0.3, 2.1)	0.9	(-0.6, 2.3)
25					

5	Nivel Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento^a	IC del 95 % de la Diferencia^b
10	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Función física ^c	2.0 (-0.0, 4.0)	-1.6 (-4.5, 1.4)	3.5	(-0.1, 7.1)
15	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Fatiga ^c	-1.9 (-3.2, -0.6)	-0.7 (-2.6, 1.2)	-1.2	(-3.5, 1.1)
20	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de GSGC	-0.7 (-1.3, -0.1)	0.5 (-0.4, 1.4)	-1.2	(-2.2, -0.1)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; CHG = cambio con respecto al valor
 25 basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC =
 capacidad vital forzada; GSGC = Marcha, Escaleras, maniobra de Gowers y Ensayo
 de la silla; ITT-OBS = población con intención de tratar que incluye todos los datos
 observados disponibles sin ninguna imputación de datos perdidos en la semana 52;
 MC = mínimos cuadrados; MMRM = modelo de efectos mixtos para medidas
 30 repetidas; MMT = ensayo muscular manual; PROMIS = sistema de información para
 la medición de los resultados informados por los pacientes

^a diferencia = cipaglicosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa alfa/placebo. Tanto para PROMIS-Fatiga como para GSGC, la disminución indica mejora.

^b El modelo de MMRM se usa para el análisis de los criterios de valoración primarios y secundarios clave basados en la Población de ITT-OBS. El modelo incluye términos para el tratamiento, el tiempo de evaluación, la interacción entre el tratamiento y el tiempo de evaluación, el valor basal de la variable de respuesta, la edad, la estatura, el peso (todas como covariables continuas) y el género.

^c La puntuación total se calculó sumando las puntuaciones (de 1 a 5) de todos los puntos.

Por el contrario, en el caso de la población sin tratamiento previo con ERT, el primer criterio de valoración secundario clave de % predicho de FVC disminuyó con respecto al valor basal en ambos grupos de tratamiento, favoreciendo numéricamente al grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Los resultados de los criterios de valoración secundarios clave que evaluaban la fuerza muscular y la función motora (MMT de extremidades inferiores y GSGC) demostraron una mejora con respecto al valor basal en el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat y favorecieron numéricamente a cipaglicosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo. En cuanto a los criterios de valoración secundarios clave de PRO (PROMIS-Función física y PROMIS-Fatiga), ambos grupos de tratamiento demostraron una mejora, que favoreció numéricamente al grupo de alglucosidasa alfa/placebo. En general, para la población sin tratamiento previo con ERT, algunos criterios de valoración favorecieron numéricamente a cipaglicosidasa alfa/miglustat y algunos criterios de valoración favorecieron numéricamente a alglucosidasa alfa/placebo, sin que ninguno de los criterios de valoración alcanzara significación estadística nominal. Estos resultados sugieren que la eficacia de la cipaglicosidasa alfa/miglustat no es peor que la de la alglucosidasa alfa/placebo en la población sin tratamiento previo con ERT.

La Tabla 55 resume los resultados del criterio de valoración principal y de los 5 criterios de valoración secundarios clave para la población de ITT-OBS sin tratamiento previo con ERT, excluyendo al sujeto atípico. Para el criterio de valoración primario de cambio con respecto al valor basal hasta la semana 52 en 6MWD, se observó una mejora clínicamente significativa con respecto al valor basal en ambos grupos de tratamiento, favoreciendo numéricamente al grupo de alglucosidasa alfa/placebo. Es probable que la interpretabilidad del análisis por MMRM en la población sin tratamiento previo con ERT se vea afectada por estimaciones inestables debidas al desequilibrio de las covariables derivado del pequeño tamaño de la muestra, por lo que un análisis que no implique el ajuste de las covariables (tal como un cambio medio no ajustado con respecto al valor basal) debería considerarse el enfoque principal para la evaluación de la 6MWD en este grupo.

Tabla 55: Resumen de los resultados de los criterios de valoración primarios y secundarios clave basados en el modelo de MMRM, punto temporal real de las evaluaciones (Población de ITT-OBS excluyendo al Sujeto 4005-2511 - Sujetos sin tratamiento previo con ERT) - Estudio ATB200-03

Nivel Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento ^a	IC del 95 % de la Diferencia ^b
Criterio de valoración primario				
CHG hasta la Semana 52 en 6MWD	28.5 (12.4, 44.7)	52.7 (23.2, 82.3)	-24.2	(-60.0, 11.7)
Criterios de valoración secundarios clave				

	Nivel Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento^a	IC del 95 % de la Diferencia^b
5					
10	CHG hasta la Semana 52 en % predicho de FVC en sedestación	-5.2 (-7.5, -2.9)	-2.4 (-6.7, 1.8)	-2.8	(-7.8, 2.3)
15	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación de extremidades inferiores de MMT	1.4 (0.4, 2.5)	-0.0 (-1.9, 1.9)	1.5	(-0.8, 3.7)
20	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Función física ^c	2.6 (-1.0, 6.3)	5.8 (-0.9, 12.4)	-3.1	(-11.2, 4.9)
25	CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de PROMIS- Fatiga ^c	-3.0 (-5.7, -0.2)	-4.9 (-9.9, 0.0)	2.0	(-4.1, 8.0)
30					

Nivel Criterio de valoración	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat Media de MC (IC del 95 %)	Alglucosidasa Alfa/Placebo Media de MC (IC del 95 %)	Media de MC de la Diferencia de tratamiento^a	IC del 95 % de la Diferencia^b
CHG hasta la Semana 52 en la puntuación total de GSGC	-0.6 (-1.6, 0.4)	1.3 (-0.4, 3.1)	-1.9	(-4.1, 0.2)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; CHG = cambio con respecto al valor
 basal; IC = intervalo de confianza; ERT = terapia de reemplazo enzimático; FVC =
 capacidad vital forzada; GSGC = Marcha, Escaleras, maniobra de Gowers y Ensayo
 de la silla; ITT-OBS = población con intención de tratar que incluye todos los datos
 observados disponibles sin ninguna imputación de datos perdidos en la semana 52;
 MC = mínimos cuadrados; MMRM = modelo de efectos mixtos para medidas
 repetidas; MMT = ensayo muscular manual; PROMIS = sistema de información para
 la medición de los resultados informados por los pacientes

^a diferencia = cipaglucosidasa alfa/miglustat - alglucosidasa
 alfa/placebo. Tanto para PROMIS-Fatiga como para GSGC, la disminución indica
 mejora.

^b El modelo de MMRM se usa para el análisis de los criterios de
 valoración primarios y secundarios clave basados en la población de ITT-OBS. El
 modelo incluye términos para el tratamiento, el tiempo de evaluación, la interacción
 entre el tratamiento y el tiempo de evaluación, el valor basal de la variable de
 respuesta, la edad, la estatura, el peso (todas como covariables continuas) y el
 género.

^c La puntuación total se calculó sumando las puntuaciones (de 1 a 5) de
 todos los puntos.

Resultados informados por los pacientes e impresión global del cambio por parte del médico - Estudio ATB200-03

Los PRO adicionales incluían PROMIS-disnea, PROMIS-extremidades superiores, R-PACT, EQ-5D-5L, SGIC. También se incluyó el PGIC. Los resultados de PROMIS, R-PACT y EQ-5D-5L mostraron mejoras similares en ambos grupos de tratamiento. SGIC y PGIC mostraron sistemáticamente una mejora superior que favorece al tratamiento con cipaglucosidasa alfa/miglustat.

