

TERAPIA INMUNOSUPRESORA PARA MITIGAR LA RESPUESTA INMUNITARIA A LA FOSFATASA ALCALINA ANTISOLUBLE

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de los EE. UU. núm. 63/531.955, presentada el 10 de agosto de 2023, cuyo contenido se incorpora como referencia en la presente en su totalidad.

ANTECEDENTES

La hipofosfatasa (HPP, por sus siglas en inglés) es un trastorno raro y
10 heredable de mineralización ósea con una incidencia de 1 por cada 100.000 nacimientos para las formas más graves de la enfermedad. El trastorno resulta de mutaciones anuladoras en el gen que codifica la fosfatasa alcalina inespecífica del tejido (TNALP, por sus siglas en inglés). La HPP exhibe un notable rango de síntomas y gravedad, desde el raquitismo hasta la casi completa ausencia de mineralización
15 ósea *en el útero*.

STRENSIQ® (asfotasa alfa) ha sido aprobado como la primera terapia de reemplazo enzimático (ERT, por sus siglas en inglés) para tratar la HPP. Las terapias de reemplazo enzimático pueden resultar en el desarrollo en algunos sujetos de anticuerpos neutralizantes contra la enzima. Se necesitan métodos para determinar si
20 los anticuerpos neutralizantes dan lugar a una pérdida de eficacia de la enzima, así como métodos para tratar la pérdida de eficacia mediada por anticuerpos en sujetos con trastornos de mineralización ósea cuando se produce.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un primer aspecto de la descripción presenta un método para reducir una cantidad de componentes de respuesta inmunitaria celular y humoral que conducirá a disminuir el riesgo de formación o reducir un efecto de un anticuerpo o células T específicas para la fosfatasa alcalina soluble (sALP, por sus siglas en inglés) en un sujeto tratado con la sALP. El método incluye administrar una terapia que incluye uno o más de un inhibidor de dihidrofolato reductasa (DHFR, por sus siglas en inglés) y un anticuerpo anti-CD20 o fragmento de unión al antígeno de este al sujeto que reduce la cantidad, disminuye la formación o reduce el efecto de la respuesta inmunitaria anti-sALP.

En otro aspecto, se destaca un método para reducir una cantidad, disminuir el riesgo de formación, o reducir un efecto, de un anticuerpo específico para una sALP en un sujeto tratado con la sALP. El método incluye administrar una terapia que incluye bortezomib y uno o ambos de un inhibidor de DHFR y un anticuerpo anti-CD20 o fragmento de unión al antígeno de este al sujeto que reduce la cantidad, disminuye la formación, o reduce el efecto, del anticuerpo. El método puede incluir administrar bortezomib y el inhibidor de DHFR. El método puede incluir administrar bortezomib y el anticuerpo anti-CD20 o fragmento de unión al antígeno de este.

En algunas modalidades, el método incluye la administración de un inhibidor de DHFR. En algunas modalidades, el inhibidor de DHFR es metotrexato. El metotrexato puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, el metotrexato puede administrarse una vez cada 7 días a un sujeto que lo necesita. El metotrexato puede administrarse a una

dosificación de aproximadamente 10 mg/m² a aproximadamente 20 mg/m² (p. ej., a aproximadamente 10 mg/m², 11 mg/m², 12 mg/m², 13 mg/m², 14 mg/m², 15 mg/m², 16 mg/m², 17 mg/m², 18 mg/m², 19 mg/m², o 20 mg/m², p. ej., aproximadamente 15 mg/m²). Por ejemplo, el metotrexato puede administrarse a una dosificación de
5 aproximadamente 15 mg/m².

En algunas modalidades, el método incluye la administración de un anticuerpo anti-CD20 o fragmento de unión al antígeno de este. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD20 es un rituximab o un fragmento de unión al antígeno de este. El rituximab puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8,
10 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, el rituximab puede administrarse una vez cada 7 días a un sujeto que lo necesita. El rituximab o fragmento de unión al antígeno de este puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 500 mg/m² (p. ej., aproximadamente 100 mg/m², 125 mg/m², 150 mg/m², 175 mg/m², 200 mg/m², 225 mg/m², 250 mg/m², 275 mg/m²,
15 300 mg/m², 325 mg/m², 350 mg/m², 375 mg/m², 400 mg/m², 425 mg/m², 450 mg/m², 475 mg/m², o 500 mg/m², p. ej., aproximadamente 375 mg/m²). Por ejemplo, el rituximab puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 375 mg/m². El rituximab o fragmento de unión al antígeno de este puede administrarse por vía intravenosa. En algunas modalidades, el rituximab o fragmento de unión al antígeno de
20 este se interrumpe mientras el sujeto está siendo tratado con metotrexato. En otras modalidades, el metotrexato y el rituximab o fragmento de unión al antígeno de este se administran en combinación o se administran por separado.

En algunas modalidades, el método incluye además administrar un inhibidor del proteasoma, tal como bortezomib, a un sujeto que lo necesita. Las células plasmáticas pueden dirigirse específicamente a través de al menos un mecanismo de acción de bortezomib, ofreciendo de esta manera un beneficio vs. otras modalidades de

5 tratamiento que controlan ciertas células pre-B y/o células B pero no logran dirigirse a las células plasmáticas, lo que resulta en anticuerpos circulantes y fracaso de la terapia. El bortezomib puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, bortezomib puede administrarse una vez cada 7 días. El bortezomib puede administrarse a una

10 dosificación de aproximadamente $0,2 \text{ mg/m}^2$ a aproximadamente 2 mg/m^2 (p. ej., aproximadamente $0,2 \text{ mg/m}^2$, $0,3 \text{ mg/m}^2$, $0,4 \text{ mg/m}^2$, $0,5 \text{ mg/m}^2$, $0,6 \text{ mg/m}^2$, $0,7 \text{ mg/m}^2$, $0,8 \text{ mg/m}^2$, $0,9 \text{ mg/m}^2$, 1 mg/m^2 , $1,1 \text{ mg/m}^2$, $1,2 \text{ mg/m}^2$, $1,3 \text{ mg/m}^2$, $1,4 \text{ mg/m}^2$, $1,5 \text{ mg/m}^2$, $1,6 \text{ mg/m}^2$, $1,7 \text{ mg/m}^2$, $1,8 \text{ mg/m}^2$, $1,9 \text{ mg/m}^2$, o 2 mg/m^2 . Por ejemplo, bortezomib puede administrarse a una dosificación de aproximadamente $0,5 \text{ mg/m}^2$,

15 aproximadamente $0,7 \text{ mg/m}^2$, aproximadamente 1 mg/m^2 , o aproximadamente $1,3 \text{ mg/m}^2$. El bortezomib puede administrarse por vía intravenosa o subcutánea. El bortezomib puede administrarse por vía intravenosa en un bolo. El bortezomib puede administrarse después de que el sujeto exhiba un empeoramiento de una puntuación de gravedad del raquitismo (RSS, por sus siglas en inglés) de 1 o más puntos desde el

20 valor de referencia (p. ej., correspondiente a un valor del sujeto antes del tratamiento con una sALP o antes del tratamiento con una terapia como se describe en la presente). En modalidades específicas, la RSS se calcula durante el cribado para el estudio, antes de comenzar la terapia, y esto se considera una puntuación de valor de

referencia para RSS. El bortezomib puede suspenderse mientras el sujeto está siendo tratado con metotrexato y/o rituximab.

En algunas modalidades, la terapia con anticuerpos anti-sALP (p. ej., el metotrexato, el rituximab y/o el inhibidor del proteasoma, p. ej., bortezomib) se administra durante al menos 6 meses. Por ejemplo, la terapia puede administrarse por una duración de al menos 12, 18 o 24 meses. En algunas modalidades, el inhibidor de DHFR (p. ej., metotrexato) se administra durante una duración de al menos 6, 12, 18, o 24 meses. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD20 o fragmento de unión al antígeno (p. ej., rituximab) se administra durante una duración de al menos 6, 12, 18, o 24 meses. En algunas modalidades, la terapia se interrumpe, p. ej., después de que el sujeto exhibe una disminución en el título de anticuerpo en al menos 2 etapas de título o se vuelve negativa (p. ej., indetectable) y/o exhibe una mejora en una RSS de al menos 1 o más puntos desde el valor de referencia. Por ejemplo, la terapia puede interrumpirse cuando la cantidad del anticuerpo específico para la sALP, su riesgo de formación, o su efecto se ha reducido en relación con antes del tratamiento.

La terapia con anticuerpos anti-sALP puede incluir además la administración de inmunoglobulina. La inmunoglobulina puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, la inmunoglobulina puede administrarse una vez cada 7 días a un sujeto que lo necesita. La inmunoglobulina puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 300 a aproximadamente 700 mg/kg (p. ej., aproximadamente 300 mg/kg, 350 mg/kg, 400 mg/kg, 450 mg/kg, 500 mg/kg, 550 mg/kg, 600 mg/kg, 650 mg/kg, o 700 mg/kg, p. ej., aproximadamente 500 mg/kg). Por ejemplo, la inmunoglobulina puede

administrarse a una dosis de aproximadamente 500 mg/kg. La inmunoglobulina puede administrarse por vía intravenosa. La inmunoglobulina puede administrarse por vía intravenosa a una dosificación de aproximadamente 500 mg/kg una vez al mes mientras se recibe metotrexato y/o rituximab con o sin un inhibidor del proteasoma (p. ej., bortezomib).

La terapia con anticuerpos anti-sALP puede incluir además la administración de ácido fólico. El ácido fólico puede administrarse, p. ej., una vez al día. El ácido fólico puede administrarse en una dosificación de 1 mg. El ácido fólico no puede administrarse el mismo día que el metotrexato. El ácido fólico se puede administrar por vía oral.

Los métodos descritos en la presente pueden realizarse junto con la terapia con sALP, p. ej., la administración de una sALP. La terapia puede realizarse antes de la administración de una terapia con sALP o después de la administración de una terapia con sALP. La sALP puede administrarse de 1 a 7 (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7) veces por semana o cada dos semanas, p. ej., 2, 3 o 6 veces por semana. Por ejemplo, el sALP puede administrarse 3 o 6 veces por semana. La sALP puede administrarse en una dosificación de 1 mg/kg/semana a 10 mg/kg/semana, p. ej., 3 mg/kg/semana a 9 mg/kg/semana (p. ej., 1 mg/kg/semana, 2 mg/kg/semana, 3 mg/kg/semana, 4 mg/kg/semana, 5 mg/kg/semana, 6 mg/kg/semana, 7 mg/kg/semana, 8 mg/kg/semana, 9 mg/kg/semana, o 10 mg/kg/semana). Por ejemplo, el sALP puede administrarse a una dosificación de 6 mg/kg/semana. En particular, la sALP administrada de acuerdo con las dosis indicadas anteriormente puede tener al menos

85 % de identidad de secuencia con (p. ej., al menos 90 %, 95 %, 99 % de identidad de secuencia con), o la secuencia de, la sec. con núm. de ident.: 1.

La sALP puede tener al menos 85 % de identidad de secuencia con una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 1-3. Por ejemplo, la sALP puede tener al menos 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con sec. con núm. de ident.: 1. La sALP puede incluir o consistir en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1 (p. ej., asfotasa alfa). La sALP puede tener al menos 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con sec. con núm. de ident.: 2. La sALP puede incluir o consistir en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2. La sALP puede tener al menos 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 99 %, o 100 % de identidad de secuencia con sec. con núm. de ident.: 3. La sALP puede incluir o consistir en la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3.

Los métodos descritos en la presente descripción pueden incluir tratar a un sujeto al que se le han administrado dos sALP diferentes. En algunas modalidades, el sujeto ha sido tratado con una primera sALP y una segunda sALP que es diferente de la primera sALP. La primera sALP puede tener la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 1. La segunda sALP puede tener la secuencia de aminoácidos de la sec. con núm. de ident.: 2 o la sec. con núm. de ident.: 3, p. ej., sec. con núm. de ident.: 2. Por ejemplo, una terapia inicial administrada al sujeto puede incluir dosis de una sALP de la sec. con núm. de ident.: 1. Al sujeto se le pueden administrar dosis semanales de la sALP de varios días, semanas, meses, o años. Posteriormente, el sujeto puede transicionarse a una sALP diferente (p. ej., una sALP de la sec. con núm. de ident.: 2 o 3). El sujeto puede tratarse con el sALP diferente durante varios días,

semanas, meses o años. Alternativamente, la sALP administrada al sujeto puede alternar entre una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 1-3. Cuando se trata con la sALP de la sec. con núm. de ident.: 1, al sujeto se le puede administrar una dosis de 1 mg/kg/semana a 10 mg/kg/semana, p. ej., 3 mg/kg/semana a 9 mg/kg/semana (p. ej., 1 mg/kg/semana, 2 mg/kg/semana, 3 mg/kg/semana, 4 mg/kg/semana, 5 mg/kg/semana, 6 mg/kg/semana, 7 mg/kg/semana, 8 mg/kg/semana, 9 mg/kg/semana, o 10 mg/kg/semana). Por ejemplo, la administración de la sALP de la sec. con núm. de ident.: 1 puede ser a 1 mg/kg 6 veces a la semana, 2 mg/kg 3 veces a la semana, o 3 mg/kg 2 veces a la semana. En modalidades específicas, la dosificación es de 3 mg/kg 3 veces a la semana o se incrementa de 3 mg/kg 2 veces a la semana a 3 mg/kg 3 veces a la semana. Los viales se preparan a una capacidad de hasta 100 mg/ml tal como 40 mg/ml o 100 mg/ml. Cuando se trata con la sALP de la sec. con núm. de ident.: 2 o 3, al sujeto se le puede administrar una dosis de 20 mg, 35 mg o 50 mg una vez cada 1 o 2 semanas (p. ej., una vez cada 2 semanas). En algunas modalidades, la composición farmacéutica que contiene la sALP de la sec. con núm. de ident.: 2 o 3 se administra por vía subcutánea o intravenosa. La composición puede administrarse en un volumen de, p. ej., aproximadamente 5 ml o menos (p. ej., 4,0 ml, 3,0 ml, 2,0 ml, 1,0 ml, 0,9 ml, 0,8 ml, 0,7 ml, 0,6 ml, 0,5 ml, 0,4 ml, 0,3 ml, 0,2 ml, o 0,1 ml, o en un volumen en un rango de aproximadamente 5 ml a aproximadamente 0,1 ml). El sALP puede interrumpirse durante la administración de la terapia con anticuerpos anti-sALP. Por ejemplo, la administración de la sALP puede interrumpirse durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas o más (p. ej., hasta que haya una mejora en una métrica usada para evaluar un efecto de un

anticuerpo anti-sALP (p. ej., una RSS del sujeto) y/o hasta que haya una reducción en el nivel del anticuerpo anti-sALP en el sujeto (p. ej., una reducción a un nivel indetectable), p. ej., en un fluido biológico del sujeto, tal como sangre, suero u orina.

En algunas modalidades, el segundo tratamiento con sALP comprendía una administración que era menos frecuente que el tratamiento que comprendía el primer sALP. En algunas modalidades, al sujeto tratado con la sALP se le administró la sALP a una dosificación de 1 mg/kg/semana a 10 mg/kg/semana, y en donde el sujeto también se trató con una segunda sALP, diferente de la primera sALP, y la segunda sALP se administró a 20 mg, 35 mg, o 50 mg una vez cada 2 semanas.

En algunas modalidades, los métodos descritos en la presente incluyen además monitorear un nivel del anticuerpo probando una muestra biológica (p. ej., sangre, plasma u orina) del sujeto para detectar la presencia del anticuerpo.

Los métodos bioanalíticos descritos en la presente pueden incluir además determinar si el sujeto está sufriendo una reducción en la eficacia de la sALP. Una reducción en la eficacia puede determinarse, p. ej., midiendo una métrica, en la que un aumento o disminución en la métrica en relación con un valor de referencia indica que se reduce la eficacia de la sALP. Por ejemplo, una reducción en la eficacia puede determinarse midiendo uno o más de los niveles en sangre y/u orina de pirofosfato inorgánico (PPi) y piridoxal 5'-fosfato (PLP) (p. ej., en relación con el valor de referencia). Por ejemplo, los niveles de PPi y/o PLP pueden aumentarse en relación con el valor de referencia (p. ej., en un 25 % o más, p. ej., 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, o más de 60 %) en relación con las concentraciones de PPi y/o PLP

en una muestra de plasma del sujeto antes de la reducción observada en la eficacia de la sALP).

