

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar o reducir el riesgo de desarrollar debilidad muscular en un sujeto que tiene o
5 está en riesgo de tener una enfermedad de debilidad muscular que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un polipéptido recombinante que tiene actividad de fosfatasa alcalina, en donde el sujeto exhibe una concentración reducida de
10 fosfatasa alcalina inespecífica de tejido (TNSALP), y en donde el sujeto no tiene una mutación anuladora en un gen *ALPL*.

2. El método de la reivindicación 1, en donde la concentración reducida de TNSALP es causada por una
15 transcripción reducida de *ALPL*, traducción reducida del ARNm de *ALPL*, modificación postraducciona1 elevada o reducida de TNSALP, o reducción de la actividad enzimática de TNSALP.

3. El método de la reivindicación 1 o 2, en
20 donde la transcripción reducida de *ALPL*, traducción reducida del ARNm de *ALPL*, modificación postraducciona1 elevada o reducida de TNSALP, o actividad enzimática reducida de TNSALP se mide en relación con un sujeto normal.

25 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el sujeto tiene una

mutación en una región no traducida 3' (UTR), una UTR 5', o una región intrónica del gen *ALPL*.

5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el sujeto tiene una
5 mutación en uno o más de *ATP1A3*, *ANKH*, *ENPP1*, *FGFR3*, *PHOSPHO1*, *PTH1R*, *PTH2R*, *SPP1*, *TNFRSF11A*, *TNFRSF11B*, *COL1A1*, *COL1A2*, *SOX9*, *PDXP*, *AOX1*, *PNPO*, *PDXK*, *ADCK3*, *MTRNR2*, y *S1PR1*.

6. El método de la reivindicación 5, en donde
10 el sujeto tiene una mutación en *ATP1A3*.

7. El método de la reivindicación 5 o 6, en donde el sujeto tiene una mutación en *ADCK3*.

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde un músculo de dicho sujeto
15 no es significativamente diferente de un músculo de un sujeto normal sin dicha enfermedad de debilidad muscular en al menos una propiedad seleccionada de la proporción del tipo de fibra muscular y las propiedades contráctiles de la fibra.

20 9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el músculo es al menos un tipo de músculo de la pierna, en donde, opcionalmente, el al menos un tipo de músculo se selecciona de un músculo sóleo y un músculo extensor digitorum longus (EDL).

25 10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la enfermedad de debilidad

muscular es causada por una actividad reducida de fosfatasa alcalina.

11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el sujeto tiene una
5 concentración sérica elevada de pirofosfato (PPi), en donde, opcionalmente, la enfermedad de debilidad muscular es causada por la concentración elevada de PPi.

12. El método de la reivindicación 11, en donde la concentración elevada de pirofosfato (PPi) potencia la
10 debilidad muscular en dicho sujeto.

13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el polipéptido recombinante reduce la concentración de PPi en el sujeto.

14. El método de una cualquiera de las
15 reivindicaciones 1 a 13, en donde el polipéptido recombinante se administra al sujeto diariamente durante al menos una semana, un mes, tres meses, seis meses, o un año, o más.

15. El método de una cualquiera de las
20 reivindicaciones 1 a 14, en donde el polipéptido recombinante se administra por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, sublingual, intratecal, o intradérmica.

16. El método de la reivindicación 15, en donde el polipéptido recombinante se administra por vía
25 subcutánea.

17. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde el polipéptido recombinante comprende al menos uno de una fosfatasa alcalina inespecífica de tejido (TNALP), una fosfatasa
5 alcalina placentaria (PALP), una fosfatasa alcalina de células germinales (GCALP), una fosfatasa alcalina intestinal (IALP), y fragmentos biológicamente funcionales, fusiones, o constructos quiméricos de estos.

18. El método de la reivindicación 17, en donde
10 el polipéptido recombinante comprende al menos uno de un fragmento soluble de TNALP, PALP, GCALP, e IALP.

19. El método de la reivindicación 17 o 18, en donde la fosfatasa alcalina inespecífica de tejido (TNALP) comprende una secuencia de aminoácidos de los
15 aminoácidos 1-485 de la sec. con núm. de ident.: 1.

20. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde el polipéptido recombinante es una proteína de fusión.

21. El método de una cualquiera de las
20 reivindicaciones 1 a 20, en donde el polipéptido recombinante comprende una molécula de inmunoglobulina.

22. El método de la reivindicación 21, en donde la molécula de inmunoglobulina es una región de fragmento cristalizable (Fc).

23. El método de la reivindicación 22, en donde el Fc comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 20.

24. El método de una cualquiera de las
5 reivindicaciones 1 a 23, en donde el polipéptido recombinante comprende un péptido cargado negativamente.

25. El método de la reivindicación 24, en donde el péptido cargado negativamente comprende uno a cincuenta aminoácidos cargados negativamente, tales como
10 un ácido aspártico o ácido glutámico, en donde, opcionalmente, el péptido cargado negativamente es al menos uno de D₁₀, D₁₆, E₁₀, y E₁₆.

26. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en donde el polipéptido
15 recombinante comprende una fosfatasa alcalina dirigida al hueso que tiene la estructura:

Z-sALP-Y-espaciador-X-W_n-V,

en donde sALP es el dominio extracelular de la fosfatasa alcalina;

20 V está ausente o es una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido;

X está ausente o es una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido;

25 Y está ausente o es una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido;

Z está ausente o es una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido; y
W_n es un poliaspartato o un poliglutamato en donde n=10 a 16.

5 27. El método de la reivindicación 26, en donde el espaciador comprende una región de fragmento cristalizable (Fc).

 28. El método de la reivindicación 27, en donde el Fc comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con
10 núm. de ident.: 20.

 29. El método de la reivindicación 27 o 28, en donde el polipéptido recombinante comprende la estructura de sALP-Fc-D₁₀.

 30. El método de una cualquiera de las
15 reivindicaciones 1 a 29, en donde el polipéptido recombinante se administra a una dosificación de desde aproximadamente 0,1 mg/kg/día a aproximadamente 20 mg/kg/día, o una dosificación semanal comparable.

 31. El método de la reivindicación 30, en donde
20 el polipéptido recombinante se administra a una dosificación de desde aproximadamente 0,5 mg/kg/día a aproximadamente 20 mg/kg/día, o una dosificación semanal comparable.

 32. El método de la reivindicación 31, en donde
25 el polipéptido recombinante se administra a una dosificación de desde aproximadamente 0,5 mg/kg/día a

aproximadamente 10 mg/kg/día, o una dosificación semanal comparable.

33. El método de la reivindicación 32, en donde el polipéptido recombinante se administra a una
5 dosificación de desde aproximadamente 1 mg/kg/día a aproximadamente 10 mg/kg/día, o una dosificación semanal comparable.

34. El método de la reivindicación 33, en donde el polipéptido recombinante se administra a una
10 dosificación de aproximadamente 6 mg/kg/semana.

35. El método de la reivindicación 34, en donde el polipéptido recombinante se administra a una dosificación de aproximadamente 1 mg/kg 6 veces por semana, aproximadamente 2 mg/kg 3 veces por semana, o
15 3 mg/kg 2 veces por semana.

36. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener una distancia promedio de caminata
20 en seis minutos de aproximadamente 350 metros o menos.

37. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 36, en donde la administración del polipéptido recombinante promueve un aumento en una distancia promedio de caminata en seis minutos por el
25 sujeto de al menos 100 metros o más.

38. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 37, en donde el sujeto exhibe una distancia promedio de caminata en seis minutos de aproximadamente 500 metros o más después de la
5 administración del polipéptido recombinante.

39. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, en donde el sujeto exhibe una dependencia disminuida de un dispositivo de asistencia de movilidad después de la administración del polipéptido
10 recombinante.

40. El método de la reivindicación 39, en donde el dispositivo de asistencia de movilidad es al menos un dispositivo seleccionado del grupo que consiste en un andador, una silla de ruedas, aparatos ortopédicos,
15 muletas, y órtesis.

41. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener una concentración plasmática de PPI
20 de aproximadamente 4,5 μM o mayor.

42. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 41, en donde la administración del polipéptido recombinante promueve una disminución media en la concentración de PPI en una muestra de plasma del sujeto
25 de al menos aproximadamente 1 μM .

43. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 42, en donde el sujeto exhibe una concentración plasmática de PPI de aproximadamente 2 μ M a aproximadamente 5 μ M después de la administración del polipéptido recombinante.

44. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43, en donde:

- i) el sujeto tiene 0 a 14 días de edad y, antes de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 90 U/l o menos;
- ii) el sujeto tiene 15 días a menos de 1 año de edad y, antes de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 134 U/l o menos;
- iii) el sujeto tiene aproximadamente 1 año a menos de 10 años de edad y, antes de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 156 U/l o menos;
- iv) el sujeto tiene aproximadamente 10 años a aproximadamente 13 años de edad y, antes de la administración del polipéptido

recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 141 U/l o menos;

5 v) el sujeto es femenino y de aproximadamente 13 años a aproximadamente 15 años de edad y, antes de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de
10 aproximadamente 62 U/l o menos;

vi) el sujeto es masculino y de aproximadamente 13 años a aproximadamente 15 años de edad y, antes de la administración del polipéptido
15 recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 127 U/l o menos;

vii) el sujeto es femenino y de aproximadamente 15 años a aproximadamente
20 17 años de edad y, antes de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 54 U/l o menos;

25 viii) el sujeto es masculino y de aproximadamente 15 años a aproximadamente

5 17 años de edad y, antes de la
administración del polipéptido
recombinante, se caracteriza por tener
una concentración plasmática de ALP de
aproximadamente 89 U/l o menos;

ix) el sujeto tiene aproximadamente 17 años de
edad o más y, antes de la administración
del polipéptido recombinante, se
caracteriza por tener una concentración
10 plasmática de ALP de aproximadamente 48
U/l o menos; o

x) el sujeto tiene aproximadamente 17 años de
edad o más y, antes de la administración
del polipéptido recombinante, se
15 caracteriza por tener una concentración
plasmática de ALP de aproximadamente 59
U/l o menos.

45. El método de una cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 44, en donde la administración del
20 polipéptido recombinante promueve un aumento medio en la
concentración de ALP en una muestra de plasma del sujeto de
al menos aproximadamente 100 U/l o mayor.

46. El método de una cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 45, en donde:

25 i) el sujeto tiene 0 a 14 días de edad y,
después de la administración del

- polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 273 U/l o mayor;
- 5 ii) el sujeto tiene 15 días a menos de 1 año de edad y, después de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 518 U/l o mayor;
- 10 iii) el sujeto tiene aproximadamente 1 año a menos de aproximadamente 10 años de edad y, después de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de
- 15 ALP de aproximadamente 369 U/l o mayor;
- iv) el sujeto tiene aproximadamente 10 años a aproximadamente 13 años de edad y, después de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una
- 20 concentración plasmática de ALP de aproximadamente 460 U/l o mayor;
- v) el sujeto es femenino y de aproximadamente 13 años a aproximadamente 15 años de edad y, después de la
- 25 administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener

una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 280 U/l o mayor;

vi) el sujeto es masculino y de aproximadamente 13 años a aproximadamente 15 años de edad y, después de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 517 U/l o mayor;

vii) el sujeto es femenino y de aproximadamente 15 años a aproximadamente 17 años de edad y, después de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 128 U/l o mayor;

viii) el sujeto es masculino y de aproximadamente 15 años a aproximadamente 17 años de edad y, después de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 365 U/l o mayor;

ix) el sujeto es femenino y de aproximadamente 17 años de edad o más y, después de la administración del

polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 95 U/l o mayor; o

x) el sujeto es masculino y de aproximadamente 17 años de edad o más y, después de la administración del polipéptido recombinante, se caracteriza por tener una concentración plasmática de ALP de aproximadamente 164 U/l o mayor.

47. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 46, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener una puntuación de fuerza promedio de la prueba Bruininks-Oseretsky de competencia motora 2.^a Edición (BOT-2) de aproximadamente 10 o menos.