Se evaluaron ocho criterios de valoración diferentes de la SGIC: bienestar físico global, esfuerzo respiratorio, fuerza muscular, función muscular, capacidad de desplazamiento, actividades de la vida diaria, nivel de energía y dolor muscular. En todos estos ámbitos, un mayor porcentaje de pacientes de la población global tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat informaron de una mejora y un menor porcentaje de un empeoramiento, en comparación con los pacientes tratados con alglucosidasa alfa. Se observaron resultados similares para el PGIC. A continuación se muestran los resultados del SGIC en el ámbito del bienestar físico global, que es representativo de los beneficios registrados en todas estas medidas (FIG. 86).

Relevancia clínica de las mejoras en 6MWD y FVC - Estudio ATB200-03

Los umbrales para los cambios clínicamente relevantes para 6MWD y FVC en Pompe específicamente no están bien establecidos, sin embargo existe un gran cuerpo de datos de otras enfermedades neuromusculares y respiratorias crónicas, especialmente la fibrosis pulmonar intersticial (IPF, por sus siglas en inglés). Allí, los aumentos de 6MWD superiores al 6 % (intervalo del 3 al 11 %) y los cambios de FVC superiores al 3 % (intervalo del 2 al 6 %) se consideran clínicamente relevantes usando metodologías basadas tanto en el anclaje como en la distribución. En consecuencia, estos umbrales se aplicaron a los análisis de los datos del Estudio ATB200-03.

Los resultados observados en 6MWD y FVC para cipaglucosidasa alfa/miglustat representan mejoras clínicamente significativas para los pacientes. La mejora media de 21 metros en 6MWD para el brazo de cipaglucosidasa alfa/miglustat representó aproximadamente un aumento del 6 % con respecto al

valor basal (media de 358 metros), lo que indica una mejora clínicamente significativa a nivel de grupo, mientras que la mejora media para el brazo de alglucosidasa alfa, de 7 metros no alcanzó este umbral. En cuanto a la FVC, la mejora del 3 % de los sujetos tratados con cipagluco-sidasa alfa/miglustat en relación con alglucosidasa alfa/placebo indica una mejora clínicamente significativa a nivel de grupo, que es de magnitud similar a la mejora clínicamente significativa que demostró la propia alglucosidasa alfa frente a placebo en el estudio pivotal aleatorizado y controlado LOTS.

La relevancia clínica de estos análisis a nivel de grupo se ve respaldada por un análisis de respuesta a nivel de paciente compuesto y preespecificado que analiza las respuestas en la 6MWD, la FVC y la puntuación de extremidades inferiores de MMT usando umbrales de respuesta clínicamente significativos del $\pm 6\%$, $\pm 3\%$ y $\pm 7\%$, respectivamente, basados en la bibliografía médica mencionada anteriormente. Este análisis preespecificado mostró que una mayor relación de sujetos de la población global tratados con cipagluco-sidasa alfa/miglustat demostró una mejora clínicamente significativa y una menor relación demostró un empeoramiento clínicamente significativo en estos 3 criterios de valoración, lo que en conjunto favoreció a cipagluco-sidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.012$).

Una comparación preespecificada de los sujetos que experimentaron una mejoría clínicamente significativa tanto para la 6MWD como para la FVC mostró una relación significativamente mayor de sujetos con mejora en ambos dominios para cipagluco-sidasa alfa/miglustat ($p=0.041$). Se realizaron análisis *a posteriori* adicionales a nivel de paciente usando estos umbrales para la 6MWD ($\pm 6\%$) y la FVC ($\pm 3\%$) por separado y combinados. Estos análisis muestran que una mayor relación de sujetos tratados con cipagluco-sidasa alfa/miglustat demostró una mejora clínicamente significativa, y una menor relación demostró un empeoramiento clínicamente significativo, que los pacientes tratados con alglucosidasa alfa/placebo para la 6MWD ($p=0.018$) (FIG. 87A) y FVC ($p=0.011$) (FIG. 87B) individualmente, y tanto para la 6MWD como para la FVC ($p=0.002$) (FIG. 87C).

Los análisis de sensibilidad adicionales demuestran que, en un intervalo de umbrales de respuesta (por ejemplo, 6MWD $\pm$ 30m, $\pm$ 20m, $\pm$ 10m; FVC $\pm$ 9 %, $\pm$ 6 %, $\pm$ 3 %), una mayor proporción de sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat mostró una mejora clínicamente significativa y una menor proporción

5 mostró un empeoramiento clínicamente significativo frente a los sujetos tratados con alglucosidasa alfa/placebo.

Conclusiones - Estudio ATB200-03

Se comprobó la superioridad del criterio de valoración primario de 6MWD en la población global y, aunque numéricamente superior, no se alcanzó significación estadística para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat en comparación con el

10 grupo de alglucosidasa alfa/placebo (p=0.071).

En el primer criterio de valoración secundario clave, la FVC, cipaglucosidasa alfa/miglustat demostró una diferencia nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico (p=0.023) y clínicamente significativa de superioridad frente a

15 alglucosidasa alfa/placebo en la población global. La mejora absoluta del 3.0 % en la FVC frente a alglucosidasa alfa/placebo es casi tan grande como la observada en los estudios de Fase 3 de alglucosidasa alfa frente a placebo, y es de una magnitud considerada clínicamente significativa para los pacientes de acuerdo con la bibliografía médica.

Los análisis de respuesta a nivel de paciente basados en umbrales de cambio clínicamente relevantes indican que las mejoras observadas en 6MWD y FVC fueron clínicamente significativas.

20

En el subgrupo con experiencia con ERT, todos los criterios de valoración primarios y secundarios clave también mostraron mejora y favorecieron

25 direccionalmente a cipaglucosidasa alfa/miglustat, respaldando los resultados significativos en 6MWD y el % predicho de FVC en esta población. Los análisis de 6MWD y FVC arrojaron valores p de 0.047 y 0.006, respectivamente.

En la población más pequeña de pacientes sin tratamiento previo con ERT, los pacientes de ambos grupos de tratamiento mostraron mejora en la gran mayoría

30

de los criterios de valoración primarios y secundarios clave, con diferentes criterios de valoración numéricamente favorables a los distintos grupos de tratamiento.

Una prueba global *a posteriori* usando los criterios de valoración principales y los primeros criterios de valoración secundarios clave 6MWD y FVC mostró una significación estadística nominal en la Población de ITT global que incluía a todos los sujetos (p bilateral = 0.022) y respalda la significación de los resultados observados en cada uno de estos criterios de valoración por separado en la población estudiada.

En las 3 poblaciones, incluida la población global, la población con experiencia con ERT y la población sin tratamiento previo con ERT, las reducciones de los biomarcadores de daño muscular (CK) y sustrato de la enfermedad (Hex4) también fueron significativamente mayores con cipaglicosidasa alfa/miglustat en comparación con alglucosidasa alfa, con un valor de p nominal de $p < 0.001$ para ambos biomarcadores en el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat.

En resumen, la coadministración de cipaglicosidasa alfa 20 mg/kg en infusión IV y 260 mg de miglustat produjo mejoras clínicamente significativas y relevantes en todos los dominios importantes de la enfermedad de Pompe (fuerza muscular, función pulmonar y motora, y PRO) como cambio con respecto al valor basal. Además, cipaglicosidasa alfa/miglustat se vio favorecida en la dirección de los resultados a los que se tuvo acceso en la totalidad de los dominios importantes de la enfermedad de Pompe frente a alglucosidasa alfa/placebo en la población global.

Ejemplo 20: Estudio ATB200-07

Las poblaciones de análisis presentadas en este resumen son 1) la Población de OLE-ES (todos los sujetos que cumplieron los requisitos de elegibilidad (basados en los criterios de inclusión y exclusión) y entraron en el Estudio ATB200-07 y 2) la Población de OLE-FAS (todos los sujetos que entraron en el Estudio OLE ATB200-07 que tenían tanto un valor basal de ATB200-07 válido como al menos 1 evaluación postbasal para al menos 1 de los 6 criterios de valoración de eficacia principales [6MWD, % predicho de FVC en sedestación, MMT de extremidades inferiores,

PROMIS-Función física, PROMIS-Fatiga y GSGC]). Los datos de los 6 criterios principales de valoración de la eficacia se presentan 1) para la población de OLE-ES, excluyendo el caso atípico, y 2) para la población de OLE-FAS a partir del valor basal del Estudio ATB200-07, como se muestra a continuación.