Una reducción en la eficacia puede determinarse, p. ej., midiendo uno o más síntomas seleccionados del grupo que consiste en hipomineralización, hipercalcinuria, deformidad esquelética, marcha de ánade, dolor óseo, fractura ósea, depósito de cristales de dihidrato de pirofosfato de calcio, artritis, pirofosfato, condrocalcinosis, periartrosis calcificante, pseudofractura, deformidades esqueléticas, hipotonía, debilidad muscular, complicaciones reumatoideas, artritis, pseudogota, dificultades ambulatorias, dolor, pérdida prematura de dientes, hipoplasia pulmonar, insuficiencia respiratoria, convulsiones, estatura, crecimiento, raquitismo e inmunogenicidad. El sujeto puede exhibir un empeoramiento (p. ej., un aumento en la frecuencia o duración) de uno o más de los síntomas en relación con el valor de referencia. La determinación puede incluir establecer que el sujeto no exhibe mala adherencia al tratamiento o técnica de inyección inadecuada y/o no padece una deficiencia de vitamina D, desnutrición o enfermedad concomitante.

Una reducción en la eficacia puede determinarse, p. ej., realizando una evaluación de la calidad de vida. La evaluación de la calidad de vida puede seleccionarse de uno o más del Cuestionario de cinco dimensiones EuroQol, Cuestionario de evaluación de la salud infantil, Instrumento de recolección de datos de resultados pediátricos, Índice de utilidad de la salud infantil-9D, Inventario de la calidad de vida pediátrica, Encuesta de Salud de formulario corto 36, y Encuesta de Salud de formulario corto 12. El sujeto puede exhibir una puntuación de evaluación de calidad de vida reducida en relación con el valor de referencia.

Una reducción en la eficacia puede determinarse mediante la modalidad de una evaluación métrica física. La evaluación métrica física puede seleccionarse de una o más de una Prueba de caminata de seis minutos (6MWT), Prueba Bruininks-Oseretsky de competencia motora 2.^a edición (BOT-2), Escalas Bayley de desarrollo infantil, 3.^a edición (BSID-III), análisis de la marcha, uso de una ayuda a la movilidad, Escalas del desarrollo motor 2 de Peabody (PDMS-2), o rayos X. El sujeto puede exhibir una puntuación de evaluación métrica física reducida en relación con el valor de referencia.

En algunas modalidades, el valor de referencia se calcula basado en un valor de la métrica en el sujeto antes de sufrir una reducción en la eficacia de la sALP, en un sujeto de referencia tratado con una sALP y en el que no se detecta anticuerpo neutralizante contra una sALP, o en un sujeto de referencia al que no se le administró una sALP.

El método puede incluir además determinar si el anticuerpo es un anticuerpo neutralizante (p. ej., un anticuerpo anti-sALP). El método puede incluir además probar un efecto del anticuerpo neutralizante sobre una o ambas de la actividad catalítica y el direccionamiento óseo de la sALP en presencia del anticuerpo neutralizante. El sujeto puede exhibir actividad catalítica reducida y/o direccionamiento óseo de la sALP. Las pruebas pueden incluir uno o más ensayos, tales como un ensayo de cribado, un ensayo confirmatorio, un ensayo de valoración y/o un ensayo de anticuerpos neutralizantes.

En cualquiera de las modalidades anteriores, el sujeto puede tener un trastorno de mineralización ósea, tal como hipofosfatasia (HPP). El sujeto puede ser un joven, adulto, lactante o recién nacido. El sujeto puede tener fractura ósea, osteoporosis,

esclerosteosis, condrocalcinosis, hipotonía, distrofia muscular de Duchenne, traqueobroncomalacia, convulsiones, neurofibromatosis 1 (NF-1), craneosinostosis o una enfermedad de debilidad muscular, tal como depósito de pirofosfato de calcio (CPPD, por sus siglas en inglés) o hipofosfatemia familiar.

- 5 En algunas modalidades, el sujeto tiene un estado de inmunogenicidad definido, p. ej., positivo para anticuerpo antifármaco (ADA+), negativo para anticuerpo antifármaco (ADA-), positivo para anticuerpo neutralizante (NAb+) y/o negativo para anticuerpo neutralizante (NAb-). El sujeto puede ser ADA+ y Nab-

10

DEFINICIONES

El término “aproximadamente”, como se usa en la presente, se refiere a un valor que es $\pm 10\%$ de un valor de referencia.

- Como se usa en la presente, cuando se hace referencia a un polipéptido o secuencia de ácido nucleico que tiene “al menos un X % de identidad de secuencia”
- 15 con respecto a una secuencia de referencia, en donde “X” es un número real, se entiende que al menos X por ciento de los residuos de aminoácidos o nucleótidos en el polipéptido o ácido nucleico son idénticos a los de la secuencia de referencia cuando las secuencias se alinean de manera óptima. Una alineación óptima de secuencias puede determinarse de diversas maneras que están dentro de la habilidad en la
- 20 técnica, por ejemplo, el algoritmo de alineación de Smith Waterman (Smith et al., *J. Mol. Biol.* 147:195-7, 1981) y BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215: 403-10, 1990). Estos y otros algoritmos de alineación son accesibles usando el software de computador disponible públicamente tal como “Best

Fit” (Smith y Waterman, *Advances in Applied Mathematics*, 482-489, 1981) como se incorpora en GeneMatcher Plus (Schwarz and Dayhoff, *Atlas of Protein Sequence and Structure*, Dayhoff, M.O., Ed pp 353-358, 1979), BLAST, BLAST-2, BLAST-P, BLAST-N, BLAST-X, WU-BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2, CLUSTAL, Megalign (DNASTAR), u otro
 5 software/hardware para alineación. Además, los expertos en la técnica pueden determinar parámetros apropiados para alinear secuencias, que incluyen cualesquiera algoritmos necesarios para lograr una alineación óptima en toda la longitud de las secuencias que se comparan.

Los términos “paciente” o “sujeto” se refieren a un mamífero, incluido, pero sin
 10 limitarse a, un humano o un mamífero no humano, tal como un bovino, equino, canino, ovino o felino. “Paciente” en particular se refiere a un humano.

Los términos “sALP”, “fosfatasa alcalina soluble” y “dominio extracelular de una fosfatasa alcalina” se usan indistintamente (a menos que el contexto indique de cualquier otra manera) para significar una fosfatasa alcalina soluble, no unida a la
 15 membrana o un fragmento o variante biológicamente activo de esta. Las sALP incluyen, por ejemplo, una fosfatasa alcalina que carece de una secuencia de señal GPI C-terminal, y variantes y análogos adicionales de esta que conservan actividad de fosfatasa alcalina, p. ej., la capacidad de hidrolizar PPI u otro(s) sustrato(s) natural(es) o artificial(es). Esto incluye fragmentos solubles correspondientes a los dominios
 20 extracelulares de TNSALP, PALP, GLALP, e IALP y fragmentos biológicamente activos o variantes de estos, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Una sALP madura carece del anclaje de membrana GPI y del péptido señal, que se escinde durante el procesamiento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Figura 1** es un diagrama de flujo ilustrativo de ensayos de diversas modalidades, como se describe en la presente.

5 La **Figura 2** es una figura esquemática que muestra el diseño general del estudio y el algoritmo de tratamiento para la terapia inmunosupresora. (*La junta de tratamiento y monitoreo (TMB, por sus siglas en inglés) estará compuesta por asesor(es) clínico(s) de HPP, experto(s) en inmunología, investigadores del sitio y monitor médico (patrocinador); TMB: Junta de tratamiento y monitoreo; MTX: metotrexato; RTX: rituximab; BTZ: bortezomib; E: inscripción; B: línea de base; EOS: Fin de estudio).

La **Figura 3** es una figura esquemática que muestra el diseño general del estudio y el algoritmo de tratamiento para la terapia inmunosupresora. (*Administración conjunta de inmunoglobulina intravenosa (IVIG, por sus siglas en inglés) 500 mg/kg una vez al mes mientras se recibe rituximab +/- bortezomib; **Laboratorio, radiografía; TMB: Junta de tratamiento y monitoreo).

La **Figura 4** es una figura esquemática que muestra un árbol de decisión que puede usarse para evaluar si continuar, modificar o detener la terapia inmunosupresora, p. ej., terapia con uno o más de metotrexato, rituximab y/o un inhibidor del proteasoma, p. ej., bortezomib.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los sujetos con trastornos de mineralización ósea, tal como hipofosfatasia (HPP), sometidos a tratamiento de terapia de reemplazo enzimático (ERT, por sus siglas en inglés) con fosfatasa alcalina soluble (sALP) pueden desarrollar anticuerpos que se unen a la sALP. En ciertos sujetos, estos anticuerpos son anticuerpos neutralizantes que pueden reducir la eficacia de la sALP que se administra durante la ERT. En consecuencia, se describen métodos para tratar sujetos con trastornos de mineralización ósea, tales como HPP, que desarrollan anticuerpos neutralizantes. Los métodos de tratamiento se conocen como inducción de tolerancia inmunitaria (ITI, por sus siglas en inglés), terapia de tolerancia inmunitaria (ITT, por sus siglas en inglés), régimen de tolerancia inmunológica (ITR, por sus siglas en inglés) o terapia inmunosupresora (IST, por sus siglas en inglés) (denominada colectivamente de aquí en adelante “IST”). Los métodos de IST incluyen reducir los títulos de anticuerpos neutralizantes y/o prevenir o reducir la formación de anticuerpos neutralizantes.

La presencia de anticuerpos neutralizantes en un sujeto puede evaluarse usando un ensayo como se describe en la presente descripción. No todos los anticuerpos que se unen a un terapéutico sALP, tal como la asfotasa alfa, reducen la eficacia de la sALP en un sujeto (p. ej., un sujeto HPP) tratado con ERT. Por ejemplo, los anticuerpos pueden unirse a un dominio de la sALP (p. ej., asfotasa alfa) que puede no afectar su función terapéutica (p. ej., la capacidad de promover la mineralización ósea). Por lo tanto, como se describe en la presente, pueden usarse uno o más ensayos adicionales para determinar si los anticuerpos son neutralizantes y reducen la eficacia de la sALP.

También se presentan métodos para identificar a un sujeto que recibe ERT de sALP como necesitado de terapia de IST usando uno o más ensayos para determinar la presencia de anticuerpos anti-sALP y, si es necesario, uno o más ensayos para determinar si los anticuerpos son neutralizantes y reducir la eficacia de la sALP. La

5 terapia de IST también puede administrarse a sujetos sin tratamiento previo a los que no se les haya administrado una terapia de sALP si hay una razón para esperar que tal sujeto genere anticuerpos anti-sALP neutralizantes. Además, los sujetos pueden incluir a aquellos que pueden tener títulos de anticuerpos normales o no elevados antes de la terapia de IST, pero que pueden, no obstante, estar en riesgo de desarrollar niveles

10 altos de anticuerpos neutralizantes en el futuro.

Los métodos descritos en la presente descripción pueden usarse para tratar a un sujeto sometido a terapia con sALP. El sujeto puede tener un trastorno de mineralización ósea, tal como HPP, o puede tener fractura ósea, osteoporosis, esclerosteosis, condrocalcinosis, hipotonía, distrofia muscular de Duchenne,

15 traqueobroncomalacia, convulsiones, neurofibromatosis 1 (NF-1), craneosinostosis o una enfermedad de debilidad muscular, tal como depósito de pirofosfato de calcio (CPPD, por sus siglas en inglés) o hipofosfatemia familiar.

Agentes terapéuticos IST

20 Las células T colaboradoras son esenciales en el desarrollo de la mayoría de los ADA, mientras que las células B de memoria y las células plasmáticas de larga vida amplifican y mantienen las respuestas que constituyen la base para el uso de las IST combinadas cuando hay pérdida de eficacia debido a la presencia de ADA/NAb. Las

proteínas terapéuticas, tal como la asfotasa alfa, pueden ser endocitizadas por células presentadoras de antígeno después de la administración, donde se procesan en sus péptidos componentes. Después, puede presentarse un subconjunto de estos péptidos a células T colaboradoras específicas para el péptido en el contexto de moléculas de antígeno leucocitario humano (HLA, por sus siglas en inglés). Las células T colaboradoras señalan y activan las células B específicas de Ag para proliferar y diferenciarse en células B de memoria y células plasmáticas secretoras Ab (tanto de corta como de larga duración)

Los IST descritos en la presente incluyen uno o más de metotrexato, rituximab y bortezomib, que pueden usarse basado en su acción sobre células T colaboradoras, células plasmáticas y células B de memoria. El metotrexato, un inhibidor de la dihidrofolato reductasa, impacta las células T y B que se dividen rápidamente al prevenir la reducción de dihidrobiopterina (BH₂) a tetrahidrobiopterina (BH₄), lo que conduce al desacoplamiento de la óxido nítrico sintasa y al aumento de la sensibilidad de las células T a la apoptosis, disminuyendo de esta manera las respuestas inmunitarias.

El rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico que se dirige al antígeno de superficie celular de los linfocitos B humanos (CD20), una proteína transmembrana presente en prácticamente todas las células B desde la etapa en la que se comprometen con el desarrollo de células B hasta que se regula a la baja cuando se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Rituximab provoca un agotamiento rápido y casi completo de las células B y pre-B maduras periféricas, que no reaparecen durante aproximadamente 6 meses en la mayoría de los participantes.

CD20 se pierde cuando las células B se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos. Por lo tanto, una vez que las células B se diferencian en células plasmáticas, deben utilizarse agentes alternativos y/o adicionales para abordar los ADA generados por las células plasmáticas circulantes.

5 El bortezomib es un inhibidor del proteasoma. Los inhibidores del proteasoma son una forma potente y específica de dirigirse a las células plasmáticas, que son altamente dependientes de la actividad del proteasoma. El bortezomib es un inhibidor reversible del proteasoma que se dirige a las células plasmáticas de corta y larga vida debido a sus altas tasas de producción de inmunoglobulina.

10 En la presente descripción se describen métodos para administrar un IST a un sujeto. En una modalidad específica, el IST se administra profilácticamente para evitar la generación de una respuesta inmunitaria, tal como uno, dos o más (p. ej., 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más) días antes de la administración de una sALP. En otras modalidades, el IST se administra a un sujeto, p. ej., después de una determinación de que el sujeto
15 tiene anticuerpos anti-sALP que interfiere con ERT. Tras el diagnóstico de que un sujeto tiene anticuerpos anti-sALP y la validación de que los anticuerpos son neutralizantes, la terapia de IST puede administrarse a un sujeto que experimente una reducción o una pérdida de eficacia de la sALP o que esté en riesgo de una reducción o una pérdida de eficacia. La terapia de IST implica reducir la presencia, o el impacto
20 negativo, de anticuerpos neutralizantes producidos por el sujeto contra una sALP terapéutica (p. ej., asfotasa alfa). Adicionalmente, el IST puede ser evaluado por su seguridad y tolerabilidad por el sujeto. Esto puede lograrse, opcionalmente, administrando pequeñas dosis iniciales antes de que se administre el recorrido

completo del tratamiento. Si la terapia de IST inicial no es segura y/o tolerable por el sujeto, puede suspenderse la terapia de IST.

La terapia de IST implica identificar las dianas celulares y moleculares apropiadas de las terapias inductivas de tolerancia, tales como los mecanismos
 5 celulares y moleculares que generan el anticuerpo neutralizante. Dada la preponderancia de anticuerpos neutralizantes de los isotipos IgG1 e IgG4, las respuestas de inmunoglobulina a la terapia proteica pueden surgir de los mecanismos clásicos de células B dependientes de T. Por lo tanto, las dianas celulares apropiadas para la inducción de tolerancia incluyen células T y B específicas de antígenos y
 10 células presentadoras de antígeno. La respuesta de anticuerpos también puede requerir la participación de la colaboración de células T después del inicio de una respuesta.