48. El método de la reivindicación 47, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener una puntuación promedio de la velocidad de carrera y agilidad de la BOT-2 de aproximadamente 5 o menos.

49. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 48, en donde la administración del polipéptido recombinante da lugar a una puntuación promedio de fuerza de la BOT-2 del sujeto de aproximadamente 10 o más.

50. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 49, en donde la administración del polipéptido recombinante da lugar a una puntuación promedio de la velocidad de carrera y agilidad de la BOT-
5 2 del sujeto de aproximadamente 5 o más.

51. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 50, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener una puntuación promedio del índice
10 del cuestionario de evaluación de la salud infantil (CHAQ) de aproximadamente 0,8 o más.

52. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 51, en donde la administración del polipéptido recombinante da lugar a una puntuación promedio
15 del índice CHAQ del sujeto de aproximadamente 0,5 o menos.

53. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 52, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener una puntuación promedio del
20 instrumento de recolección de datos de resultados pediátricos (PODCI) de aproximadamente 40 o menos.

54. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 53, en donde la administración del polipéptido recombinante da lugar a una puntuación
25 promedio del PODCI del sujeto de aproximadamente 40 o más.

55. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 54, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener un grado de fuerza muscular promedio
5 de menos de aproximadamente 5.

56. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 55, en donde la administración del polipéptido recombinante da lugar a un aumento promedio en un grado de fuerza muscular del sujeto de aproximadamente 1
10 o más.

57. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 56, en donde, antes de la administración del polipéptido recombinante, el sujeto se caracteriza por tener un valor promedio de dinamometría de
15 mano (HHD) de menos de aproximadamente 80 % de un valor previsto de HHD.

58. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 57, en donde la administración del polipéptido recombinante da lugar a un valor promedio de
20 HHD del sujeto de aproximadamente 80 % o más de un valor previsto de HHD.

59. El método de la reivindicación 57 o 58, en donde el valor de HHD representa la fuerza de prensión, flexión de rodilla, extensión de rodilla, flexión de
25 cadera, extensión de cadera, o abducción de cadera del sujeto.

60. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 59, en donde el sujeto tiene una enfermedad de debilidad muscular seleccionada de distrofia muscular, miastenia gravis, y enfermedad por depósito de pirofosfato de calcio (CPPD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), miositis, distrofia miotónica, miotonía, síndrome de Guillain-Barre, distrofia muscular de Duchenne (DMD), y síndrome miasténico de Lambert-Eaton.

10 61. El método de la reivindicación 1, en donde el polipéptido recombinante comprende una proteína de fusión que comprende un aminoácido que comprende al menos 95 % de identidad de secuencia con la sec. con núm. de ident.: 21 o la sec. con núm. de ident.: 22.

15 62. El método de la reivindicación 61, en donde el polipéptido recombinante comprende una proteína de fusión que comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 21 o la sec. con núm. de ident.: 22.

20 63. El método de la reivindicación 1, en donde: el polipéptido recombinante comprende una molécula de inmunoglobulina, la molécula de inmunoglobulina es una región de fragmento cristalizante (Fc) de IgG2/4, y el Fc comprende una secuencia de aminoácidos de la sec. con
25 núm. de ident.: 21.

64. El método de la reivindicación 61, en donde la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva es cada dos semanas.

5 65. El método de la reivindicación 61, en donde la administración de la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg.

66. El método de la reivindicación 65, en donde la enfermedad de debilidad muscular comprende: distrofia
10 muscular, miastenia gravis, y enfermedad por depósito de pirofosfato de calcio (CPPD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), miositis, distrofia miotónica, miotonía, síndrome de Guillain-Barre, distrofia muscular de Duchenne (DMD), o síndrome miasténico de Lambert-Eaton.

15 67. El método de la reivindicación 61, en donde la administración mejora la bioenergética mitocondrial en las fibras musculares esqueléticas.

68. El método de la reivindicación 1, en donde el tratamiento con la cantidad terapéuticamente efectiva
20 del al menos un polipéptido recombinante que tiene la actividad de fosfatasa alcalina da lugar a una disminución en un nivel de valina, leucina, o isoleucina en un músculo del sujeto.