Se trata de un estudio de extensión abierto en curso para evaluar la seguridad y eficacia a largo plazo de cipaglucoasida alfa/miglustat en sujetos adultos con LOPD que completaron el Estudio ATB200-03.

A partir del corte de datos provisional del 11 de enero de 2022, de los 123 sujetos (85 tratados con cipaglucoasida alfa/miglustat; 38 tratados con alglucoasida alfa) que se inscribieron en el Estudio ATB200-03, un total de 117 sujetos completaron el estudio y después se inscribieron en el Estudio ATB200-07. Dos sujetos adicionales (1107-1681 y 2010-1352) no completaron el Estudio ATB200-03 pero se inscribieron en el Estudio ATB200-07, con lo que el total de sujetos inscritos en el Estudio ATB200-07 (Población OLE-ES) ascendió a 119 (91 con experiencia con ERT y 28 sin tratamiento previo con ERT).

Como se ha indicado anteriormente, 2 sujetos que no completaron el Estudio ATB200-03 se inscribieron en el Estudio ATB200-07. El sujeto 1107-1681 interrumpió el tratamiento con cipaglucoasida alfa/miglustat en el Estudio ATB200-03 debido a un acontecimiento adverso (EA) de enfermedad por coronavirus 2019 que es causada por la neumonía relacionada con el virus SARS-Cov-2 (COVID-19), y posteriormente se inscribió en el Estudio ATB200-07. El sujeto 2010-1352

interrumpió el Estudio ATB200-03 por no estar dispuesto a viajar al centro del estudio debido a preocupaciones sobre la COVID-19, y posteriormente se inscribió en el Estudio ATB200-07.

De los 119 sujetos que se inscribieron en el Estudio ATB200-07 (población de OLE-ES), 82 (96.5 %) de los 85 sujetos tratados previamente con cipaglucoSIDasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-03 (grupo de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat) entraron en el Estudio ATB200-07 y continuaron el tratamiento con cipaglucoSIDasa alfa/miglustat (designado como grupo de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat - cipaglucoSIDasa alfa/miglustat), y 37 de los 38 (97.4 %) previamente tratados con alglucoSIDasa alfa en el Estudio ATB200-03 (grupo de alglucoSIDasa alfa/placebo) entraron en el Estudio ATB200-07 y cambiaron a cipaglucoSIDasa alfa/miglustat (designado como grupo de alglucoSIDasa alfa/placebo - cipaglucoSIDasa alfa/miglustat o población con cambio de tratamiento). Un sujeto del grupo de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat (Sujeto 2024-1101) retiró su consentimiento debido a la pandemia de COVID-19 y nunca se le administró la dosis en el Estudio ATB200-07. Por lo tanto, la población de seguridad de OLE comprendía 118 sujetos. Por último, 2 sujetos no proporcionaron un valor basal válido y al menos 1 evaluación postbasal para al menos 1 de los 6 principales criterios de valoración de la eficacia; por lo tanto, la Población de OLE-FAS comprendía 116 sujetos.

A partir del corte de datos (11 de enero de 2022), hubo una baja deserción de la Población de OLE-FAS en el Estudio ATB200-07, con un total de 11 (9.2 %) sujetos dosificados que abandonaron prematuramente el estudio. De los 7 sujetos del grupo de cipaglucoSIDasa alfa/miglustat - cipaglucoSIDasa alfa/miglustat que interrumpieron antes de tiempo, 5 sujetos retiraron el consentimiento, 1 sujeto interrumpió debido a un EA y 1 sujeto se perdió durante el seguimiento. De los 4 sujetos en el grupo de alglucoSIDasa alfa/placebo - cipaglucoSIDasa alfa/miglustat que interrumpieron prematuramente, 1 sujeto retiró su consentimiento, 2 sujetos interrumpieron debido a un EA y 1 sujeto interrumpió debido al empeoramiento de su estado.

Los datos demográficos basales fueron en general similares entre los sujetos que permanecieron con cipaglucoasidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07 (el grupo de cipaglucoasidasa alfa/miglustat - cipaglucoasidasa alfa/miglustat) y los sujetos que cambiaron de alglucoasidasa alfa/placebo en el Estudio ATB200-03 a cipaglucoasidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07 (el grupo de alglucoasidasa alfa/placebo - cipaglucoasidasa alfa/miglustat). El estado de ERT en el Estudio ATB200-07 para cada sujeto se basó en el estado de ERT registrado en el momento basal en el Estudio ATB200-03. De los 116 sujetos de la población del Estudio ATB200-07 OLE-FAS, el 23.3 % no habían recibido terapia de reemplazo hormonal (n = 27) y el 76.7 % habían recibido terapia de reemplazo hormonal (n = 89). El porcentaje de sujetos con o sin tratamiento previo con ERT en cada uno de los grupos de tratamiento del Estudio ATB200-03 fue similar. La mayoría (67.4 %) de los sujetos de ambos grupos de tratamiento tenía ≥ 5 años de tratamiento previo con ERT (69.2 % de los sujetos del grupo Estudio ATB200-03 cipaglucoasidasa alfa/miglustat y 63.3 % de los sujetos del grupo Estudio ATB200-03 alglucoasidasa alfa/placebo).

Los datos de eficacia se presentan en este resumen como cambio con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 (Población de OLE-ES). Los datos de referencia del Estudio ATB200-07 (Población de OLE-FAS) y en las Poblaciones experimentadas en ERT y no experimentadas en ERT son consistentes con los observados para la Población de OLE-ES en general.

6MWD y % predicho de 6MWD

Como se muestra en la FIG. 88, los sujetos del grupo de cipaglucoasidasa alfa/miglustat (que fueron tratados con cipaglucoasidasa alfa/miglustat durante 52 semanas en el Estudio ATB200-03 y continuaron el tratamiento con cipaglucoasidasa alfa/miglustat durante 52 semanas adicionales en el Estudio ATB200-07) mostraron una mejora a lo largo del Estudio ATB200-03, que se mantuvo a continuación hasta la Semana 104. Los sujetos del grupo de alglucoasidasa alfa/placebo (que fueron tratados con alglucoasidasa alfa/placebo durante 52 semanas en el Estudio ATB200-03 y cambiaron a cipaglucoasidasa alfa/miglustat durante 52 semanas en el Estudio

ATB200-07) mostraron mejoras menores que el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat mientras recibieron alglucosidasa alfa hasta la Semana 52, a continuación, en general, se estabilizó en un nivel más bajo que el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat después de cambiar a cipaglicosidasa alfa/miglustat hasta la semana 104.

% predicho de FVC en sedestación

Como se muestra en la FIG. 89, los sujetos del grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat (que fueron tratados con cipaglicosidasa alfa/miglustat durante 52 semanas en el Estudio ATB200-03 y continuaron con cipaglicosidasa alfa/miglustat durante 52 semanas adicionales en el Estudio ATB200-07) mostraron un ligero descenso con respecto al valor basal hasta el Estudio ATB200-03, estabilizándose a continuación hasta la Semana 104. Los sujetos del grupo de alglucosidasa alfa/placebo (que fueron tratados con alglucosidasa alfa/placebo durante 52 semanas en el Estudio ATB200-03 y cambiaron a cipaglicosidasa alfa/miglustat durante 52 semanas en el Estudio ATB200-07) mostraron un mayor declive que el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat mientras recibieron alglucosidasa alfa hasta la Semana 52, a continuación, en general, se estabilizó en un nivel más bajo que el grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat después de cambiar a cipaglicosidasa alfa/miglustat hasta la semana 104, con cierta variabilidad de una visita a otra durante el Estudio ATB200-07.