El IST puede incluir, por ejemplo, administrar una terapia que incluye un inhibidor de la dihidrofolato reductasa (DHFR) y un anticuerpo anti-CD20 o fragmento
 15 de unión al antígeno de este al sujeto que reduce la cantidad, disminuye la formación, o reduce el efecto, del anticuerpo. El inhibidor de DHFR puede ser, p. ej., metotrexato. El anticuerpo anti-CD20 puede ser, p. ej., rituximab o un fragmento de unión al antígeno de este. El método puede incluir además administrar un inhibidor del proteasoma, tal como bortezomib, al sujeto.

20 El inhibidor de DHFR puede ser metotrexato. El metotrexato puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, el metotrexato puede administrarse una vez cada 7 días. El metotrexato puede administrarse a una dosificación de

aproximadamente 10 mg/m² a aproximadamente 20 mg/m² (p. ej., 10 mg/m², 11 mg/m², 12 mg/m², 13 mg/m², 14 mg/m², 15 mg/m², 16 mg/m², 17 mg/m², 18 mg/m², 19 mg/m², o 20 mg/m², p. ej., aproximadamente 15 mg/m²). Por ejemplo, el metotrexato puede administrarse a una dosificación de 15 mg/m².

5 El anticuerpo anti-CD20 puede ser rituximab o un fragmento de unión al antígeno de este. El rituximab o fragmento de unión al antígeno de este puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, el rituximab puede administrarse una vez cada 7 días. El rituximab o fragmento de unión al antígeno de este puede administrarse a una
 10 dosificación de aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 500 mg/m² (p. ej., 100 mg/m², 125 mg/m², 150 mg/m², 175 mg/m², 200 mg/m², 225 mg/m², 250 mg/m², 275 mg/m², 300 mg/m², 325 mg/m², 350 mg/m², 375 mg/m², 400 mg/m², 425 mg/m², 450 mg/m², 475 mg/m², o 500 mg/m², p. ej., aproximadamente 375 mg/m²). Por ejemplo, el rituximab puede administrarse a una dosificación de 375 mg/m². El
 15 rituximab o fragmento de unión al antígeno de este puede administrarse por vía intravenosa. En algunas modalidades, el rituximab o fragmento de unión al antígeno de este se interrumpe mientras el sujeto continúa recibiendo el metotrexato y/o el rituximab o fragmento de unión al antígeno de este.

La terapia de IST puede administrarse durante una cantidad de tiempo
 20 predeterminada (p. ej., 1 día, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 2 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses, 24 meses, o más) dependiendo de la reducción en la eficacia observada para la sALP. Alternativamente, la terapia de IST puede continuar hasta que se haya determinado que la terapia de IST tiene éxito en el tratamiento o

reducción del título de anticuerpos neutralizantes (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 100 % de reducción). Las terapias de IST se describen en la presente e incluyen la administración de agentes terapéuticos, tales como un agente inmunomodulador u opcionalmente, un inhibidor del proteasoma.

5 Puede seleccionarse un sujeto para el tratamiento con IST. El sujeto puede comenzar a recibir metotrexato y rituximab, p. ej., opcionalmente con bortezomib, durante un curso de tiempo inicial, p. ej., de 24 semanas. Después de este recorrido temporal inicial (p. ej., un período de 24 semanas), puede determinarse el estado del tratamiento y el estado de ADA o NAb del sujeto (usando una métrica de evaluación
10 como se describe en la presente). La terapia con sALP puede o no continuar en paralelo con IST. El sujeto puede continuar sometiéndose a recorridos de tratamiento posteriores en el tiempo (p. ej., de una duración seleccionada, tal como durante 24 semanas) y puede evaluarse para determinar el estado del tratamiento y el estado de ADA o NAb, p. ej., para determinar el beneficio o riesgo de continuar el régimen de
15 tratamiento de IST.

Si bien los títulos indetectables solos de anticuerpos anti-sALP pueden ser suficientes para detener el IST, si no se observa un retorno de la eficacia de ERT de sALP en un sujeto con anticuerpos anti-sALP indetectables, puede usarse una segunda métrica para determinar si y cuándo retirar el IST.

20 En algunas modalidades, la terapia puede interrumpirse, p. ej., después de que el sujeto exhibe una disminución en el título de anticuerpo anti-sALP.

Inhibidores del proteasoma

Los agentes terapéuticos IST pueden incluir opcionalmente la administración de uno o más inhibidores del proteasoma, tales como bortezomib. Los inhibidores del proteasoma pueden usarse para inducir el agotamiento de las células plasmáticas. E inhibidor del proteasoma puede administrarse opcionalmente en una cantidad y bajo

5 tales condiciones para que sea posible lograr una reducción en anticuerpos específicos para la sALP (p. ej., anticuerpos anti-sALP neutralizantes que reducen la eficacia de ERT de sALP).

Los inhibidores del proteasoma que pueden usarse con los métodos descritos en la presente se describen, por ejemplo, en la patente de los EE. UU. núm. 7.531.526,

10 cuya descripción se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. Los ejemplos de inhibidores del proteasoma adecuados incluyen, sin limitación, los siguientes compuestos, así como sales y ésteres de boronato farmacéuticamente aceptables de estos: ácido N-(4-morfolina)carbonil- β -(1-naftil)-L-alanina-L-leucina borónico, ácido N-(8-quinolina)sulfonil- β -(1-naftil)-L-alanina-L-leucina borónico, ácido N-

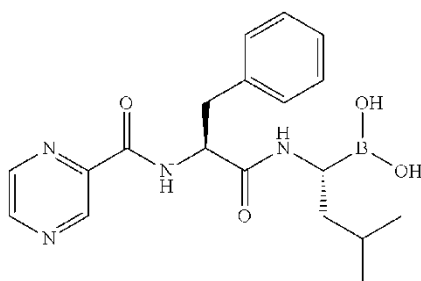
15 (2-pirazina)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico, ácido L-prolina-L-leucina borónico, N-(2-quinolina)carbonil-L-homofenilalanina-L-leucina borónico, ácido N-(3-piridina)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico, ácido N-(3-fenilpropionil)-L-fenilalanina-L-leucina borónico, ácido N-(4-morfolina)carbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico, ácido N-(4-morfolina)carbonil-(O-bencil)-L-tirosina-L-leucina borónico, ácido

20 N-(4-morfolina)carbonil-L-tirosina-L-leucina borónico, y ácido N-(4-morfolina)carbonil-[O-(2-piridilmetil)]-L-tirosina-L-leucina borónico.

Puede usarse un inhibidor del proteasoma *in vitro* o *in vivo*. Por ejemplo, un inhibidor del proteasoma puede usarse *in vitro* junto con un ensayo para determinar si

es un componente de terapia de IST seguro y efectivo. Además, puede usarse un inhibidor del proteasoma *in vivo* para la terapia de IST en un sujeto que lo necesita (p. ej., un ser humano). Un inhibidor del proteasoma puede administrarse por cualquier número de vías conocidas, incluidos por vía oral, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intratecal, tópica, y por infusión (Platt et al., U.S. Pat. núm. 4.510.130; Badalamente et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:5983-5987, 1989; Staubli et al., Brain Research 444:153-158 (1988)) y generalmente puede administrarse en combinación con un portador fisiológicamente aceptable (p. ej., solución salina). La cantidad efectiva de inhibidor dada puede determinarse empíricamente y puede basarse en consideraciones tales como el inhibidor del proteasoma particular usado, la condición del individuo, y el tamaño y peso del individuo.

El inhibidor del proteasoma puede ser bortezomib (p. ej., VELCADE®), el ácido borónico monomérico ácido [(1R)-3-metil-1-[[[(2S)-1-oxo-3-fenil-2-[(pirazinilcarbonil)amino]propil]amino]butil]borónico que tiene la estructura:



El bortezomib puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, bortezomib puede administrarse una vez cada 7 días. El bortezomib puede administrarse a una

dosificación de aproximadamente 0,2 mg/m² a aproximadamente 2 mg/m² (p. ej., 0,2 mg/m², 0,3 mg/m², 0,4 mg/m², 0,5 mg/m², 0,6 mg/m², 0,7 mg/m², 0,8 mg/m², 0,9 mg/m², 1 mg/m², 1,1 mg/m², 1,2 mg/m², 1,3 mg/m², 1,4 mg/m², 1,5 mg/m², 1,6 mg/m², 1,7 mg/m², 1,8 mg/m², 1,9 mg/m², o 2 mg/m². Por ejemplo, bortezomib

5 puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 0,5 mg/m², aproximadamente 0,7 mg/m², aproximadamente 1 mg/m², o aproximadamente 1,3 mg/m². El bortezomib puede administrarse por vía intravenosa o subcutánea. El bortezomib puede administrarse por vía intravenosa en un bolo. El bortezomib puede administrarse después de que el sujeto exhiba un empeoramiento de una puntuación

10 de gravedad del raquitismo (RSS) de 1 o más puntos desde el valor de referencia. El bortezomib puede suspenderse mientras el sujeto continúa recibiendo metotrexato y/o rituximab.

Otros inhibidores del proteasoma adecuados para usar en los tratamientos descritos en la presente incluyen los que actualmente se están evaluando en ensayos

15 preclínicos y clínicos para el tratamiento de una multitud de afecciones, tales como MLN4924, inhibidores de NEDD-8 o inhibidores de ligasa E3. Pueden administrarse combinaciones que pertenecen a las mismas o diferentes clases o subclases de inhibidores del proteasoma (p. ej., combinaciones de dos, tres, cuatro o más inhibidores del proteasoma).

20 Los regímenes de dosificación óptimos de un inhibidor del proteasoma pueden ser determinados por un experto en la técnica y pueden variar con el inhibidor del proteasoma, el sujeto y el efecto buscado. Por ejemplo, el inhibidor puede administrarse por vía intravenosa en una cantidad de aproximadamente 0,01 mg/m² a

aproximadamente 200 mg/m², p. ej., aproximadamente 0,01 mg/m² a aproximadamente 2 mg/m², p. ej., aproximadamente 0,2 mg/m² a aproximadamente 2 mg/m², con diversos programas de dosificación que pueden implicar, por ejemplo, una dosificación dos veces por semana. También puede administrarse un inhibidor del proteasoma en

5 dosis que varían generalmente de aproximadamente 0,01 mg/m² a aproximadamente 200 mg/m², p. ej., de aproximadamente 0,01 mg/m² a aproximadamente 2 mg/m², p. ej., de aproximadamente 0,6 mg/m² a aproximadamente 1,5 mg/m². La dosificación óptima de un inhibidor del proteasoma puede tomar en cuenta consideraciones tales como el

(los) programa(s) de dosificación deseado(s) y la biodisponibilidad del fármaco para

10 una(s) vía(s) de administración determinada(s) y guiada por los parámetros clínicos y de laboratorio del sujeto en cualquier momento particular.

Las consideraciones relativas a los títulos de anticuerpos se describen, por ejemplo, en la transcripción de la reunión del 15 de julio de 1999 titulada “Immune Reactions Against Therapeutic and Diagnostic Biological Products”, en la que el Comité

15 Asesor de Modificadores de Respuesta Biológica de la FDA declaró que “el criterio más importante para evaluar la importancia de los anticuerpos contra las proteínas terapéuticas es la correlación de la incidencia y cantidad de anticuerpos con la farmacocinética clínica, farmacodinámica, eficacia y seguridad” (Referencia: Center for Biologics Evaluation and Review (fda.gov/ohrms/dockets/ac/cber99.htm)).

20 Cualitativamente, los “títulos altos” pueden describirse como un título de anticuerpos en el que (o por encima del cual) un sujeto generalmente experimentaría declive clínico. Cabe señalar que los “niveles altos de anticuerpos” no necesariamente se desarrollan en el 100 % de los sujetos que reciben ERT de sALP, por ejemplo, pero,

para cualquier enfermedad o afección dada, puede haber un subconjunto de sujetos que tienen o podrían potencialmente desarrollar niveles altos que afectan la eficacia de sALP. Los ensayos realizados para detectar anticuerpos (neutralizantes o no neutralizantes) a veces tienen limitaciones que pueden resultar en la no detección o subestimación de los títulos de anticuerpos. En esta situación, incluso si los títulos son indetectables o en el nivel bajo, aún puede resultar en una disminución de la eficacia de sALP durante la ERT de sALP, tal como ERT usando asfotasa alfa. Si bien los títulos indetectables de anticuerpos anti-sALP solos pueden ser suficientes para detener el IST, si no se observa un retorno de la eficacia de ERT de sALP en un sujeto con anticuerpos anti-sALP indetectables, puede usarse una segunda métrica para determinar si y cuándo retirar el IST.

Los inhibidores del proteasoma, tal como bortezomib, pueden causar efectos secundarios no deseados, como toxicidad hematológica o no hematológica. Por ejemplo, el bortezomib puede causar neutropenia (bajo recuento plaquetario), toxicidad cardíaca, dolor neuropático, neuropatía periférica y/o insuficiencia hepática. Tras la presentación con uno o más de estos efectos secundarios, la dosificación de bortezomib puede reducirse (p. ej., en 25 % o más, p. ej., de $1,3 \text{ mg/m}^2$ a 1 mg/m^2 , o de 1 mg/m^2 a $0,7 \text{ mg/m}^2$) o puede suspenderse si el riesgo supera el beneficio. Por ejemplo, si un sujeto experimenta disfunción cardíaca, p. ej., basado en resultados de ecocardiografía o niveles elevados de troponina, no debe seguirse administrando bortezomib al sujeto.

Otros agentes inmunomoduladores y terapias combinadas

Otros agentes inmunomoduladores pueden administrarse a un sujeto en un curso de terapia de IST. Los agentes inmunomoduladores pueden administrarse solos u opcionalmente, en combinación con un inhibidor del proteasoma, tal como los descritos anteriormente, en el momento, antes o después de la administración de un inhibidor del proteasoma para la reducción/prevención de la formación de títulos de anticuerpos. Los ejemplos de agentes inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: belimumab, anticuerpos anti-CD3, anticuerpo anti-CD19 y anticuerpo anti-CD22, corticosteroides (p. ej., prednisolona), rapamicina, metotrexato, WIG, ciclofosfamida, ciclosporina A, azatioprina y micofenolato mofetil, y sus derivados.

Estos agentes inmunomoduladores o sus derivados incluyen agentes que direccionan/alteran la presentación de antígenos y/o respuesta inmunitaria humoral o mediada por células.

Pueden usarse terapias de IST que desencadenan FcR inhibitorio expresado en células B y células presentadoras de antígeno y que se dirigen a factores de supervivencia y activación de células B (tales como factor activador de células B y estimulador de linfocitos B). Los enfoques de agotamiento que usan rituximab, un anticuerpo monoclonal quimérico con dominios constantes IgG1 humana que agota las células B maduras que expresan la molécula CD20, pueden ser de particular uso en el ámbito de la profilaxis, permitiendo potencialmente la introducción de enzima en una etapa en la que las células pre y pro-B específicas de enzimas inmaduras pueden ser eliminadas o dejar de responder.

También pueden usarse combinaciones de rituximab y anticuerpos contra el factor activador de células B. Los métodos de tratamiento que incluyen IST después de

ERT se describen, por ejemplo, en la patente de los EE. UU. núms. 8.809.282, 9.050.333, 9.592.247, 9.850.474, y 10.028.993, cuyas descripciones se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

La terapia de IST también puede incluir inmunoadsorción sola o en combinación con el agente terapéutico (p. ej., rituximab). Puede usarse un agente de inmunoadsorción, tal como THERASORB® para inmunoagotar anticuerpos neutralizantes. La inmunoadsorción puede administrarse, por ejemplo, a diario, semanal, quincenal o mensual. La inmunoadsorción puede administrarse durante al menos 1 mes (p. ej., al menos 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, o más meses).

La inmunoglobulina también puede administrarse como parte de la terapia de IST (p. ej., a una dosificación de aproximadamente 100, mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg, 500 mg/kg, 600 mg/kg, 700 mg/kg, 800 mg/kg, 900 mg/kg, o 1000 mg/kg) sola o en combinación con otros agentes. La gammaglobulina también puede administrarse como parte de la terapia de IST.