Otros criterios de valoración secundarios principales

Los resultados de los demás criterios de valoración principales (MMT de extremidades inferiores, PROMIS-Función física, PROMIS-Fatiga y GSGC) coincidieron en general con los observados para 6MWD. Para los sujetos que fueron tratados con cipaglicosidasa alfa/miglustat a través de los Estudios ATB200-03 y ATB200-07, MMT de extremidades inferiores, PROMIS-Función Física, PROMIS-Fatiga, y GSGC mejoraron o permanecieron estables a lo largo del Estudio ATB200-03, y a continuación se estabilizaron a lo largo del Estudio ATB200-07. En los sujetos tratados con alglucosidasa alfa/placebo durante el Estudio ATB200-03 y que cambiaron a cipaglicosidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07, el MMT de las

extremidades inferiores y el PROMIS-Fatiga mostraron una ligera mejora con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03, y a continuación mejoraron aún más o se estabilizaron en la semana 104. PROMIS-Función física y el GSGC permanecieron generalmente estables con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 hasta el Estudio ATB200-07.

Farmacodinámica

Los análisis del cambio medio en los marcadores PD CK y Hex4 con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 hasta la Semana 104 respaldan los resultados presentados para los 6 criterios principales de valoración de la eficacia (FIG. 90A y 90B). Para los sujetos del grupo de cipaglicosidasa alfa/miglustat (que fueron tratados con cipaglicosidasa alfa/miglustat durante 52 semanas en el Estudio ATB200-03 y continuaron con cipaglicosidasa alfa/miglustat durante 52 semanas adicionales en el Estudio ATB200-07), CK (intervalo normal para las mujeres: de 34 a 145 U/l; intervalo normal para los hombres: de 46 a 171 U/l) y Hex4 (intervalo normal: 3.0 mmol/mol de creatinina) disminuyeron sustancialmente hasta la semana 52, y a continuación se estabilizaron desde la semana 52 hasta la 104. En los sujetos del grupo de alglucosidasa alfa/placebo (que fueron tratados con alglucosidasa alfa/placebo durante 52 semanas en el Estudio ATB200-03 y cambiaron a cipaglicosidasa alfa/miglustat durante 52 semanas en el Estudio ATB200-07), la CK se mantuvo en general estable o ligeramente por encima de los valores basales del Estudio ATB200-03 hasta la semana 52, y a continuación disminuyó sustancialmente después de que los sujetos cambiaran a cipaglicosidasa alfa/miglustat en la semana 52 hasta la semana 104. Hex4 aumentó con respecto al valor basal de ATB200-03 hasta la semana 52 mientras los sujetos fueron tratados con alglucosidasa alfa/placebo, y a continuación disminuyó después de que los sujetos cambiaran a cipaglicosidasa alfa/miglustat hasta la semana 104.

Conclusión

El Estudio ATB200-07, junto con los datos de eficacia del Estudio ATB200-02, proporciona datos que respaldan el mantenimiento y la durabilidad del efecto de la cipaglicosidasa alfa/miglustat. La Tabla 56 es un resumen de los cambios con

respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 en la semana 52 (valor basal del Estudio ATB200-07) y en la semana 104 (semana 52 del Estudio ATB200-07).

La mayoría de los 6 criterios de valoración principales (es decir, 6MWD, MMT de las extremidades inferiores, PROMIS-Función Física, PROMIS-Fatiga y GSGC) de ambos grupos de tratamiento permanecieron estables o mejoraron durante el Estudio ATB200-03. En los sujetos que siguieron recibiendo cipaglucoasidasa alfa/miglustat durante el Estudio ATB200-07, se mantuvieron los beneficios del tratamiento con cipaglucoasidasa alfa/miglustat. Los sujetos que cambiaron de alglucoasidasa alfa/placebo a cipaglucoasidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07 mostraron estabilidad o mejora en la mayoría de los criterios de valoración. En los sujetos que permanecieron en tratamiento con cipaglucoasidasa alfa/miglustat durante el Estudio ATB200-07, el % predicho de FVC en sedestación mostró un ligero descenso con respecto al valor basal hasta el Estudio ATB200-03, y después se estabilizó durante el Estudio ATB200-07. Para los sujetos que cambiaron de alglucoasidasa alfa/placebo a cipaglucoasidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07, el % predicho de FVC en sedestación mostró un descenso sustancial en el Estudio ATB200-03, y a continuación se estabilizó en un nivel inferior a lo largo del Estudio ATB200-07. En conjunto, estos resultados respaldan el beneficio de cipaglucoasidasa alfa/miglustat en pacientes con LOPD.

Para los sujetos de la Población de OLE-ES que fueron tratados con cipaglucoasidasa alfa/miglustat a través de los Estudios ATB200-03 y ATB200-07, la CK y la Hex4 disminuyeron sustancialmente a lo largo del Estudio ATB200-03, y a continuación se estabilizaron a lo largo del Estudio ATB200-07. Para los sujetos que cambiaron a cipaglucoasidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07, la CK permaneció generalmente estable o ligeramente por encima de los valores basales del Estudio ATB200-03 hasta la Semana 52 mientras los sujetos eran tratados con alglucoasidasa alfa/placebo, a continuación disminuyó sustancialmente después de que los sujetos cambiaran a cipaglucoasidasa alfa/miglustat hasta la Semana 104. Los niveles de Hex4 aumentaron con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 hasta la semana 52 mientras los sujetos eran tratados con alglucoasidasa

alfa/placebo, y a continuación disminuyeron sustancialmente después de que los sujetos cambiaran a cipaglicosidasa alfa/miglustat hasta la semana 104.

Los análisis de los sujetos con experiencia con ERT y de los sujetos sin tratamiento previo con ERT respaldan los resultados de la población global.

5 **Tabla 56: Resumen de las evaluaciones de eficacia - Cambio con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 en la semana 52 y en la semana 104 del Estudio ATB200-07 (población de OLE-ES excluyendo al Sujeto 4005-2511)**

10	Evaluaciones de la respuesta clínica (Eficacia y farmacodinámica seleccionadas)	Valor basal medio (DE) y cambio con respecto al valor basal de ATB200-03 en la Semana 52 y en la Semana 104					
		Cipaglicosidasa alfa/Miglustat (n = 82) ^a			Alglucosidasa alfa/Placebo (n = 36) ^a		
		BSL	CFB seman a 52	CFB seman a 104	BSL	CFB seman a 52	CFB seman a 104
20	6MWD (m)	354.9 (112.39)) (n = 82)	20.6 (42.27) (n = 81)	20.2 (53.58) (n = 74)	351.7 (122.96)) (n = 36)	8.0 (40.56) (n = 36)	3.3 (56.24) (n = 33)
25	FVC en sedestación (% predicho)	70.7 (19.92) (n = 82)	-1.1 (6.32) (n = 74)	-1.6 (7.45) (n = 70)	69.5 (21.75) (n = 36)	-3.6 (4.70) (n = 32)	-3.6 (6.18) (n = 29)
30	MMT (puntuación de extremidades inferiores)	27.9 (5.85) (n = 81)	1.6 (3.91) (n = 73)	1.8 (4.16) (n = 68)	27.8 (6.23) (n = 33)	0.9 (2.65) (n = 32)	1.1 (2.91) (n = 27)

5	Evaluaciones de la respuesta clínica (Eficacia y farmacodinámica seleccionadas)	Valor basal medio (DE) y cambio con respecto al valor basal de ATB200-03 en la Semana 52 y en la Semana 104					
		Cipaglucosidasa alfa/Miglustat (n = 82) ^a			Alglucosidasa alfa/Placebo (n = 36) ^a		
		BSL	CFB semana 52	CFB semana 104	BSL	CFB semana 52	CFB semana 104
10	PROMIS-Función física	67.0 (12.41) (n = 81)	2.2 (7.46) (n = 80)	2.3 (9.11) (n = 75)	67.9 (13.27) (n = 36)	0.3 (10.97) (n = 36)	-0.4 (10.52) (n = 33)
15	PROMIS-Fatiga	22.1 (8.40) (n = 82)	-2.3 (5.79) (n = 80)	-1.6 (5.88) (n = 74)	21.2 (6.12) (n = 36)	-1.7 (6.72) (n = 36)	-0.1 (7.94) (n = 33)
	GSGC	14.4 (5.25) (n = 71)	-0.6 (2.65) (n = 59)	-1.0 (2.72) (n = 58)	14.3 (4.69) (n = 31)	0.9 (1.93) (n = 25)	0.3 (2.75) (n = 25)
20	CK	440.6 (403.15)) (n = 82)	-129.1 (234.12)) (n = 77)	-154.9 (224.89)) (n = 67)	527.4 (432.62)) (n = 36)	41.0 (140.15)) (n = 35)	-173.6 (276.06)) (n = 32)
25	Hex4	4.6 (3.36) (n = 81)	-2.0 (2.52) (n = 72)	-2.1 (3.07) (n = 73)	7.0 (7.01) (n = 36)	1.6 (4.50) (n = 33)	-2.7 (3.48) (n = 32)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; BSL = valor basal; CFB = cambio con respecto al valor basal; CK = creatina cinasa; FVC = capacidad vital forzada; GSGC = ensayo de marcha, escalera, maniobra de Gowers y silla; Hex4 = tetrasacárido de hexosa; MMT = ensayo muscular manual; n = número de sujetos; PROMIS =

Sistema de Información de Medición de resultados informados por los Pacientes;
wk = semana

Nota: Semana 52 = Momento basal del estudio ATB200-07.

Nota: Tanto para PROMIS-Fatiga como para GSGC, la disminución indica mejora.

^a n en el momento basal del Estudio ATB200-03. Cualquier diferencia en el n en el momento basal se indica entre paréntesis.

Ejemplo 21: Comparación de los resultados de eficacia entre estudios

Los resultados detallados de eficacia incluidos en el presente documento se presentan para los tres estudios individuales mencionados. Debido a las diferencias inherentes en los diseños y metodologías de los estudios, la comparación de la eficacia se ha limitado a 6MWD y % predicho de FVC entre los estudios ATB200-03/07 y ATB200-02 en Tabla 57 y Tabla 58. Los datos del Estudio ATB200-03/07 excluyen el valor atípico. Nótese que los datos del grupo de alglucosidasa alfa/cipaglucosidasa alfa representan 12 meses tratados con alglucosidasa alfa/placebo seguidos de 12 meses tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat. Los beneficios observados en 6MWD y % predicho de FVC en el Estudio ATB200-03 y mantenidos en el Estudio ATB200-07 están respaldados por los resultados direccionalmente consistentes del Estudio ATB200-02. Nótese que las mejoras en el % predicho de FVC observados en el Estudio ATB200-02 se produjeron en sujetos con valores basales inferiores a los del Estudio ATB200-03.

Tabla 57: Comparación de los resultados de 6MWD entre los estudios ATB200-03/07 y ATB200-02

Población	Estudio	Tratamiento	N (en el Mome nto basal)	Media (DE) de Valor basal	Media (DE) de CFBL M12 (S52)	Media (DE) de CFBL M24 (S104)
Con experiencia con ERT	ATB200- 03/07	Alglucosidasa alfa/ Cipaglucosida sa alfa	29	335.0 (116.0 3)	0.7 (39.84)	-8.8 (46.19)
		Cipaglucosida sa alfa	62	342.4 (110.4 0)	16.3 (39.46)	14.2 (53.44)
	ATB200- 02	Cipaglucosida sa alfa	16 ^a	393.5 (119.6 6)	33.5 (49.62)	25.2 (63.30)
Sin tratamiento previo con ERT	ATB200- 03/07	Alglucosidasa alfa/ Cipaglucosida sa alfa	7	420.9 (135.7 5)	38.3 (29.32)	48.3 (70.56)
		Cipaglucosida sa alfa	20	393.6 (112.3 9)	33.4 (48.70)	38.8 (51.03)
	ATB200- 02	Cipaglucosida sa alfa	6 ^b	396.0 (75.20)	57.0 (29.96)	54.4 (36.18)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):

6MWD = distancia caminada en 6 minutos; CFBL = cambio con respecto al valor

basal; ERT = terapia de reemplazo enzimático; M = mes; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; DE = desviación estándar; S = semana

- ^a Cohortes 1 y 4 combinadas
- ^b Cohorte 3

5

10

15

20

25

30

Tabla 58: Comparación de los resultados de % predicho de FVC entre los estudios ATB200-03/07 y ATB200-02

Población	Estudio	Tratamiento	N (en el Mome nto basal)	Media (DE) de Valor basal	Media (DE) de CFBL M12 (S52)	Media (DE) de CFBL M24 (S104)
Con experiencia con ERT	ATB200- 03/07	Alglucosidasa alfa/ Cipaglucosida sa alfa	29	67.2 (21.29	-3.5 (4.72)	-3.8 (6.23)
		Cipaglucosida sa alfa	62	67.7 (19.48)	0.1 (5.94)	-0.6 (7.50)
	ATB200- 02	Cipaglucosida sa alfa	16 ^a	57.4 (17.42)	-1.2 (5.95)	1.0 (7.96)
Sin tratamiento previo con ERT	ATB200- 03/07	Alglucosidasa alfa	7	79.1 (22.58)	-4.0 (5.05)	-3.1 (6.66)
		Cipaglucosida sa alfa	20	80.2 (18.69)	-4.7 (6.20)	-4.8 (6.48)
	ATB200- 02	Cipaglucosida sa alfa	6 ^b	57.2 (20.84)	3.2 (8.42)	4.7 (5.09)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 CFBL = cambio con respecto al valor basal; ERT = terapia de reemplazo enzimático;
 FVC = capacidad vital forzada; M = mes; N = número de sujetos en el grupo de
 tratamiento; SD = desviación estándar; S = semana

- 5 a Cohortes 1 y 4 combinadas
- b Cohorte 3

Eficacia integrada incluyendo el sujeto atípico

Los análisis de eficacia agrupados presentados dentro de esta sección incluyen el caso atípico (Grupo 2). Los resultados de estos análisis agrupados concuerdan con los del Estudio ATB200-03. También se realizaron análisis de
 10 eficacia agrupados que excluían al sujeto atípico (Grupo 2A). Estos análisis mostraron que las mejoras en 6MWD y la estabilización de FVC se mantuvieron más allá de 24 meses en el brazo de cipaglucosidasa alfa/miglustat.

6MWT

15 Los datos demuestran una mejora inicial en la 6MWD que se mantuvo por encima del valor basal hasta > 24 meses en sujetos que recibieron cipaglucosidasa alfa/miglustat. La media (DE) de mejora en 6MWD para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat fue de 17.1 (44.92) metros en ≤ 15 meses ($n = 143$), 17.7 (55.61) metros en > 15 a ≤ 24 meses ($n = 108$) y 9.7 (67.13) metros en > 24 meses ($n = 70$).
 20 No se dispone de datos a largo plazo del grupo de alglucosidasa alfa/placebo, ya que todos los sujetos cambiaron a cipaglucosidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07.