La inmunoglobulina puede administrarse una vez cada 5 a 10 días (p. ej., una vez cada 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días, p. ej., una vez cada 7 días). Por ejemplo, la inmunoglobulina puede administrarse una vez cada 7 días. La inmunoglobulina puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 300 a aproximadamente 700 mg/kg (p. ej., aproximadamente 300 mg/kg, 350 mg/kg, 400 mg/kg, 450 mg/kg, 500 mg/kg, 550 mg/kg, 600 mg/kg, 650 mg/kg, o 700 mg/kg, p. ej., aproximadamente 500 mg/kg). Por ejemplo, la inmunoglobulina puede administrarse a una dosis de aproximadamente 500 mg/kg. La inmunoglobulina puede administrarse por vía intravenosa. La inmunoglobulina puede administrarse por vía intravenosa a una

dosificación de aproximadamente 500 mg/kg una al mes mientras se recibe rituximab con o sin bortezomib. La inmunoglobulina puede administrarse durante al menos 1 mes (p. ej., al menos 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, o más meses).

En algunas modalidades específicas, puede administrarse rituximab durante la
5 terapia de IST. Rituximab puede administrarse solo, o como terapia combinada con metotrexato. Los dos agentes terapéuticos pueden administrarse juntos sustancialmente al mismo tiempo o secuencialmente. La terapia de IST que incluye rituximab o la combinación de rituximab y metotrexato puede administrarse durante un periodo de tiempo de aproximadamente un mes. Durante este período de tratamiento,
10 la ERT de sALP puede detenerse o la ERT de sALP puede continuar administrándose durante la terapia de IST. El rituximab también puede administrarse concomitantemente con inmunoglobulina, gammaglobulina e/o inmunoabsorción (p. ej., THERASORB®). En algunas modalidades específicas, la terapia puede incluir uno o más agentes terapéuticos que se administran por separado o en combinación (p. ej.,
15 concomitantemente). El uno o más agentes terapéuticos (p. ej., cualquiera de los agentes terapéuticos descritos en la presente) pueden administrarse como una composición única que se mezcla entre sí o como composiciones separadas. Las diversas terapias de combinación descritas en la presente pueden administrarse como un primer recorrido de tratamiento (p. ej., rituximab, inmunoglobulina y agente de
20 inmunoabsorción) o un segundo recorrido de tratamiento posterior (p. ej., rituximab, inmunoglobulina, dexametasona y un agente de inmunoabsorción, y opcionalmente, un inhibidor del proteasoma). En algunas modalidades, rituximab, inmunoglobulina,

dexametasona y un agente de inmunoadsorción, y opcionalmente, un inhibidor del proteasoma, se administran como un primer recorrido de tratamiento.

La terapia puede incluir además la administración de ácido fólico. El ácido fólico puede administrarse, p. ej., una vez al día. El ácido fólico puede administrarse a una dosificación de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 10 mg, p. ej., aproximadamente 0,1 mg, 0,2 mg, 0,3 mg, 0,4 mg., 0,5 mg, 0,6 mg, 0,7 mg, 0,8 mg, 0,9 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, o 10 mg, p. ej., aproximadamente 1 mg. El ácido fólico puede administrarse en un día diferente al día en que se administra metotrexato. El ácido fólico se puede administrar por vía oral. El metotrexato es un antagonista del folato, por lo que en modalidades específicas, el ácido fólico se administra como un suplemento.

Terminación de IST

Siguiendo el recorrido de la terapia de IST, el sujeto puede monitorearse para una reducción en la presencia de los anticuerpos neutralizantes. Si la terapia de IST aún no ha logrado una mejora en el sujeto tratado, el sujeto puede continuar experimentando un empeoramiento en, o una reducción en el alivio de, los síntomas del trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) y/o la presencia continua de anticuerpos neutralizantes que pueden reducir la eficacia de la sALP. En tal situación, la dosificación del agente terapéutico IST puede aumentarse (p. ej., puede cambiarse la dosificación de uno o más de los agentes IST, p. ej., si el sujeto está recibiendo una combinación de agentes como terapia de IST), puede implementarse un cambio en los agentes IST que se están administrando, o puede administrarse al sujeto una terapia

de IST diferente hasta que la presencia de anticuerpos neutralizantes disminuya y/o se restaure la eficacia de sALP. Durante la terapia de IST, la ERT de sALP puede terminarse a o la ERT de sALP puede continuarse durante el tratamiento de IST. Por ejemplo, la terapia de IST puede durar una duración de 1 o más semanas, meses o años (p. ej., 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 1 año, 2 años, 3 años, o más) durante el cual la ERT de sALP se termina durante todo o una parte de este período. Los ensayos, tales como los descritos anteriormente, pueden repetirse para evaluar la presencia y/o titulación de anticuerpos neutralizantes después de la terapia de IST.

Después de una terapia de IST exitosa, ERT de sALP puede reanudarse.

Evaluación de la eficacia del tratamiento

A continuación, se describen los ensayos para evaluar el estado de salud de un sujeto que recibe ERT de sALP. Si el (los) ensayo(s) muestra(n) una reducción en el estado de salud del sujeto, el sujeto puede someterse a pruebas adicionales para determinar la presencia de anticuerpos anti-sALP neutralizantes. Las señales de que el sujeto está comenzando a mostrar una disminución en la capacidad de respuesta a la ERT de sALP pueden indicar la necesidad de probar al sujeto para detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes. Si se sospecha una reducción en la eficacia de la sALP, el sujeto puede someterse a prueba para detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes. Esta prueba puede realizarse especialmente en un sujeto que ha estado en tratamiento con una sALP y se ha observado que de cualquier otra manera exhibe una mejora en los síntomas del trastorno de mineralización ósea (p. ej.,

HPP) durante un período de, p. ej., aproximadamente 3 meses, 6 meses, 1 año o más (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o más años). El sujeto puede someterse a prueba para determinar si los anticuerpos neutralizantes, si están presentes, son responsables de la reducción de la eficacia de la sALP durante la ERT, p. ej., usando ensayos descritos en la presente. Si se determina que el sujeto tiene anticuerpos neutralizantes que reducen la eficacia de sALP durante la ERT, puede iniciarse un recorrido de terapia de IST.

Pueden usarse varias métricas para evaluar la eficacia del tratamiento de una sALP que se administra a un sujeto durante la ERT. Estas métricas también pueden usarse como punto de referencia para evaluar si un sujeto con anticuerpos neutralizantes está experimentando una pérdida de eficacia de sALP causada por los anticuerpos neutralizantes. Además, estas métricas pueden usarse en combinación con la terapia de IST para monitorear un cambio en la eficacia de sALP (p. ej., una restauración de la eficacia de sALP). En particular, estas métricas pueden usarse en combinación con ensayos de anticuerpos neutralizantes como se describe en la presente tanto antes de la terapia de IST, para señalar la necesidad de terapia de IST, y después de la terapia de IST, para señalar una terapia de IST exitosa. Por ejemplo, las métricas pueden usarse para medir una reducción en la eficacia (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 100 % de reducción en la eficacia) de la sALP, lo que indica de esta manera una necesidad de terapia de IST. La reducción de la eficacia puede medirse con respecto a una línea de base (p. ej., el valor(es) de un sujeto en una o más de las métricas antes de cualquier reducción en la eficacia, p. ej., dentro de un período de tiempo predeterminado después del inicio de la ERT de sALP, p. ej., 1 mes, 3 meses, 6 meses, 1 año, 2 años o más después del inicio de la ERT de

sALP), un sujeto de referencia con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que sufre de ERT de sALP, o un promedio de sujetos de referencia que han recibido ERT de sALP. Una reducción en la eficacia de sALP que supera un umbral predeterminado (p. ej., una reducción del 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % en la eficacia, p. ej., en relación con un tiempo anterior a la reducción de la eficacia), de acuerdo con una o más de las métricas descritas en la presente, puede indicar una necesidad de terapia de IST. Cuando se determina que la terapia de IST es necesaria para tratar una reducción en la eficacia de sALP debido a la presencia de anticuerpos neutralizantes, una o más de estas métricas también pueden usarse para rastrear una restauración o aumento de la eficacia de sALP (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 100 % de aumento en la eficacia, p. ej., en relación con un tiempo después de que se observa una reducción en la eficacia pero antes del inicio de terapia de IST). Puede medirse un aumento en la eficacia con respecto a un valor de referencia (p. ej., los valores del sujeto antes del aumento o restauración de la eficacia), un sujeto de referencia con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP), o un promedio de sujetos de referencia que han experimentado una reducción en la eficacia de sALP durante la ERT o que han recibido terapia de IST. Cuando un sujeto experimenta una mejora en la eficacia después de la terapia de IST que supera un umbral predeterminado (p. ej., un aumento del 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % en la eficacia, p. ej., en relación con un tiempo después de que se observa una reducción en la eficacia pero antes del inicio de la terapia de IST) o el sujeto exhibe una recuperación en un nivel de

eficacia de la ERT de sALP en relación con un tiempo anterior a la reducción de la eficacia, La terapia de IST puede detenerse y puede considerarse exitosa.

Las métricas ilustrativas útiles para evaluar la eficacia del tratamiento usando ERT de sALP (p. ej., asfotasa alfa) son la cicatrización ósea, la mineralización ósea, la densidad mineral ósea y las concentraciones plasmáticas de PPI y/o PLP. Los métodos pueden incluir el uso de una o más de las métricas descritas (p. ej., cicatrización ósea, mineralización, densidad mineral ósea o concentraciones plasmáticas de PPI y/o PLP), individualmente o en combinación, para evaluar una reducción en la eficacia de sALP, cuya reducción puede indicar que los anticuerpos neutralizantes están inhibiendo la respuesta del sujeto a la ERT de sALP. Alternativamente, estos métodos pueden usarse para demostrar que la eficacia del tratamiento con sALP se ha restaurado después de la terapia de IST.

Curación ósea y mineralización

Puede usarse una reducción en la cicatrización ósea y la mineralización como métrica para diagnosticar que un paciente tiene, o es probable que tenga, anticuerpos neutralizantes que se unen a, y reducen la eficacia de, la sALP. En un sujeto con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que no ha desarrollado anticuerpos neutralizantes anti-sALP, la administración de sALP (p. Ej., asfotasa alfa) da lugar a un aumento en la cicatrización ósea en el sujeto después de un tratamiento exitoso. Por lo tanto, un sujeto con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que es tratado con una sALP que experimenta una reducción en la cicatrización ósea y mineralización

puede experimentar esta reducción debido a la presencia de anticuerpos neutralizantes.

Una disminución en la cicatrización ósea da lugar a la pérdida de hueso y puede incluir una disminución de la mineralización que da lugar a la desunión de dos o más

5 huesos. La cicatrización ósea y la disminución de la mineralización pueden compararse con un hueso de referencia (p. ej., un hueso de un sujeto sano, p. ej., sin un trastorno de mineralización ósea, o de un sujeto que no tiene anticuerpos anti-sALP). Los métodos para identificar una disminución en la cicatrización ósea y mineralización son rutinarios e incluyen técnicas no invasivas tal como la radiografía y la tomografía

10 computarizada (TC). Típicamente, las imágenes del área relevante del sujeto pueden tomarse antes y en uno o más puntos temporales después del tratamiento con sALP, y las imágenes pueden compararse para evaluar la eficacia del tratamiento. La disminución de la cicatrización y/o mineralización ósea puede identificarse como disminución de la opacidad. Las imágenes pueden tomarse en cualquier momento

15 durante el tratamiento con sALP, y pueden cronometrarse para que sean, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5 o 6 día(s), semana(s), o mes(s), o año(s) después del inicio del tratamiento con ERT de sALP o en el momento en que se sospeche una disminución en la eficacia. La disminución en la cicatrización y/o mineralización ósea en el sujeto puede llegar a ser detectable al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 semana(s) o mes(s) después

20 del inicio del período de tratamiento de ERT de sALP. La disminución en la cicatrización y/o mineralización ósea en el sujeto puede en algunos casos mantenerse durante al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 semana(s), mes(es), o año(s) después del inicio del período de tratamiento de ERT de sALP. Por lo tanto, una

reducción en la cicatrización ósea y la mineralización después del tratamiento con sALP puede desencadenar la necesidad de terapia de IST para tratar los anticuerpos neutralizantes y restaurar la eficacia de la sALP. Después de la terapia de IST, pueden usarse las mismas métricas para monitorear una restauración de la eficacia de sALP.

- 5 En este caso, puede usarse un aumento en la mineralización ósea y la cicatrización para determinar que se ha restaurado la eficacia de sALP y que el trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) está siendo tratado de manera efectiva con la ERT de sALP después de la terapia de IST.

10 *Densidad mineral ósea (BMD, por sus siglas en inglés)*

Puede usarse una reducción en la BMD como métrica para diagnosticar que un paciente tiene, o es probable que tenga, anticuerpos neutralizantes que se unen a, y reducen la eficacia de, la sALP. En un sujeto con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que no ha desarrollado anticuerpos neutralizantes anti-sALP, la

- 15 administración de sALP (p. ej., asfotasa alfa) da lugar a un aumento en la terapia con BMD en el sujeto después de un tratamiento exitoso. Por lo tanto, un sujeto con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que es tratado con una sALP y experimenta una reducción en la BMD puede experimentar esta reducción debido a la presencia de anticuerpos neutralizantes.

- 20 Puede usarse una disminución en la BMD para monitorear la eficacia de la sALP (p. ej., asfotasa alfa) durante la ERT. Los métodos para medir la BMD son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, biopsia ósea, absorciometría de rayos X de doble energía (DXA o DEXA, por sus siglas en inglés), CT cuantitativa periférica (pQCT, por

sus siglas en inglés), pQCT de alta resolución (HR-pQCT, por sus siglas en inglés) y ultrasonido cuantitativo (QUS, por sus siglas en inglés). Las mediciones pueden hacerse por cualquier método rutinario, incluida la medición CT Hounsfield, y puede usar la comparación de resultados con una base de datos normativa o sujeto de control. La BMD a veces se informa como una puntuación Z o una puntuación T. Los valores de BMD previo al tratamiento pueden medirse en cualquier momento durante el tratamiento con ERT de sALP, y pueden cronometrarse para que sean de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 día(s), semana(s), mes(es) o año(s) después del inicio de la ERT de sALP. El valor de BMD de un punto de referencia después del tratamiento puede disminuir, p. ej., 0,01 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,5 % o 1 %. La disminución en un valor de BMD de un punto de referencia después del inicio del tratamiento con sALP también puede ser inalterada o un cambio es indetectable. La disminución de la BMD en el sujeto puede en algunos casos mantenerse durante al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o 12 semana(s), mes(es), o año(s) después del inicio del período de tratamiento de ERT de sALP. Por lo tanto, una reducción en la BMD después del tratamiento con sALP puede desencadenar la necesidad de terapia de IST para tratar los anticuerpos neutralizantes y restaurar la eficacia de la sALP. Después de la terapia de IST, pueden usarse las mismas métricas para monitorear una restauración de la eficacia de sALP. En este caso, puede usarse un aumento en la BMD, tal como de, p. ej., aproximadamente 0,01 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,5 %, o 1 % o más, para determinar que se restaure la eficacia de sALP y que el trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) se esté tratando de manera eficaz después de la terapia de IST.

Niveles PPI y PLP

Un aumento en los niveles de sustrato de fosfatasa alcalina, tal como PPI y/o PLP, puede usarse como métrica para diagnosticar a un paciente que tiene, o es probable que tenga, anticuerpos neutralizantes que se unen a, y reducen la eficacia de, la sALP. En un sujeto con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que no ha desarrollado anticuerpos neutralizantes anti-sALP, la administración de sALP (p. ej., asfotasa alfa) da lugar a una disminución de PPI y/o PLP en el sujeto después de un tratamiento exitoso, ya que la sALP es enzimáticamente activa hacia estos sustratos. Por lo tanto, un sujeto con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que es tratado con una sALP y experimenta un aumento en PPI y/o PLP puede experimentar este aumento debido a la presencia de anticuerpos neutralizantes que reducen la actividad catalítica de la sALP, lo que conduce a una acumulación excesiva de estos sustratos.