Los datos para el % predicho de 6MWD demuestran un patrón similar en los sujetos que reciben cipaglucosidasa alfa/miglustat después de al menos 24 meses de administración del tratamiento. La mejora media (DE) en el % predicho de 6MWD
 25 para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat fue de 3.3 (10.84) ($n = 70$).

Las mejoras en 6MWD y el % predicho de 6MWD por encima del valor basal se mantuvieron más allá de los 24 meses con el valor atípico incluido o excluido. En la Tabla 59 se presenta un resumen de 6MWD por intervalo de exposición de los
 30 datos de eficacia agrupados, incluido el valor atípico.

Tabla 59: Resumen de 6MWD (metros) por intervalo de exposición (Grupo 2: Estudios ATB200-02/03/07 - Población de eficacia, incluido el caso atípico)

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 143)			Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 38)
	≤ 15 meses (N = 143)	> 15 a ≤ 24 meses (N = 121)	> 24 meses (N = 100)	≤ 15 meses (N = 38)
Valor basal ^a				
n	143	108	70	38
Media (DE)	367.10 (120.278)	366.33 (105.788)	367.77 (105.001)	350.14 (119.776)
Mediana (mín, máx)	373.75 (67.0, 675.4)	369.25 (79.0, 575.0)	376.43 (105.0, 575.0)	358.45 (112.5, 623.0)
Cambio con respecto al valor basal ^b				
n	143	108	70	38
Media (DE)	17.13 (44.916)	17.67 (55.609)	9.67 (67.129)	16.40 (69.027)
Mediana (mín, máx)	12.00 (-78.0, 179.5)	11.75 (-173.1, 185.5)	5.23 (-260.0, 179.5)	3.15 (-55.6, 355.2)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 6MWD = distancia caminada en 6 minutos; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; SAP = plan de análisis estadístico; SCE = Resumen de eficacia clínica; DE = desviación estándar

^a Para los estudios ATB200-02 y ATB200-03, el valor basal fue el mismo que el valor basal del estudio. Para el Estudio ATB200-07, la ampliación del Estudio ATB200-03, el valor basal dependía del grupo de tratamiento al que el sujeto había sido asignado aleatoriamente en el Estudio ATB200-03. Consulte el SAP de la SCE para obtener una definición detallada.

^b Cambio con respecto al valor basal = el último valor postbasal disponible - valor basal, sin imputación para el valor faltante

Función pulmonar

Los datos demuestran pequeños descensos en el % predicho de FVC que son ligeramente mayores a > 24 meses en sujetos que reciben cipaglucosidasa alfa/miglustat. El cambio medio (DE) con respecto al valor basal en la FVC para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat fue -0.74 (6.121) a ≤ 15 meses (n = 139), -0.88 (7.103) a > 15 a ≤ 24 meses (n = 97) y -2.55 (8.393) a > 24 meses (n = 68). No se dispone de datos a largo plazo del grupo de alglucosidasa alfa/placebo, ya que todos los sujetos cambiaron a cipaglucosidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07. Estas mejoras en la FVC se mantuvieron más allá de los 24 meses con el valor atípico incluido o excluido. En la Tabla 60 se presenta un resumen del % predicho de FVC en sedestación por intervalo de exposición de los datos de eficacia agrupados, incluido el valor atípico.

Tabla 60: Resumen de % predicho de FVC en sedestación por intervalo de exposición (Grupo 2: Estudios ATB200-02/03/07 - Población de eficacia, incluido el caso atípico)

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 143)			Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 38)
	≤ 15 meses (N = 143)	> 15 a ≤ 24 meses (N = 121)	> 24 meses (N = 100)	≤ 15 meses (N = 38)
Valor basal ^a				

	Cipaglucosidasa Alfa/Miglustat (N = 143)			Alglucosidasa Alfa/Placebo (N = 38)
	≤ 15 meses (N = 143)	> 15 a ≤ 24 meses (N = 121)	> 24 meses (N = 100)	≤ 15 meses (N = 38)
n	139	97	68	38
Media (DE)	67.51 (19.836)	66.89 (20.174)	67.15 (19.174)	70.04 (21.301)
Mediana (mín, máx)	68.00 (30.5, 132.5)	67.50 (30.5, 132.5)	69.00 (31.0, 107.0)	71.25 (31.5, 122.0)
Cambio con respecto al valor basal ^b				
n	139	97	68	38
Media (DE)	-0.74 (6.121)	-0.88 (7.103)	-2.55 (8.393)	-3.64 (5.170)
Mediana (mín, máx)	-1.00 (-16.0, 22.5)	-1.00 (-24.0, 17.0)	-2.25 - (-25.0, 17.0)	-3.00 (-19.5, 7.5)

Abreviaturas (en todos los casos hacen referencia a sus siglas en inglés):
 FVC = capacidad vital forzada; máx = máximo; mín = mínimo; N = número de sujetos
 en cada grupo de tratamiento; n = número de sujetos con datos disponibles; SAP =
 plan de análisis estadístico; SCE = resumen de eficacia clínica; SD = desviación
 estándar

^a Para los estudios ATB200-02 y ATB200-03, el valor basal es el mismo
 que el valor basal del estudio. Para el Estudio ATB200-07, la ampliación del
 Estudio ATB200-03, el valor basal depende del grupo de tratamiento al que el
 sujeto había sido aleatorizado en el Estudio ATB200-03. Consulte el SAP de la
 SCE para obtener una definición detallada.

^b Cambio con respecto al valor basal = el último valor postbasal
 disponible - valor basal, sin imputación para el valor faltante

MMT

Los datos demuestran que la mejora inicial en la puntuación de MMT de las extremidades inferiores se mantuvo hasta > 24 meses en los sujetos que recibieron cipaglucosidasa alfa/miglustat. El cambio medio (DE) con respecto al valor basal en la puntuación de extremidades inferiores de MMT para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat fue de 1.36 (3.807) en los sujetos expuestos a cipaglucosidasa alfa/miglustat en ≤ 15 meses (n = 135), 1.73 (3.675) en > 15 a ≤ 24 meses (n = 101) y 1.98 (4.527) en > 24 meses (n = 65). Estas mejoras de MMT se mantuvieron más allá de los 24 meses con el valor atípico incluido o excluido.

GSGC

Los datos demuestran que la mejora inicial en la puntuación total de GSGC con respecto al valor basal se mantuvo y mejoró aún más hasta > 24 meses en los sujetos que recibieron cipaglucosidasa alfa/miglustat. El cambio medio (DE) con respecto al valor basal en la puntuación total de la GSGC para el grupo de cipaglucosidasa alfa/miglustat fue de -0.51 (2.947) en los sujetos expuestos a cipaglucosidasa alfa/miglustat en ≤ 15 meses (n = 123), -0.86 (3.086) en > 15 a ≤ 24 meses (n = 87) y -1.12 (3.586) en > 24 meses (n = 56). Nótese que una puntuación negativa indica una mejora. Estas mejoras en GSGC se mantuvieron más allá de los 24 meses con el valor atípico incluido o excluido.

Análisis de subgrupos

Se realizaron análisis de los datos de eficacia agrupados por los siguientes subgrupos y por intervalo de exposición (≤ 15 meses, > 15 a ≤ 24 meses, > 24 meses):

- Género: Hombre o Mujer
- Estado de ERT (categorizado como con experiencia con ERT frente a sin tratamiento previo con ERT)
- Raza: Blancos, japoneses, asiáticos (excluidos los japoneses), negros o afroamericanos y otros (o blancos, no blancos)
- 6MWD basal (categorizada como 75 a < 150 metros, 150 a < 400 metros y ≥ 400 metros)

- Edad: ≥ 18 a < 35 años, ≥ 35 a < 50 años, ≥ 50 a < 65 años, y ≥ 65 años
- Duración de la ERT previa: ≥ 2 a < 3 años, ≥ 3 a < 5 años, ≥ 5 a < 8 años, y ≥ 8 años
- Reacción previa asociada a infusión: sí y no

Los resultados de eficacia por subgrupos fueron en general consistentes con los resultados en la población global. Aunque el tamaño de la muestra fue limitado en muchos subgrupos y los resultados deben interpretarse con cautela, a continuación se señalan algunas diferencias entre los subgrupos en cuanto al cambio con respecto al valor basal en la 6MWD. En cuanto a la raza, había muy pocos sujetos no blancos para interpretar estos análisis de subgrupos.