Puede usarse un aumento en la cantidad o concentración de sustratos tales como PPI o PLP para monitorear la eficacia de la sALP (p. ej., asfotasa alfa) tanto antes como durante el tratamiento ERT para monitorear la reducción en la eficacia de la sALP durante la ERT. Las concentraciones normales y anormales de estos sustratos se describen, por ejemplo, en las Publicaciones núm. WO 2016/123342 y WO 2017/171871, cuyas descripciones se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

El aumento promedio en las concentraciones de PPI en una muestra de plasma del sujeto que recibe ERT con una sALP (p. ej., asfotasa alfa) puede ser de aproximadamente 25 % o más (p. ej., 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, o

más de 60 %) en relación con las concentraciones de PPI en una muestra de plasma del sujeto antes de la reducción observada en la eficacia de la sALP. El aumento promedio de las concentraciones de PPI en una muestra de plasma del sujeto puede en algunos casos mantenerse durante un período de tratamiento de al menos una

5 semana, seis meses, o hasta un año o más. El aumento puede mantenerse durante la duración del período de tratamiento con la sALP (p. ej., asfotasa alfa). Si la concentración promedio de PPI aumenta por encima de un umbral predeterminado (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 % de aumento, o más) basado en los valores típicos durante el tratamiento con ERT de sALP, puede

10 determinarse que se necesita terapia de IST. En contraste, si la concentración promedio de PPI disminuye por debajo de un umbral predeterminado (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 % de disminución, o más) o a niveles normales en comparación con un sujeto de referencia (p. ej., uno que ha sido tratado exitosamente con terapia de IST), puede determinarse que la terapia de IST ya no es

15 necesaria o puede detenerse.

Puede usarse un aumento en el nivel de PLP para monitorear la eficacia de la sALP (p. ej., asfotasa alfa) tanto antes como durante el tratamiento ERT para monitorear la reducción en la eficacia de la sALP durante la ERT. El aumento promedio en las concentraciones de PLP en una muestra de plasma del sujeto que recibe ERT

20 con una sALP (p. ej., asfotasa alfa) puede ser de aproximadamente 50 % o mayor (p. ej., 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, o más de 95 %) en relación con las concentraciones de PLP en una muestra de plasma del sujeto antes de la reducción observada en la eficacia de la sALP. El aumento promedio de las

concentraciones de PLP en una muestra de plasma del sujeto puede en algunos casos mantenerse durante un período de tratamiento de al menos una semana y hasta un año o más. El aumento puede mantenerse durante la duración del período de tratamiento con la sALP (p. ej., asfotasa alfa). Si la concentración promedio de PLP
5 aumenta por encima de un umbral predeterminado (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 % de aumento, o más) basado en los valores durante el tratamiento con la ERT de sALP, puede determinarse que se necesita terapia de IST. En contraste, después de la terapia de IST, una disminución en la concentración promedio de PLP por debajo de un umbral predeterminado (p. ej., 10 %, 20 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 % de disminución, o más) o un nivel normal de PLP,
10 p. ej., en comparación con un sujeto de referencia o uno que ha sido tratado con éxito con la terapia de IST indica que la terapia de IST ya no es necesaria y puede detenerse.

Cualquier método conocido por los expertos en la técnica puede usarse para
15 cuantificar las concentraciones de PPi y PLP en una muestra de plasma o, alternativamente, en una muestra de orina, p. ej., como se describe en detalle en p. ej., Whyte et al., (*J. Clin Invest.* 95(4): 1440-1445, 1995), que se incorpora en la presente en la presente como referencia en su totalidad. En particular, las concentraciones de PPi y PLP en una muestra de plasma pueden usarse para evaluar la actividad de sALP
20 para el sujeto. Los sujetos con HPP típicamente exhiben concentraciones plasmáticas elevadas de PPi y PLP, tal como una concentración de PPi de aproximadamente $5^{\circ}\mu\text{m}$ o mayor y/o una concentración de PLP de aproximadamente 50 ng/ml o mayor que un sujeto sano. El límite normal inferior para las concentraciones plasmáticas de PPi de

adultos sanos es de aproximadamente 1 μm , mientras que el límite normal superior es de aproximadamente 5,9 μm . El límite normal inferior para las concentraciones plasmáticas de PPI de adultos adolescentes es de aproximadamente 0,8 μm , mientras que el límite normal superior es de aproximadamente 4,9 μm . El límite normal inferior para las concentraciones plasmáticas de PLP de adultos sanos es menos que aproximadamente 10 ng/ml, mientras que el límite normal superior es aproximadamente 60 ng/ml. El límite normal inferior para las concentraciones plasmáticas de PLP de los adultos adolescentes es menos que aproximadamente 10 ng/ml, mientras que el límite normal superior es menos que aproximadamente 25 ng/ml. Por lo tanto, estos límites para las concentraciones normales de PPI y PLP pueden usarse como umbrales predeterminados para desencadenar el inicio o la terminación de la terapia de IST.

Métricas físicas y evaluaciones de calidad de vida

Una reducción en una puntuación de una evaluación física o de calidad de vida puede usarse como métrica para diagnosticar que un paciente tiene, o es probable que tenga, anticuerpos neutralizantes que se unen a, y reducen la eficacia de, la sALP. En sujetos con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP), la administración de sALP (p. ej., asfotasa alfa) da lugar a una puntuación aumentada (p. Ej., correlacionándose con una métrica de rendimiento físico positiva o mayor calidad de vida) en el sujeto después de un tratamiento exitoso con sALP. Por lo tanto, un sujeto con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que es tratado con una sALP y experimenta una puntuación disminuida (p. ej., correlacionándose con una métrica de

rendimiento físico negativa o menor calidad de vida) puede experimentar este resultado debido a la presencia de anticuerpos neutralizantes que reducen la eficacia de la sALP.

Pueden usarse métricas físicas y de calidad de vida para medir la eficacia de ERT (p. ej., sALP, p. ej., asfotasa alfa) y/o el tratamiento con IST de anticuerpos sALP neutralizantes. Por ejemplo, una evaluación negativa usando cualquiera de las métricas que se describen a continuación puede indicar que la eficacia de la sALP durante la ERT se ha reducido y que puede ser necesaria la terapia de IST. En contraste, después de la terapia de IST, una evaluación positiva usando cualquiera de las métricas que se describen a continuación puede indicar que la terapia de IST ha sido exitosa y puede detenerse. Ejemplos no limitantes de métricas físicas útiles para evaluar la eficacia del tratamiento usando una sALP (p. ej., sec. con núm. de ident.: 1) son, p. ej., la Prueba de caminata de seis minutos (6MWT), Prueba Bruininks-Oseretsky de competencia motora 2.^a edición (BOT-2), Escalas Bayley de desarrollo infantil, 3.^a edición (BSID-III), y análisis de la marcha. Las pruebas y métricas adicionales pueden incluir la Evaluación de movilidad orientada al desempeño de Tinetti (POMA; opcionalmente modificado) y software y hardware de análisis temporo-espacial de la marcha, tal como GAITRITE® (Clinical Image Retrieval System Inc.). Las evaluaciones ilustrativas de calidad de vida son el Cuestionario de cinco dimensiones EuroQol (EQ-5D, por su siglas en inglés), el Cuestionario de evaluación de la salud infantil (CHAQ, por su siglas en inglés), Instrumento de recolección de datos de resultados pediátricos (PODCI, por su siglas en inglés), Índice de utilidad de la salud infantil-9D (CHU-9D, por su siglas en inglés), Inventario de la calidad de vida pediátrica (PedSQL, por su siglas en inglés), Encuesta de Salud de formulario corto 36 (SF-36,

por su siglas en inglés), y Encuesta de Salud de formulario corto 12 (SF-12, por su siglas en inglés). Los métodos descritos en la presente pueden incluir el uso de una o más de las métricas o evaluaciones descritas individualmente, o en combinación, para evaluar la eficacia del tratamiento usando una sALP (p. ej., asfotasa alfa) para un

5 sujeto que tiene un trastorno de mineralización ósea, tal como HPP, en el que las mejoras en relación con una determinada puntuación o valor demuestran que la sALP es efectiva para tratar HPP. Además, el nivel de actividad de sALP en una muestra (p. ej., una muestra de plasma) del sujeto que tiene HPP también puede usarse individualmente o en combinación con una o cada una de estas métricas para evaluar

10 la eficacia del tratamiento de la sALP (p. ej., la sALP de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 1-3) para el sujeto. Los ensayos para medir métricas físicas y realizar evaluaciones de calidad de vida asociados con trastornos de mineralización ósea, tal como HPP, se describen, por ejemplo, en las solicitudes PCT núms.

PCT/US2018/025206 y PCT/US2018/026868, cuyas descripciones se incorporan en la

15 presente como referencia en su totalidad. Estas métricas pueden usarse para monitorear la eficacia de, o un cambio en la eficacia de, sALP durante la ERT y antes, durante o después de la terapia de IST, y por lo tanto, pueden usarse para guiar el inicio o la terminación de la terapia de IST.

20 **Ensayos para detectar y caracterizar anticuerpos neutralizantes**

Tras la identificación de una reducción en la eficacia de una sALP durante la ERT, un sujeto puede someterse a pruebas adicionales para detectar y caracterizar la presencia de anticuerpos neutralizantes. Por ejemplo, la muestra de un sujeto (p. ej.,

sangre, suero) puede analizarse para determinar la presencia y/o el nivel de anticuerpos neutralizantes contra una sALP, tal como asfotasa alfa u otra fosfatasa alcalina descrita en la presente. Pueden usarse diversos ensayos para caracterizar los anticuerpos, tales como un ensayo de cribado, un ensayo confirmatorio, un ensayo de titulación y/o un ensayo de anticuerpos neutralizantes. Como primera etapa puede usarse un ensayo de cribado sensible para la unión de anticuerpos. Además, el nivel o título de anticuerpo puede medirse en relación con un control o un valor de referencia, tal como la cantidad del anticuerpo antes de la reducción observada en la eficacia o de un sujeto de referencia con un trastorno de mineralización ósea (p. ej., HPP) que no experimenta una reducción en la eficacia de la sALP (p. ej., asfotasa alfa). Este paso puede ser seguido por un ensayo confirmatorio que confirme que una respuesta positiva está mediada por anticuerpos. A continuación, pueden analizarse muestras positivas para la actividad neutralizante del anticuerpo tanto en ensayos de actividad enzimática como de direccionamiento óseo, y el anticuerpo puede evaluarse adicionalmente para el título y el isotipo.

En particular, una evaluación de una respuesta inmunitaria a una sALP (p. ej., asfotasa alfa u otra fosfatasa alcalina descrita en la presente) puede implicar uno o más inmunoensayos que detectan sensibilidad, especificidad y/o robustez de la interacción de anticuerpo/terapéutica. Dada la compleja biología de ERT de sALP, la evaluación de la neutralización de anticuerpos, en particular, puede implicar el desarrollo de al menos dos tipos de ensayos de anticuerpos neutralizantes: uno que evalúa la neutralización de la orientación enzimática al hueso (p. ej., osteoblastos presentes en la fase mineral del hueso) y uno que mide la capacidad de neutralizar anticuerpos para inhibir la

actividad catalítica de la sALP. Estas funciones distintas están mediadas por diferentes regiones en la proteína de fusión sALP (p. ej., asfotasa alfa u otra fosfatasa alcalina descrita en la presente). Por ejemplo, la orientación de asfotasa alfa a osteoblastos (p. ej., la fase mineral hidroxiapatita del hueso) está mediada por una región de

5 poliaspartato de 10 residuos, mientras que la actividad enzimática, que incluye la unión al sustrato y la catálisis, está mediada por la región sALP. Los anticuerpos que neutralizan la eficacia de sALP durante la ERT pueden, en consecuencia, tener especificidad para uno o ambos de los diversos dominios funcionales de una proteína de fusión de sALP (p. ej., la porción enzimática y/o la porción dirigida al hueso). Los

10 anticuerpos dirigidos a otros elementos conservados de una fosfatasa alcalina, tal como la asfotasa alfa, p. ej. el dominio Fc, pueden no neutralizarse, pero, cuando están presentes en alto nivel, pueden inhibir la eficacia desviando la enzima hacia una población celular más restringida (p. ej., en células portadoras del receptor Fc, o FcR) o alterando la farmacocinética. Los ensayos para anticuerpos que neutralizan la actividad

15 dirigida o catalítica puede realizarse lado a lado usando las mismas muestras de sujeto o réplicas de la muestra del sujeto, y los resultados pueden analizarse en conjunto con información sobre el resultado clínico en el sujeto.

La neutralización de la actividad catalítica puede evaluarse mezclando sueros sujetos diluidos en serie en un ensayo de potencia validado que mide la actividad de la

20 sALP hacia el sustrato específico (p. ej., PPI). Este ensayo puede ser validado de acuerdo a los estándares recomendados. Se determina que los anticuerpos neutralizantes específicos para el dominio de direccionamiento óseo o el dominio catalítico de una sALP interfieren con la eficacia de la sALP si el anticuerpo está

presente en un nivel suficiente para evitar el direccionamiento a las células óseas, el anticuerpo altera significativamente la farmacocinética de la sALP, o el anticuerpo inactiva la sALP. Además, la unión de un anticuerpo a una sALP puede alterar la conformación enzimática, lo que hace de esta manera que la sALP sea susceptible a la degradación proteolítica. Los ensayos que pueden usarse para monitorear el direccionamiento óseo y la actividad catalítica de la sALP se describen, por ejemplo, en la publicación PCT núm. WO 2005/103263, cuya descripción se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

Uno o más de estos ensayos pueden usarse para monitorear la eficacia de, o un cambio en la eficacia de, la sALP durante la ERT y antes, durante o después de la terapia de IST, y por lo tanto, pueden usarse para guiar el inicio o la terminación de la terapia de IST.

Evaluación de ADA mediante un enfoque de múltiples niveles

El desarrollo de un ensayo de anticuerpos antifármacos (ADA) en modalidades específicas se basa, al menos en parte, en un enfoque de múltiples niveles. Por ejemplo, un primer nivel puede incluir un ensayo de cribado, y un segundo nivel puede incluir un ensayo confirmatorio. Las muestras positivas cribadas y confirmadas pueden entonces caracterizarse adicionalmente en un ensayo de valoración y un ensayo de anticuerpos de neutralización. En modalidades específicas, se realiza un ensayo de cribado, se realiza un ensayo confirmatorio, se realiza un ensayo de valoración y se realiza un ensayo de neutralización. En otras modalidades, se realizan al menos dos o

al menos tres de un ensayo de cribado, un ensayo confirmatorio, un ensayo de valoración y un ensayo de neutralización.

Los ensayos descritos en la presente pueden incluir un ensayo puente electroquimioluminiscente (ECL), que puede incluir una etapa de acidificación de la muestra para disociar complejos fármaco-anticuerpo y extender la tolerancia al fármaco permitiendo que los anticuerpos antifármaco no unidos compitan libremente en el ensayo. Puede usarse un control positivo, tal como un anticuerpo policlonal purificado a partir de un conejo hiperinmunizado con una sALP, tal como asfotasa alfa. Un ensayo ADA puede usar un puente de anticuerpos anti-sALP de antígeno inmovilizador y antígeno indicador. El antígeno inmovilizador puede ser una sALP marcada con biotina (B-sALP) y el antígeno indicador puede ser sALP marcada con rutenio (Ru-sALP). La salida de medición puede entonces ser producida por una señal quimioluminiscente producida por estimulación eléctrica de la sALP etiquetada con rutenio cuando es capturada por una placa de estreptavidina.

15

Ensayo de cribado

Puede usarse un ensayo de cribado, también conocido como ensayo de anticuerpos de unión, para detectar anticuerpos que se unen a un producto proteico terapéutico. Tales ensayos pueden hacerse deliberadamente sensibles para detectar los ADA de baja y alta afinidad dentro de la muestra clínica. Las muestras positivas en el ensayo de cribado se evalúan adicionalmente para la especificidad de su unión en el segundo nivel del ensayo confirmatorio.