En cuanto al cambio con respecto al valor basal en la 6MWD, no hubo diferencias notables entre los resultados de hombres y mujeres, ni entre los sujetos con experiencia con ERT de acuerdo con la duración de la exposición previa a ERT o de acuerdo con los antecedentes de IAR. Aunque los IC estaban superpuestos, se observó de forma consistente un mayor cambio medio con respecto al valor basal en la 6MWD en los sujetos sin tratamiento previo con ERT en comparación con los sujetos con experiencia con ERT, con diferencias notables entre los subgrupos de ERT para los sujetos con menos de 15 meses de exposición (con cipaglucosidasa alfa/miglustat o alglucosidasa alfa/placebo). De manera similar, aunque el número de sujetos con 6MWD basales muy bajas fue bastante reducido, se observó de forma consistente una mejora superior con respecto al valor basal entre los sujetos con 6MWD basales más altas que entre los sujetos con 6MWD basales más bajas. Las observaciones entre categorías de edad también destacaban por una observación de menor mejora con el aumento de la edad, con las diferencias más notables en la categoría de mayor edad, aunque el número de sujetos ≥ 65 años era pequeño.

En cuanto al cambio con respecto al valor basal en el % predicho de FVC, no hubo diferencias notables entre los resultados en hombres y mujeres, con experiencia con ERT frente a sin tratamiento previo con ERT, 6MWD basal,

categorías de edad, o entre los sujetos con experiencia con ERT de acuerdo con la duración de la exposición previa a la ERT o en función de los antecedentes de IAR.

Ejemplo 23: Eficacia y/o tolerancia

Los datos a largo plazo de los estudios ATB200-02, ATB200-03 y ATB200-07 respaldan la durabilidad y persistencia de la eficacia de cipaglucoasidasa alfa/miglustat. Los datos del estudio controlado ATB200-03 mostraron una mejora continuada con respecto al valor basal hasta la semana 52, y los datos de los análisis integrados de todos los estudios mostraron que las mejoras se mantuvieron o continuaron > 24 meses. El Estudio ATB200-02 mostró mejoras que se mantuvieron o continuaron hasta los 48 meses.

Los datos de eficacia de los 3 estudios clínicos sobre la enfermedad de Pompe en adultos se agruparon y analizaron para respaldar adicionalmente la eficacia a largo plazo de cipaglucoasidasa alfa/miglustat en sujetos adultos. Los datos de sujetos no ambulatorios (Cohorte 2 del Estudio ATB200-02) no se incluyeron en el conjunto, ya que los criterios de valoración de la eficacia de este grupo se solapaban poco con los de los distintos grupos ambulatorios, tal como la 6MWD y la MMT inferior.

Los 3 estudios clínicos sobre la enfermedad de Pompe en adultos se agruparon de la siguiente manera:

- El grupo de tratamiento con cipaglucoasidasa alfa/miglustat consiste en:
 - o Todos los sujetos ambulatorios del Estudio ATB200-02 (Cohortes 1, 3 y 4),
 - o Todos los sujetos asignados al azar al grupo de tratamiento con cipaglucoasidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-03, y
 - o Todos los sujetos inscritos en el Estudio ATB200-07.
- El grupo de tratamiento con alglucoasidasa alfa/placebo consiste en:

o Todos los sujetos aleatorizados al grupo de tratamiento ERT en el Estudio ATB200-03.

Un total de 151 sujetos con LOPD han sido expuestos a cipaglucosidasa alfa/miglustat en los estudios ATB200-02, ATB200-03 y ATB200-07. La duración media (DE) de la exposición fue de 28.0 (14.27) meses, y 105 sujetos han estado expuestos durante más de 24 meses. La exposición más prolongada a cipaglucosidasa alfa/miglustat para cualquier sujeto fue de 64.9 meses. Nótese que todos los sujetos que completaron el Estudio ATB200-03 se inscribieron en el Estudio ATB200-07 y continuaron o iniciaron el tratamiento con cipaglucosidasa alfa/miglustat.

Los datos a largo plazo del Estudio ATB200-02 también respaldan que los efectos de la cipaglucosidasa alfa/miglustat fueron duraderos y se mantuvieron durante 48 meses. A fecha de corte de los datos del 13 de diciembre de 2021, había un total de 29 sujetos inscritos y tratados en el Estudio ATB200-02 y la mayoría de los sujetos tenía ≥ 48 meses de exposición. En la Tabla 26 se presenta un resumen de los resultados de eficacia en los principales dominios de la enfermedad de Pompe en el Estudio ATB200-02. En resumen, las mejoras de la función motora observados durante el primer año se mantuvieron en los sujetos ambulatorios de todas las cohortes independientemente de la experiencia con la ERT. El tratamiento también produjo una mejora de los PFT en los sujetos sin tratamiento previo con ERT y PFT estables o mejorados en los sujetos con tratamiento previo con ERT, independientemente de su estado ambulatorio, medidos mediante el % predicho de FVC, MIP, MEP y SNIP, así como una fuerza muscular estable o mejorada en todas las partes del cuerpo sometidas a ensayo, tanto en los sujetos ambulatorios como en los no ambulatorios, medida mediante MMT. Las mejoras se mantuvieron hasta los 48 meses de exposición.

Los datos a largo plazo de la extensión abierta del estudio ATB200-03, el estudio ATB200-07, respaldan que los efectos de la cipaglucosidasa alfa/miglustat se mantuvieron durante al menos 24 meses. A fecha de corte de los datos del 11 de enero de 2022, un total de 118 sujetos estaban inscritos y tratados en el Estudio

ATB200-07, y 79 sujetos tenían > 24 meses de exposición. En la Tabla 56 se presenta un resumen de los resultados de eficacia en los principales dominios de la enfermedad de Pompe en el Estudio ATB200-07. En resumen, la mayoría de los 6 criterios de valoración principales (es decir, 6MWD, MMT de las extremidades inferiores, PROMIS-Función Física, PROMIS-Fatiga y GSGC) de ambos grupos de tratamiento permanecieron estables o mejoraron durante el Estudio ATB200-03. En los sujetos que siguieron recibiendo cipaglucosidasa alfa/miglustat durante el Estudio ATB200-07, se mantuvieron los beneficios del tratamiento con cipaglucosidasa alfa/miglustat. Los sujetos que cambiaron de alglucosidasa alfa/placebo a cipaglucosidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07 mostraron estabilidad o mejora en la mayoría de los criterios de valoración. En cuanto al % predicho de FVC en sedestación, los sujetos que permanecieron en tratamiento con cipaglucosidasa alfa/miglustat durante el Estudio ATB200-07 mostraron un ligero declive con respecto al valor basal hasta el Estudio ATB200-03, y después se estabilizaron durante el Estudio ATB200-07. Los sujetos que cambiaron de alglucosidasa alfa/placebo a cipaglucosidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07 mostraron un declive sustancial en el Estudio ATB200-03, y a continuación se estabilizaron en un nivel inferior a lo largo del Estudio ATB200-07.

Para los sujetos de la Población de OLE-ES que fueron tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat a través de los Estudios ATB200-03 y ATB200-07, la CK y la Hex4 disminuyeron sustancialmente a lo largo del Estudio ATB200-03, y a continuación se estabilizaron a lo largo del Estudio ATB200-07. Para los sujetos que cambiaron a cipaglucosidasa alfa/miglustat en el Estudio ATB200-07, la CK permaneció generalmente estable o ligeramente por encima de los valores basales del Estudio ATB200-03 hasta la Semana 52 mientras los sujetos eran tratados con alglucosidasa alfa/placebo, a continuación disminuyó sustancialmente después de que los sujetos cambiaran a cipaglucosidasa alfa/miglustat hasta la Semana 104. Los niveles de Hex4 aumentaron con respecto al valor basal del Estudio ATB200-03 hasta la semana 52 mientras los sujetos eran tratados con alglucosidasa

alfa/placebo, y a continuación disminuyeron sustancialmente después de que los sujetos cambiaran a cipaglicosidasa alfa/miglustat hasta la semana 104.

Los análisis integrados de eficacia de los estudios ATB200-02, ATB200-03 y ATB200-07 muestran que los efectos de la cipaglicosidasa alfa/miglustat fueron duraderos y se mantuvieron durante 24 meses.

Conclusiones

Pompe es una enfermedad monogenética directamente atribuible a la mutación en el gen que codifica la GAA y a una deficiencia resultante de GAA, principalmente en corazón, músculo esquelético e hígado, que conduce a la acumulación de glucógeno lisosómico y a la fisiopatología de la enfermedad relacionada. Alglucosidasa alfa ha demostrado el beneficio clínico de la ERT IV con rhGAA en pacientes con enfermedad de Pompe, que muestran una mejora inicial de la FVC y otros parámetros. Sin embargo, como se ha descrito anteriormente, en la última década los ensayos clínicos han demostrado que la carga de la enfermedad sigue siendo elevada y que persiste una morbilidad sustancial incluso con el tratamiento con ERT. Después de una mejora inicial, muchos pacientes tratados con alglucosidasa alfa siguen empeorando de tal manera que requieren asistencia ambulatoria y ventilatoria. Cipaglicosidasa alfa/miglustat aborda importantes necesidades mecánicas y clínicas no cubiertas de una terapia más eficaz para tratar la enfermedad de Pompe.

En el Estudio pivotal ATB200-03, en la población global, los criterios de valoración clave del estudio que evaluaban la función motora, la función pulmonar y la fuerza muscular mejoraron con respecto al valor basal y favorecieron a cipaglicosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo. Los sujetos tratados con cipaglicosidasa alfa/miglustat caminaron en promedio 21 metros más que en el momento basal en comparación con los 7 metros de los pacientes tratados con alglucosidasa alfa/placebo, una diferencia de 14 metros ($p=0.071$).

En el primer criterio de valoración secundario clave de % predicho de FVC en sedestación, los sujetos tratados con cipaglicosidasa alfa/miglustat mostraron un descenso absoluto del 0.9 % en comparación con un descenso absoluto del

4.0 % en el brazo de alglucosidasa alfa/placebo, una diferencia del 3.0 %, que fue nominalmente significativa desde el punto de vista estadístico y representa una estabilización clínicamente significativa de la FVC ($p=0.023$). Este beneficio relativo en la FVC frente a alglucosidasa alfa/placebo es de magnitud similar al beneficio observado en los estudios de Fase 3 de alglucosidasa alfa frente a placebo y se considera clínicamente significativo para los pacientes de acuerdo con las diferencias mínimas clínicamente importantes (MCID) notificadas en la bibliografía médica.

Para respaldar adicionalmente la importancia y consistencia del efecto del tratamiento con cipaglucosidasa alfa/miglustat en los criterios de valoración primarios y secundarios clave de 6MWD y % predicho de FVC, se realizó un ensayo global a posteriori para evaluar la superioridad de cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo. Este ensayo global mostró una mejora superior en los sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.010$) y respalda los resultados observados en cada uno de estos criterios de valoración por separado en las distintas poblaciones estudiadas.

Los resultados observados en 6MWD y FVC para cipaglucosidasa alfa/miglustat representan mejoras clínicamente significativas sobre alglucosidasa alfa/placebo. Para la FVC, la mejora media del 3 % para los sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat en relación con alglucosidasa alfa/placebo indica una mejora clínicamente significativa a nivel de grupo y es de magnitud similar a la mejora clínicamente significativa que demostró la propia alglucosidasa alfa frente a placebo. Los análisis adicionales de respuesta a nivel de paciente muestran que una mayor relación de sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat tuvo una mejora clínicamente significativa, y una menor relación tuvo un empeoramiento clínicamente significativo, que los pacientes tratados con alglucosidasa alfa/placebo para la 6MWD ($p=0.018$) y FVC ($p=0.011$) individualmente, y tanto para la 6MWD como para la FVC ($p=0.002$). Los análisis de sensibilidad adicionales demuestran que en un intervalo de umbrales de respuesta de 6MWD y FVC, una mayor proporción de sujetos tratados con cipaglucosidasa alfa/miglustat mostraron una

mejora clínicamente significativa y una menor proporción mostró un empeoramiento clínicamente significativo frente a los sujetos tratados con alglucosidasa alfa/placebo. La mejora observada en la 6MWD y el % predicho de FVC se vio respaldado por los resultados de los criterios de valoración secundarios clave adicionales que abarcaban la función motora y la fuerza muscular, la función pulmonar y los PRO, que favorecieron numéricamente a cipaglucosidasa alfa/miglustat. GSGC, una medida compuesta de la independencia funcional, mostró una mejora nominalmente significativa para la superioridad de cipaglucosidasa alfa/miglustat sobre alglucosidasa alfa/placebo ($p=0.009$).

En la población con experiencia con ERT y grandes necesidades no cubiertas, cipaglucosidasa alfa/miglustat mostró mejoras clínicamente significativas y nominalmente estadísticamente significativas tanto para la 6MWD (diferencia de 17 metros; $p=0.047$) como para el % predicho de FVC (diferencia de 4.1 %; $p=0.006$) en comparación con alglucosidasa alfa. Los sujetos que permanecieron con alglucosidasa alfa no mostraron cambios en la 6MWD y experimentaron un descenso significativo de la FVC, mientras que los sujetos que cambiaron a cipaglucosidasa alfa/miglustat mostraron una mejora en la 6MWD y una estabilización de la FVC. En el subgrupo sin tratamiento previo con ERT, los sujetos de ambos grupos de tratamiento mostraron mejoras clínicamente significativas similares en la 6MWD y cambios en la FVC.

En cuanto a los criterios de valoración musculoesqueléticos y otros varios secundarios que evaluaban la función motora, la fuerza muscular y los PRO, la gran mayoría mostraron mejora y favorecieron direccionalmente a cipaglucosidasa alfa/miglustat frente a alglucosidasa alfa/placebo, lo que respalda las observaciones en los criterios de valoración primarios y secundarios clave. En resumen, cipaglucosidasa alfa/miglustat mejoró importantes dominios de la enfermedad de Pompe con respecto al tratamiento aprobado con alglucosidasa alfa. Adicionalmente, se observaron reducciones nominalmente significativas desde el punto de vista estadístico ($p < 0.001$) frente a alglucosidasa alfa/placebo en biomarcadores clave de reducción de glucógeno (Hex4) y daño muscular (CK), lo

que confirma la sólida evidencia mecanicista no clínica. Los datos de los estudios ATB200-02 y ATB200-07 concuerdan con los del Estudio ATB200-03 y aportan pruebas sólidas de la durabilidad del efecto, con mejoras y estabilidad que duran más de 24 meses. En conjunto, los resultados de los estudios clínicos demuestran que la cipaglucoosidasa alfa/miglustat responde a la importante necesidad de una terapia de nueva generación más eficaz para el tratamiento de la enfermedad de Pompe.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.