20

Un punto de corte del ensayo de cribado puede ser un umbral de respuesta en el ensayo que define si una respuesta de muestra dada es positiva o negativa. Un punto de corte del ensayo puede verse influenciado por una miríada de productos interferentes o componentes de matriz. Estos componentes se consideran temprano en el desarrollo del ensayo al definir un punto de corte. En una modalidad específica, se usan aproximadamente 25 a aproximadamente 50 muestras individuales para estimar un punto de corte. En modalidades específicas, existe una tasa baja pero definida de falsos positivos de aproximadamente 5 % para el ensayo de cribado inicial para maximizar la detección de verdaderos positivos. En modalidades específicas, la tasa de falsos positivos definida es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, o menos de aproximadamente 5 %, menos de aproximadamente 3 %, o menos de aproximadamente 1 %. Como las muestras de diferentes poblaciones diana y estados de enfermedad pueden tener componentes que pueden hacer que la señal de fondo del ensayo varíe, pueden ser necesarios diferentes puntos de corte para las poblaciones de pacientes diana individuales.

En modalidades específicas, un punto de corte se determina estadísticamente usando muestras de sujetos sin tratamiento. Al realizar ejecuciones de ensayo replicadas (tal como 2, 3, 4 o 5 ejecuciones) con estas muestras, puede estimarse la variabilidad del ensayo. El enfoque estadístico usado para determinar el punto de corte puede incluir la eliminación de valores atípicos estadísticos y la contabilización de anticuerpos preexistentes. Cada muestra puede ser probada en el ensayo de cribado ADA por al menos dos analistas en al menos tres días diferentes para un total de al menos seis mediciones individuales. Un enfoque que permite una alta seguridad de

una tasa de falsos positivos del 5 % puede ser aplicar un rango de confianza inferior unilateral del 90 % para el percentil 95 de la población de control negativo. Esto puede asegurar al menos una tasa de falsos positivos del 5 % con un nivel de confianza del 90 %. Este enfoque puede mejorar la probabilidad de que el ensayo identifique a todos los sujetos que puedan desarrollar anticuerpos. Un método estadístico usado para determinar un punto de corte puede basarse en una distribución estadística de los datos. Por ejemplo, en una modalidad específica, el percentil 95 de la distribución normal se estima por la media más 1,645 desviación estándar.

En modalidades específicas, puede usarse un ensayo confirmatorio posterior u otros ensayos para excluir resultados falsos positivos al determinar la verdadera incidencia de inmunogenicidad.

Ensayo confirmatorio

Un ensayo confirmatorio, usado en modalidades específicas, es un ensayo de competencia que puede confirmar la unión específica de ADA a la proteína terapéutica de interés. El objetivo de este ensayo es eliminar posibles muestras falsas positivas del ensayo de cribado inicial. Las muestras confirmadas por ADA pueden caracterizarse adicionalmente en un ensayo de titulación posterior y un ensayo neutralizante.

Un formato de ensayo confirmatorio puede ser un ensayo de competencia en el que se usa un competidor, tal como un producto proteico terapéutico no etiquetado. En modalidades específicas, la implementación de un ensayo confirmatorio adecuado asegura evitar que los datos sobre sujetos falsos positivos del ADA confundan los análisis del impacto del ADA en la seguridad y eficacia.

Un enfoque ilustrativo para determinar un punto de corte en un ensayo confirmatorio usa los datos de la señal generada por muestras de sujetos sin tratamiento con anticuerpos negativos en presencia del fármaco competidor. En este caso, la cantidad de producto de proteína terapéutica puede usarse para establecer el punto de corte. En modalidades específicas, la cantidad de producto de proteína terapéutica que se usa es la misma que la de un inhibidor competitivo en el ensayo.

En una modalidad específica de un ensayo confirmatorio, el ensayo usa sALP (p. ej., 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml, 250 µg/ml, 300 µg/ml, 350 µg/ml, 400 µg/ml, 450 µg/ml, o 500 µg/ml) como un inhibidor competitivo de la unión de B-sALP y Ru-sALP a ADA. Después de un período de incubación, el complejo B-sALP/ADA/Ru-sALP capturado por una placa de estreptavidina puede medirse, por ejemplo, mediante un lector de placas MSD Sector Imager 6000. En modalidades específicas, para cada muestra, el porcentaje de inhibición por el inhibidor del ensayo de sALP puede calcularse de la siguiente manera:

$$\% \text{ de inhibición} = \left[1 - \left(\frac{\text{Respuesta de la muestra inhibida}}{\text{Respuesta media de la muestra sin inhibición}} \right) \right] \times 100$$

En modalidades específicas del ensayo confirmatorio, el punto de corte puede establecerse a partir del análisis estadístico de datos de donantes normales sin fármacos analizadas con y sin sALP libre. Usando, p. ej., un percentil 99,9° superior del análisis estadístico, puede seleccionarse un punto de corte de ensayo confirmatorio (p. ej., 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % o 30 % de inhibición). Una muestra puede

confirmarse como anti-sALP positiva si el porcentaje de inhibición es igual o mayor que el punto de corte del ensayo confirmatorio en la inhibición.

En modalidades específicas, las muestras que se confirman positivas en el ensayo confirmatorio se informan como positivas y se evalúan adicionalmente en el ensayo de titulación. Las muestras por debajo del punto de corte de inhibición del ensayo confirmatorio pueden informarse como negativas y no se necesitan más pruebas.

Ensayo de titulación

Los ensayos de titulación pueden usarse en modalidades específicas para caracterizar la magnitud de una respuesta ADA. En modalidades específicas, la magnitud se caracteriza con un ensayo de titulación, debido a que el impacto del ADA en la farmacocinética, farmacodinámica, seguridad y eficacia puede correlacionarse con el título y la persistencia de ADA en lugar de la incidencia.

En modalidades específicas, se establece un punto de corte específico del ensayo de titulación usando aproximadamente una tasa de falsos positivos del 0,1 % o el punto de corte de la pantalla se usa como punto de corte de titulación. En modalidades específicas, el punto de corte del ensayo de titulación se establece de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,1 % o menos de aproximadamente 0,1 %.

Ensayo de neutralización

Los anticuerpos neutralizantes (NAb) en modalidades específicas se refieren a ADA específica con una capacidad para interferir con las interacciones entre un producto proteico terapéutico y una diana. Los ensayos de neutralización pueden evaluar el ADA para la actividad neutralizante. En modalidades específicas, la actividad neutralizante de ADA se caracteriza para, en parte, evaluar el impacto del ADA en la farmacocinética, farmacodinámica, seguridad y eficacia, que puede correlacionarse con la actividad de NAb en lugar de la incidencia de ADA.

El método de prueba seleccionado para evaluar el potencial de neutralización de muestras positivas para ADA en modalidades específicas se basa en un mecanismo de acción de un producto proteico terapéutico. Los ensayos de neutralización in vitro pueden indicar potencial de ADA para inhibir la actividad terapéutica de un producto. El NAb puede interferir con la actividad clínica de un producto de proteína terapéutica al evitar que el producto alcance un objetivo o al interferir con la actividad farmacológica tal como las interacciones receptor-ligando.

La **Figura 1** es un diagrama de flujo ilustrativo de ensayos de diversas modalidades, como se describe en la presente. Los métodos que se aplican a cada una de las materias relacionadas con las sec. con núms. de ident.: 1-3 pueden ser iguales o pueden ser diferentes en la aplicación de porciones del diagrama de flujo o procesos como se describe en la presente.

En modalidades específicas, un ensayo de NAb para detectar si los anticuerpos anti-sALP son anticuerpos neutralizantes usa ensayos cinéticos de estado estable catalizados por enzimas para determinar el efecto de los NAb sobre la eficacia de la sALP. Por ejemplo, el ensayo puede medir la hidrólisis de pNPP, que es proporcional a

la actividad enzimática. El ensayo NAb puede incluir un tratamiento ácido (p. ej., 0,1 M de glicina-HCl; 15 % v/v) al control negativo, control positivo, y muestras de estudio previo al ensayo de actividad enzimática. La acidificación de las muestras puede usarse para disociar anticuerpos unidos a sALP y también para desnaturalizar e

5 inactivar la sALP. Después de una etapa de neutralización, las muestras pueden añadirse a un ensayo de actividad. En un ensayo de actividad, puede añadirse una pequeña alícuota (p. ej., 20°µl) de una concentración fija de sALP (p. ej., 95,0 ng/ml) a cada pocillo en el ensayo. Después de una incubación, la reacción puede iniciarse con la adición de pNPP (p. ej., concentración final de p. ej., 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, o

10 5 mM, o superior) en un tampón de reacción adecuado (p. ej., 20 mM de bis-tris propano, 50 mM de NaCl, 0,5 mM de MgCl₂, 50°µm de ZnCl₂, 0,5 mg/ml de BSA y un pH 9,0 a 37 °C). Las muestras de estudio que contienen NAb inhibirán la rotación de pNPP en relación con el control negativo del ensayo. El % de inhibición de la actividad asfotasa alfa ($V_{m\acute{a}x}$) por los anticuerpos contenidos en cada muestra puede calcularse

15 usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left[1 - \left(\frac{\text{Muestra } V_{m\acute{a}x}}{\text{Control negativo medio } V_{m\acute{a}x}} \right) \right] \times 100$$

Un punto de corte del ensayo neutralizante puede determinarse a partir del análisis de,

20 p. ej., 50 muestras individuales de suero humano sin fármacos evaluadas en 2 o más (p. ej., 3, 4, 5 o 6) ejecuciones separadas. El punto de corte del ensayo puede entonces obtenerse estadísticamente y representarse por, por ejemplo, la inhibición del percentil 99,9° superior de la tasa de reacción ($V_{m\acute{a}x}$). Las muestras con porcentaje de inhibición

por debajo de este punto de corte pueden considerarse NAb negativas, mientras que las muestras con porcentaje de inhibición igual o superior a este punto de corte pueden informarse NAb positivo.

Los resultados de los ensayos descritos anteriormente pueden validarse usando un control positivo, tal como un anticuerpo policlonal anti-sALP. Los parámetros, tales como sensibilidad (p. ej., concentración de control positivo que produce una respuesta positiva en todos los ensayos), selectividad (p. ej., 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más de los lotes de sALP probados requeridos para cumplir los criterios), precisión y exactitud (p. ej., señal: relación ruido de variabilidad de concentración < 5 %, 15 %, 20 % o 25 %), especificidad, tolerancia/interferencia del fármaco (p. ej., la concentración de fármaco más alta que produce una respuesta positiva), y la estabilidad de la muestra (p. ej., dentro de 100 ± 20 % de recuperación), también puede evaluarse con un umbral predeterminado usado para los criterios de aceptación.

15 *Definición de subgrupos inmunogénicos*

Puede usarse un análisis de las mediciones de PK para determinar si la eficacia de sALP se reduce durante la ERT. Los aspectos específicos de la respuesta de inmunogenicidad que pueden investigarse incluyen, p. ej., la naturaleza variable en el tiempo de la inmunogenicidad, el estado de inmunogenicidad (p. ej., ADA+ vs. ADA- y NAb+ vs. NAb-) y magnitud (p. ej., alto vs. bajo para los títulos ADA y NAb). Para evaluar el impacto del desarrollo de anticuerpos, un sujeto puede ser asignado a un subgrupo de acuerdo con la información de inmunogenicidad sobre su seroconversión, p. ej., desarrollo de ADA y NAb de sALP. El impacto de la inmunogenicidad en la PK

puede entonces evaluarse examinando las diferencias en diversos parámetros de PK (p. ej., concentraciones de PPI y/o PLP, C_{prom} , $C_{m\acute{a}x}$ y $V_{m\acute{a}x}$) entre estos subgrupos. Los parámetros de PK ilustrativos se describen, p. ej., en la solicitud PCT núm.

PCT/US2018/025206, que se incorpora como referencia en su totalidad.

5 Para evaluar la inmunogenicidad, un enfoque puede ser asignar un sujeto a uno de 2 grupos, tal como positivo o negativo para el anticuerpo. La definición de un sujeto positivo para anticuerpos puede hacerse, p. ej., usando una sola ocurrencia del sujeto que da positivo para ADA en cualquier momento después del tratamiento con sALP (p. ej., asfotasa alfa). Después, el sujeto puede asignarse al grupo ADA+ (estado positivo
10 para ADA para todo el período de tratamiento). Si el sujeto nunca desarrolla anticuerpos medibles, entonces el sujeto sería asignado al grupo ADA- (estado negativo para ADA para todo el período de tratamiento). Cada sujeto puede asignarse además a uno de los 3 subgrupos posibles: ADA- (negativo para anticuerpo antifármaco, no se mide NAb), ADA+/NAb+ (ADA+ y positivo para anticuerpo
15 neutralizante), y ADA+/NAb- (ADA+ pero negativo para el anticuerpo neutralizante). El Ejemplo 2 proporciona detalles adicionales sobre la evaluación de agrupaciones de inmunogenicidad.

Fosfatasa alcalina

20 Las fosfatasas alcalinas, que pueden administrarse como parte de ERT a sujetos con trastornos de mineralización ósea, tales como HPP, abarcan un grupo de enzimas que catalizan la escisión de una entidad fosfato (p. ej., hidrólisis de pirofosfato, PPI). Existen cuatro isoenzimas conocidas de la fosfatasa alcalina (ALP) en mamíferos: la

fosfatasa alcalina inespecífica de tejido (TNALP; descrita más adelante), la fosfatasa alcalina placentaria (PLALP, por sus siglas en inglés) (p. ej., números de acceso P05187, NP_112603 y NP_001623), la fosfatasa alcalina de células germinales (GALP, por sus siglas en inglés) (p. ej., el número de acceso P10696), y la fosfatasa alcalina intestinal (IALP, por su siglas en inglés) (p. ej., números de acceso P09923 y NP_001622). Además de los ALP ilustrativos analizados en la presente, puede usarse cualquier polipéptido que tenga la estructura de sitio catalítico y/o actividad enzimática idéntica o similar de ALP (p. ej., como un polipéptido de fusión de sALP o sALP como se describe en la presente) en un método descrito en la presente.

La sALP puede ser, por ejemplo, una forma soluble de fosfatasa alcalina inespecífica de tejido humana (TNALP humana (hTNALP)). Una fosfatasa alcalina soluble (sALP) ilustrativa es asfotasa alfa, que es un polipéptido de fusión TNALP humano. En particular, los polipéptidos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 1-3 o una variante de estos que tienen al menos 85 % (p. ej., al menos 90 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 %) de identidad de secuencia a estos pueden usarse administrados para tratar trastornos de mineralización ósea, tales como HPP. La sALP puede incluir o consistir en la secuencia de aminoácidos de la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 1. La sALP puede incluir o consistir en la secuencia de aminoácidos de la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 2. La sALP puede incluir o consistir en la secuencia de aminoácidos de la secuencia de la sec. con núm. de ident.: 3.

La fosfatasa alcalina puede incluir la secuencia establecida en la sec. con núm. de ident.: 1:

LVPEKEKDPKYWRDQAQETLKYLELQKLNTNVAKNVIMFLGDGMGVSTVTAA
 RILKGQLHHNPGEETRLEMDKFPFVALSKTYNTNAQVPDSAGTATAYLCGVKANEGTV
 GVSAAATERSRCNTTQGNEVTSILRWAKDAGKSVGIVTTTRVNHATPSAAYAHSADR
 WYSDNEMPPEALSQGCKDIAYQLMHNIRDIDVIMGGGRKYMYPKNKTDVEYESDEKA
 5 RGTRLDGLDLVDTWKSFKPRYKSHFIWNRTTELLTDPHNVDYLLGLFEPGDMQYELN
 RNNVTDPSLSEMVVVAIQILRKNPKGFFLLVEGGRIDHGHHEGKAKQALHEAVEMDRAI
 GQAGSLTSSSEDTLTVVTADHSHVFTFGGYTPRGNSIFGLAPMLSDTDCKPFTAILYGNG
 PGYKVVGGERENVSMVDYAHNNYQAQSAVPLRHETHGGEDVAVFSKGPMALLHGV
 HEQNYVPHVMAYAACIGANLGHCAPASSLKDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK
 10 DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKDIDDDDDDDDDDD (sec. con núm. de ident.: 1)

La fosfatasa alcalina puede incluir la secuencia establecida en la sec. con núm.
 15 de ident.: 2:

LVPEKEKDPKYWRDQAQETLKYLELQKLNTNVAKNVIMFLGDGMGVSTVTAA
 RILKGQLHHNPGEETRLEMDKFPFVALSKTYNTNAQVPDSAGTATAYLCGVKANMGTV
 GVSAAATERSRCNTTQGNEVTSILRWAKDAGKSVGIVTTTRVNHATPSAAYAHSADR
 WYSDNEMPPEALSQGCKDIAYQLMHNIRDIDVIMGGGRKYMYPKQKTDVEYESDEKA
 20 RGTRLDGLDLVDTWKSFKPRYKSHFIWNRTTELLTDPHNVDYLLGLFEPGDMQYELN
 RNQVTDPSLSEMVVVAIQILRKNPKGFFLLVEGGRIDHGHHEGKAKQALHEAVEMDRA
 IGQAGSLTSSSEDTLTVVTADHSHVFTFGGYTPRGNSIFGLAPMLSDTDCKPFTAILYGN
 GPGYKVVGGERENVSMVDYAHNNYQAQSAVPLRHETHGGEDVAVFSKGPMALLH

GVHEQNYVPHVMAYAACIGANLGHCAPASSAGSLAAVECPPCPAPPVAGPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV
 VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSRLTVDKSRW
 5 QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKDDDDDDDDDD (sec. con núm. de ident.:
 2).

La fosfatasa alcalina puede incluir la secuencia establecida en la sec. con núm.
 de ident.: 3:

LVPEKEKDPKYWRDQAQETLKYALELQKLNTNVAKNVIMFLGDGMGVSTVTAA
 10 RILKGQLHHNPGEETRLEMDKFPFVALSKTYNTNAQVPDSAGTATAYLCGVKANMGTV
 GVSAATERSRCNTTQGNEVTSILRWAKDAGKSVGIVTTTRVNHATPSAAYAHSADR
 WYSDNEMPPEALSQGCKDIAYQLMHNIRDIDVIMGGGRKYMYPKNKTDVEYESDEKA
 RGTRLDGLDLVDTWKSFKPRYKHSFIWNRTLLDPHNVLDYLLGLFEPGDMQYELN
 RNNVTDPSLSEMVVVAIQILRKNPKGFFLLVEGGRIDHGHHEGKAKQALHEAVEMDRAI
 15 GQAGSLTSS EDTLT VVTADHSHVFTFGGYTPRGNSIFGLAPMLS DTDKKPFTAILYGNG
 PGYKVVGGERENVSMVDYAHNNYQAQSAVPLRHETHGGEDVAVFSKGPMALLHGV
 HEQNYVPHVMAYAACIGANLGHCAPASSAGSLAAVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKP
 KDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ
 20 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSRLTVDKSRWQE
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKDDDDDDDD (sec. con núm. de ident.: 3).

Una sALP ilustrativa es uno que es fisiológicamente activo hacia, p. ej.,
 fosfoetanolamina (PEA, por sus siglas en inglés), pirofosfato inorgánico (PPi, por sus siglas

en inglés) y piridoxal 5'-fosfato (PLP, por sus siglas en inglés). En particular, una sALP es una que es catalíticamente competente para mejorar la mineralización esquelética en el hueso. Los ejemplos de mutaciones que pueden introducirse en una secuencia de ALP se describen en la Publicación de los Estados Unidos núm. 2013/0323244.

5 Una sALP (tal como TNALP, p. ej., el polipéptido de fusión sALP de una cualquiera de las sec. con núm. de ident.: 1-3 o una variante de polipéptido que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de una cualquiera de las sec. con núm. de ident.: 1-3, p. ej., asfotasa alfa), enlazadores, espaciadores (p. ej., regiones Fc) y entidades dirigidas al hueso descritas en la presente pueden estar en

10 forma de un polipéptido de fusión que tiene la estructura de Z-sALP-Y-espaciador-X-Wn-V, Z-Wn-X-espaciador-Y-sALP-V, Z-sALP-Y-Wn-X-espaciador-V, o Z-Wn-X-sALP-Y-espaciador-V. En particular, la estructura del polipéptido de fusión sALP puede ser Z-sALP-Y-espaciador-X-Wn-V o Z-Wn-X-espaciador-Y-sALP-V. La sALP del polipéptido de fusión de sALP puede ser el ALP de longitud completa o fragmentos funcionales de

15 ALP, tales como el dominio extracelular soluble del ALP, como se describe en la presente (p. ej., TNALP, PALP, GCALP e IALP). Los conjugados de suministro óseo que incluyen sALP se describen además en las publicaciones PCT núms.: WO 2005/103263 y WO 2008/138131, cuyas descripciones se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

20 Una cualquiera de X, Y, Z y V y/o el espaciador puede estar ausente o una región enlazadora que incluye una secuencia de aminoácidos de al menos un aminoácido. Por ejemplo, X, Y, Z y V pueden ser una secuencia dipeptídica (p. ej., leucina-lisina o ácido aspártico-isoleucina), tal como un enlazador de dos residuos en la

posición Y (p. ej., leucina-lisina) o un enlazador de dos residuos en la posición X (p. ej., ácido aspártico-isoleucina). Por ejemplo, los polipéptidos de fusión de sALP pueden tener la estructura hTNALP-Fc-D10 (p. ej., un polipéptido de fusión de sALP que incluye la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 1-3 o una variante polipeptídica que tiene al menos 85 % (p. ej., al menos 90 %, 95 %, 97 % o 99 %) de identidad de secuencia con la secuencia de una cualquiera de la sec. con núm. de ident.: 1-3, p. ej., asfotasa alfa).

Wn puede ser una entidad dirigida al hueso, p. ej., que tiene una serie de residuos de aspartato (D) o glutamato (E) consecutivos, en los que n = 1 a 50, p. ej., n = 3-30, p. ej., 5-15, p. ej., 1, 2, 3, 4, 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, 35, 36, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50. La entidad dirigida al hueso, si está presente, puede colocarse en cualquier lugar del polipéptido de fusión, p. ej., en o cerca del extremo N-terminal o C-terminal, y/o en la región enlazadora. Por ejemplo, la entidad dirigida al hueso puede estar presente en el extremo C-terminal de un polipéptido de fusión sALP. Los polipéptidos sALP y los polipéptidos de fusión también pueden carecer de una entidad dirigida al hueso.

Los métodos descritos en la presente pueden realizarse junto con la terapia con sALP, p. ej., la administración de una sALP. La terapia puede realizarse antes de la administración de una terapia con sALP o después de la administración de una terapia con sALP. La sALP (p. ej., la sALP de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 1-3, tal como la sALP de la sec. con núm. de ident.: 1) puede administrarse 1-7 veces (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6 o 7 veces) por semana o cada dos semanas, p. ej., 2, 3 o 6 veces

por semana. La sALP puede administrarse una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, o una vez cada cuatro semanas. Por ejemplo, el sALP puede administrarse 3 o 6 veces por semana. La sALP (p. ej., la sALP de la sec. con núm. de ident.: 1) puede administrarse en una dosificación de 1 mg/kg/semana a 10 mg/kg/semana (p. ej., 3 mg/kg/semana a 9 mg/kg/semana, p. ej., 1 mg/kg/semana, 2 mg/kg/semana, 3 mg/kg/semana, 4 mg/kg/semana, 5 mg/kg/semana, 6 mg/kg/semana, 7 mg/kg/semana, 8 mg/kg/semana, 9 mg/kg/semana, o 10 mg/kg/semana). El sALP puede administrarse a una dosificación de 1 mg/kg a la semana. La sALP puede administrarse a una dosificación de 2 mg/kg/semana. La sALP puede administrarse a una dosificación de 3 mg/kg/semana. La sALP puede administrarse a una dosificación de 6 mg/kg/semana. La sALP puede administrarse a una dosificación de 9 mg/kg/semana. La sALP puede administrarse a una dosificación de 1 mg/kg 6 veces por semana, 2 mg/kg 3 veces por semana, o 3 mg/kg 2 veces por semana. En algunas modalidades, la dosificación es de 3 mg/kg 3 veces a la semana o se incrementa de 3 mg/kg 2 veces a la semana a 3 mg/kg 3 veces a la semana.

En una modalidad, la sALP (p. ej., la sALP de una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 1-3, tal como la sALP de la sec. con núms. de ident.: 2 o 3) se administra a una dosificación de aproximadamente 10 mg a 50 mg (p. ej., una vez a la semana o una vez cada dos semanas. Por ejemplo, la sALP (p. ej., la sALP de la sec. con núm. de ident.: 2 o 3, tal como la sALP de la sec. con núm. de ident.: 2) puede administrarse a una dosificación de 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, o 50 mg, p. ej., 20 mg, 35 mg, o 50 mg, p. ej., una vez a la semana o una vez cada dos semanas.

Puede prepararse un vial que contiene la sALP (p. ej., la sALP de la sec. con núm. de ident.: 1) a una concentración de hasta 100 mg/ml, tal como 40 mg/ml o 100 mg/ml (p. ej., 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, 90 mg/ml, o 100 mg/ml).

5 En algunas modalidades, la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea o por vía intravenosa. Por ejemplo, para una sALP (p. ej., una sALP de la sec. con núm. de ident.: 2 o 3, tal como la sALP de la sec. con núm. de ident.: 2), de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg (p. ej., aproximadamente 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 10 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, o 100 mg, p. ej., aproximadamente 15 mg, 45 mg, o 90 mg, tal como aproximadamente 25 mg, 35 mg o 50 mg) pueden administrarse al sujeto por vía subcutánea, p. ej., una o dos veces por semana, p. ej., durante al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más semanas, o durante más tiempo (p. ej., de por vida del sujeto). La composición puede administrarse en un volumen de, p. 15 ej., aproximadamente 5 ml o menos (p. ej., 5,0 ml, 4,0 ml, 3,0 ml, 2,0 ml, 1,0 ml, 0,9 ml, 0,8 ml, 0,7 ml, 0,6 ml, 0,5 ml, 0,4 ml, 0,3 ml, 0,2 ml, o 0,1 ml, o en un volumen en un rango de aproximadamente 5 ml a aproximadamente 0,1 ml).

En algunas modalidades, el segundo tratamiento con sALP comprendía una administración que era menos frecuente que el tratamiento que comprendía el primer 20 sALP. En algunas modalidades, al sujeto tratado con la sALP se le administró la sALP a una dosificación de 1 mg/kg/semana a 10 mg/kg/semana, y en donde el sujeto también se trató con una segunda sALP, diferente de la primera sALP, y la segunda sALP se administró a 20 mg, 35 mg, o 50 mg una vez cada 2 semanas.

Los métodos descritos en la presente descripción pueden incluir tratar a un sujeto al que se le han administrado dos sALP diferentes. Por ejemplo, en algunas modalidades, el sujeto ha sido tratado con una primera sALP (p. ej., una sALP de la sec. con núm. de ident.: 1) durante un período de tiempo (p. ej., uno o más días, 5 semanas, meses o años) y posteriormente se le ha administrado una segunda sALP que es diferente de la primera sALP (p. ej., una sALP de la sec. con núm. de ident.: 2 o 3, tal como una sALP de la sec. con núm. de ident.: 2). El tratamiento del sujeto puede alternarse entre la primera sALP y la segunda sALP o el sujeto puede recibir la primera sALP y después puede transitar únicamente a la segunda sALP.

10 El sALP puede interrumpirse durante la administración de la terapia. Por ejemplo, la sALP puede suspenderse durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas o más, p. ej., hasta que se logre la reducción de anticuerpos neutralizantes.

Las sALP descritas anteriormente pueden administrarse a un sujeto que lo 15 necesita para el tratamiento de un trastorno de mineralización, tal como HPP, o para el tratamiento de un síntoma de este. Los síntomas de los trastornos de mineralización ósea, tales como la HPP, incluyen, por ejemplo, hipomineralización, deformidad esquelética, fractura ósea y dolor óseo. Los síntomas del HPP adulto como se define en la presente incluyen, p. ej., niveles elevados en sangre y/u orina de 20 fosfoetanolamina (PEA), hipomineralización, hipercalcinuria, deformidad esquelética, marcha de ánade, dolor óseo, fractura ósea, depósito de cristales de dihidrato de pirofosfato de calcio, artritis por pirofosfato, condrocalcinosis, periartrosis calcificante, pseudofractura, deformidades esqueléticas, hipotonía, debilidad muscular,

- complicaciones reumatoides, artritis, pseudogota, dificultades ambulatorias, dolor, pérdida prematura de los dientes, hipoplasia pulmonar, insuficiencia respiratoria, convulsiones, estatura, crecimiento, raquitismo, e inmunogenicidad. Los síntomas de la HPP adolescente como se define en la presente incluyen, p. ej., niveles elevados en
- 5 sangre u orina de PPi, PEA o PLP, osteomalacia, una o más deformidades esqueléticas, hipotonía, debilidad muscular, complicaciones reumatoide, artritis, pseudogota, marcha de ánade, dificultades ambulatorias, dolor óseo, dolor, pérdida prematura de dientes, hipomineralización, hipoplasia pulmonar, insuficiencia respiratoria, convulsiones, hipercalciuria, baja estatura y retraso en el crecimiento.
- 10 Puede usarse un cambio de cualquiera de estos síntomas para monitorear la eficacia de sALP durante la ERT (p. ej., usando asfotasa alfa) tanto antes como después del tratamiento ERT y/o antes o durante la terapia de IST para monitorear una reducción o aumento de la eficacia de la sALP durante la ERT.

- Un sujeto al que se le haya administrado una sALP que esté en riesgo para la
- 15 generación de anticuerpos neutralizantes contra la sALP o que haya experimentado una pérdida o reducción en la eficacia de la sALP durante la ERT de sALP puede tratarse mediante terapia de IST usando los métodos descritos a continuación. La terapia con IST incluye una o más de las siguientes etapas: (a) identificar y/o diagnosticar sujetos que experimentan una reducción en la eficacia de una sALP como
- 20 necesitados de terapia de IST, (b) probar una muestra del sujeto para neutralizar anticuerpos contra la sALP terapéutica, (c) determinar si los anticuerpos neutralizantes son responsables de la reducción en la eficacia de la sALP, (d) tratar al sujeto con terapia de IST, y (e) determinar cuándo terminar la terapia de IST.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar, en lugar de limitar, la descripción. Se debe entender que los ejemplos, materiales, cantidades y procedimientos particulares
5 deben interpretarse ampliamente de acuerdo con el alcance y el espíritu de la descripción tal como se establece en la presente.

**Ejemplo 1. Un estudio intervencionista prospectivo de etiqueta abierta de terapias inmunosupresoras para mitigar la pérdida inmuno-mediada de la respuesta
10 terapéutica a la asfotasa alfa (STRENSIQ®) para la hipofosfatasa (RESTORE)**

Justificación:

La administración de fármacos biológicos (proteicos) a los pacientes, especialmente las exposiciones en serie para tratar afecciones crónicas, conlleva un riesgo de obtener
15 anticuerpos antifarmacológicos (ADA, por sus siglas en inglés). Este riesgo es mayor si el bioterapéutico tiene una potencial “contraparte endógena” como en el caso de las proteínas administradas para terapia de reemplazo para tratar enfermedades, tal como la hipofosfatasa (HPP). Los anticuerpos neutralizantes (NAb) pueden neutralizar el beneficio clínico del agente bioterapéutico exógeno. Al mismo tiempo, los no NAb también pueden
20 reducir la efectividad, al acelerar la depuración del fármaco (CL, por sus siglas en inglés), la farmacodinámica (PD) y la farmacocinética (PK).

En la vigilancia de seguridad posterior a la comercialización, algunos pacientes tratados con asfotasa alfa demostraron una respuesta terapéutica inicial, pero

posteriormente experimentaron recurrencia y progresión de marcadores clínicos, de laboratorio y radiográficos asociados a la enfermedad. Como algunos de estos eventos ocurrieron con la presencia de ADA y Nab positivos documentados, es posible que los efectos inmuno-mediados sobre la acción farmacológica de la asfotasa alfa dieron lugar a la progresión de la enfermedad. Basado en la información, la FDA estadounidense solicitó un estudio de requerimiento posterior a la comercialización (PMR, por sus siglas en inglés) para evaluar y caracterizar un riesgo grave potencial de pérdida de efectividad (LoE, por sus siglas en inglés) inmuno-mediada y evaluar estrategias para mitigarlo (PMR núm. 2949-7, BLA 125513).

Este estudio clínico prospectivo y abierto evaluará 3 terapias inmunosupresoras (IST), metotrexato, rituximab y bortezomib, por su capacidad para mitigar la LoE inmunomediada en pacientes pediátricos con HPP sometidos a tratamiento a largo plazo con asfotasa alfa. El estudio también explorará si se requiere IST a largo plazo para mantener la eficacia deseada de la asfotasa alfa en los participantes con HPP.

Tabla 1. Objetivos y criterios de valoración:

Objetivos	Criterios de valoración
Objetivos primarios	
Evaluar el efecto de IST en participantes tratados con asfotasa alfa que demuestran LoE inmuno-mediada	Número y porcentaje de participantes que logran respuesta completa de la IST en la semana 100. La definición de respuesta completa de IST en la Semana 100 se define de la siguiente manera: El nivel ADA o NAb disminuye desde el valor de referencia en al menos 2 etapas de título o se vuelve negativo ^a , y evidencia radiográfica de mejora en RSS por una puntuación de al menos 1 o más puntos desde el valor de referencia

Objetivos secundarios	
Bioquímicos	
Evaluar el impacto de la inmunogenicidad en los participantes tratados con IST sometidos a tratamiento con asfotasa alfa durante la duración del estudio.	Incidencia de ADA, categorías de respuesta ADA, título de ADA, incidencia de NAb y título de NAb en participantes tratados con IST sometidos a tratamiento con asfotasa alfa durante la duración del estudio
Evaluar el efecto de IST sobre biomarcadores PK/PD de HPP	Concentraciones plasmáticas de TNSALP medidas por la actividad enzimática asfotasa alfa (PK), PLP y PPi, en puntos temporales preespecificados
Seguridad	
Evaluar la seguridad del uso de IST en participantes con LoE inmuno-mediada	Incidencia de TEAE y TESAE, resultados de pruebas de laboratorio de seguridad clínica, signos vitales, ECG de 12 derivaciones, hallazgos del examen físico, y para los participantes tratados con bortezumib, ecocardiografía y Escala de Neuropatía Total modificada para pediatría
Otro	
Evaluar impacto de IST en células B con tratamiento con rituximab	Enumeración de células B CD19 en participantes tratados con IST sometidos a tratamiento con asfotasa alfa durante la duración del estudio

^a ADA será el resultado primario para los pacientes que son positivos para ADA y negativos para NAb. NAb será el resultado primario para los pacientes que son positivos para ADA y positivos para NAb.

Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; CD19 = grupo de diferenciación 19

- 5 (antígeno de linfocitos B); ECG = electrocardiograma; HPP = hipofosfatasa; IST = terapia inmunosupresora; LoE = pérdida de efectividad; NAb = anticuerpo neutralizante; PD = farmacodinámica; PK = farmacocinética; PLP = piridoxal-5'-fosfato (vitamina B6); PPi = pirofosfato inorgánico; RSS = Puntuación de gravedad del raquitismo; TEAE = tratamiento de eventos adversos emergentes; TESAE = eventos adversos graves
- 10 emergentes del tratamiento; TNSALP = fosfatasa alcalina inespecífica del tejido

Diseño general:

Se trata de un estudio de fase 4, prospectivo, abierto, diseñado para evaluar el efecto de las IST sobre las manifestaciones clínicas de HPP en participantes pediátricos que reciben tratamiento con asfotasa alfa que demuestran LoE inmunomediada.

La identificación de LoE inmunomediada requiere evidencia radiográfica de raquitismo en pacientes pediátricos con placas de crecimiento epifisarias abiertas entre la edad de 2 años y < 18 años en presencia de ADA y/o NAb, basado en los siguientes criterios:

1. Reparición o empeoramiento del raquitismo durante al menos los últimos 3 meses en niños que mostraron una respuesta efectiva inicial a la asfotasa alfa después de al menos 6 meses de tratamiento continuo y que actualmente reciben asfotasa alfa. La puntuación de gravedad del raquitismo (RSS) se usará para determinar la gravedad en el valor de referencia.
2. Presencia de ADA en el cribado, con o sin NAb, independientemente de sus títulos.
3. Confirmación de que tanto la evidencia clínica como la asociación mediada por inmunogenicidad están presentes.

Los participantes serán identificados a partir del Registro Global de HPP (ALX-HPP-

501) y del subestudio del Registro HPP (ALX-HPP-501s). Además, los pacientes fuera del Registro serán identificados a través de las pruebas de ADA proporcionadas en los Estados Unidos o a través de la parte de precibado del estudio si los participantes

están fuera de los EE. UU., y todos los posibles participantes también deben tener una LoE clínica documentada.

Los participantes serán seguidos durante 104 semanas después de su primera dosis de IST. Al inicio del estudio, se administrarán metotrexato y rituximab a partir
5 del Día 1 durante un recorrido inicial de 24 semanas. Después de este período inicial de 24 semanas, el horario se repetirá de la siguiente manera: Semanas 25-26; Semanas 27-50 (Evaluación del tratamiento [TA] Período 2); Semanas 51-52; Semanas 53-76 (Período TA 3); Semanas 77-78; Semanas 79-104 (Período TA 4). El tratamiento con asfotasa alfa para HPP continuará en paralelo a IST durante todo el
10 estudio. Después de cada período de tratamiento de 24 semanas, evaluar los hallazgos radiográficos del raquitismo usando RSS y estado y titulaciones de ADA y/o NAb para determinar el beneficio/riesgo de usar o continuar el (los) régimen(es) de tratamiento de IST durante las siguientes 24 semanas. Tener en cuenta que el metotrexato continuará durante la duración del estudio y se administrará rituximab sin
15 interrupciones durante al menos los primeros 18 meses (aproximadamente 74 semanas) a menos que existan problemas de seguridad. Inmunoglobulina intravenosa (IVIG, por sus siglas en inglés) se coadministrarán 500 mg/kg una vez al mes mientras se recibe rituximab, con o sin bortezomib. La decisión de añadir bortezomib al régimen de IST se basará en la evaluación radiográfica de raquitismo de un
20 aumento en 1 o más puntos en RSS en presencia de niveles crecientes de ADA o NAb desde el valor de referencia. Si a los 18 meses, el participante ha mostrado una respuesta completa y está recibiendo metotrexato y rituximab, entonces se suspenderá el rituximab y se continuará con metotrexato hasta el final del estudio. Si

a los 18 meses, el participante ha mostrado una respuesta completa y está recibiendo metotrexato, rituximab y bortezomib, entonces se suspenderá el bortezomib y se continuará con metotrexato y rituximab hasta el final del estudio. Los regímenes de dosificación se describen en la **Figura 3** y en las **Tablas 4 y 5**. Los participantes

5 continuarán siendo tratados con el mismo régimen posológico subcutáneo (SC, por sus siglas en inglés) de asfotasa alfa durante el estudio al momento de la inscripción.

Las evaluaciones de fin de estudio (EoS, por sus siglas en inglés) se realizarán en la Semana 100 de la Visita o interrupción temprana (ED; [si procede]).

10 **Declaración de descripción:**

Este es un estudio de un solo grupo sin cegar para tratar a los participantes con HPP que demuestren LoE inmunomediada.

Grupos de intervención y duración:

15 Todos los participantes continuarán recibiendo tratamiento con asfotasa alfa por estándar de atención según lo prescrito por su médico tratante durante 104 semanas de tratamiento con IST en el estudio, sin interrupción. El tratamiento de IST seguirá el cronograma de actividades (SoA, por sus siglas en inglés). Las evaluaciones de EoS se realizarán en la visita de la semana 100 o en ED (si corresponde).

20 Todos los participantes recibirán una llamada de seguimiento de seguridad y se les recogerán análisis de sangre y orina de seguridad en la Semana 104. El final global del estudio se define como la fecha de la última convocatoria de seguimiento de seguridad concluida para el último participante.

Evaluaciones de seguridad/laboratorio											
Pruebas genéticas (variante del gen <i>ALPL</i>) ^g		X									
Hepatitis B y C y pruebas de VIH		X									
Prueba de FSH ^h		X									
25-OH vitamina D ⁱ		X									
PTH		X									
Concentración sérica de asfotasa alfa (medida como actividad enzimática, PK)		X	X				X		X	X	
ALP		X	X				X		X	X	
Plasma PPI y PLP		X	X				X		X	X	
ECG de 12 derivaciones triplicado		X									
PE completo		X									
PE breve			X						X	X	
Peso y estatura		X	X						X	X	
Signos vitales		X	X						X	X	
Prueba de embarazo (β HCG) ^j		X	X						X	X	
Pruebas químicas clínicas de laboratorio		X	X		X		X	X	X	X	
LFT		X	X		X		X	X	X	X	
Pruebas clínicas		X	X		X		X	X	X	X	

de laboratorio											
IgM, IgA, IgE total		X								X	
IgG		X								X	
CD19, mIgM (marcadores de células B)		X					X		X	X	
Coagulación		X	X							X	
Análisis de orina		X	X						X	X	
PEA/creatinina en orina puntual			X						X	X	
Evaluaciones de resultados											
Evaluación del raquitismo (RSS)		X								X	
BOT-2		X								X	
PDMS-2		X								X	
Uso de ayudas para la movilidad ^k		X							X	X	
Radiografía de tórax ^{l,m}		X									
Radiografías de muñeca y rodilla (para raquitismo) ^l		X							X	X	
Fracturas por rayos X (si están presentes) ^{l,n}		X							X	X	
Administración de IMP y NIMP											
Asfotasa alfa	←Dosificar continuamente durante todo el estudio→										
Metotrexato			←Dosis semanal durante →								
Rituximab			X		X	X	X				

IVIG ^o								
Cumplimiento de regímenes farmacológicos			←Monitorear continuamente después de la primera dosis →					
Otro								
Medicación concomitante		←Supervisar continuamente después de firmar ICF en la cribado						
Aparición de TEAE y TESAE		←Supervisar continuamente después de firmar ICF en la cribado						

^a Para las evaluaciones realizadas tanto durante el cribado como en el valor de referencia (es decir, el día 1 de la semana 1). Las evaluaciones que no se vuelvan a realizar el Día 1 usarán el cribado como su valor de referencia.

^B El primer Período TA comenzará con la primera dosis de IST el Día 1.

^c debe obtenerse el ICF aprobado por IRB/IEC firmado y fechado antes de que se realice cualquier procedimiento de
5 cribado específico del estudio.

^d Incluye una decisión con respecto a la elegibilidad de cada participante para inscribirse en el estudio después de revisar su historial de HPP.

^e Las muestras de ADA deben recolectarse antes de la administración de asfotasa alfa (es decir, predosis a la dosis máxima del fármaco). En el ensayo NAb solo se analizarán las muestras positivas para ADA.

10 ^f La revisión determinará la elegibilidad de los participantes.

^g Si están disponibles, los resultados históricos son aceptables y no se requiere una prueba confirmatoria.

^h En mujeres posmenopáusicas que no usan anticoncepción hormonal ni terapia de reemplazo hormonal (HRT, por sus siglas en inglés).

ⁱ El nivel de vitamina D debe ser > 20 ng/ml. Si < 20 ng/ml en el Cribado, se permite el recribado después de la suplementación con vitamina D.

5 ^j Se realizará una prueba de embarazo sérica en cada punto temporal para todas las mujeres participantes en edad fértil. La prueba de embarazo en orina debe ser realizada por mujeres participantes en casa, todos los meses, cuando no hay visitas al sitio.

^k Se evaluará el nuevo uso y cambio en el uso a lo largo del tiempo en ayudas a la movilidad (p. ej., bastón, andador, silla de ruedas) para todas las edades.

10 ^l No es necesario realizar radiografías nuevamente si están disponibles para el participante y tomadas dentro de las últimas 2 semanas de la visita clínica indicada.

^m Si estas pruebas se realizan dentro de los 3 meses posteriores a la visita de cribado, no es necesario que se repitan.

ⁿ Si la fractura está presente en el cribado, se realizarán radiografías de seguimiento en las Semanas 12, 22, 48, 74 y 100 o terminarán antes si la fractura se está curando. Si la fractura ocurre después del cribado, se realizarán radiografías

15 al menos cada 3 meses durante la participación en el estudio o terminarán antes si la fractura se está curando.

^o Se coadministrará 500 mg/kg de IVIG una vez al mes 24 a 48 horas después de la primera dosis de rituximab en la serie con o sin bortezomib.

Abreviaturas: 25-OH = 25-hidroxi; ADA = anticuerpo antifármaco; ALP = fosfatasa alcalina; *ALPL* = gen que codifica la isoenzima fosfatasa alcalina inespecífica del tejido [TNSALP]; β HCG = gonadotropina coriónica β -humana; BOT-2 =

- 5 Prueba Bruininks-Oseretsky de competencia motora, segunda edición; BPI-SF = Inventario breve del dolor, formulario corto; CD19 = grupo de diferenciación 19 (antígeno de linfocitos B); CRF = formulario de informe de caso; D = día; ECG = electrocardiograma; FSH = hormona foliculoestimulante; HIV = virus de la inmunodeficiencia humana; HPP = hipofosfatasa; ICF = formulario de consentimiento informado; IEC = Comité de Ética Independiente; Ig = inmunoglobulina; IMP = producto medicinal en investigación; IRB = Junta de Revisión Institucional; ISR = reacción en el
- 10 sitio de infusión/inyección; IST = terapia inmunosupresora; IVIG = inmunoglobulina intravenosa; LFT = prueba de función hepática; mIgM = inmunoglobulina M; N/A = no aplicable; NAb = anticuerpo neutralizante; NIMP = producto medicinal que no está en investigación; PE = examen físico; PEA = feniletilamina; PDMS-2 = Escala del desarrollo motor II de Peabody; PK = farmacocinética; PLP = piridoxal-5'-fosfato (vitamina B6); PPI = pirofosfato inorgánico; PTH = hormona paratiroidea; RSS = Puntuación de gravedad del raquitismo; SAE = evento adverso grave; TA = Evaluación del tratamiento; TEAE =
- 15 tratamiento de eventos adversos emergentes; TESAE = eventos adversos graves emergentes del tratamiento; Wk = semana

Tabla 3: Cronograma de actividades de la semana 25 a 104 (EoS)													
	Período ^a		Períodos TA 2 - 4										
Ubicación	N/A		En la clínica (podría ser remoto dependiendo del régimen IST)										
Semanas de estudio ^b	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	38	48	104 (EoS/ED)
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	64	74	
	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	90	100	
Ventana (en días)	N/A		+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3	+/- 3
Decisión													
Tener en cuenta la decisión del régimen farmacológico ^c			X										
Evaluaciones de seguridad/Evaluaciones de laboratorio													
Concentración sérica de asfotasa alfa (medida como actividad enzimática)							X				X	X	
Anti-asfotasa alfa ADA ^d							X				X	X	
ALP							X				X	X	
Plasma PPi y PLP							X				X	X	
PE breve											X	X	
ECG de 12 derivaciones triplicado ^e			X									X	
escala de neuropatía periférica ^f			X ^g									X	
Ecocardiografía, ECG triplicado y biomarcadores de seguridad cardíaca – bortezomib solo ^h			X								X	X	
Pruebas químicas clínicas de laboratorio			X			X	X ^g			X	X	X	X
LFT			X			X	X ^g			X	X	X	X
Pruebas de laboratorio de hematología ⁱ			X			X	X ^g			X	X	X	X

[illegible]

Llamada de seguimiento de seguridad y resultado													X
Medicación concomitante	←Supervisar continuamente después de firmar ICF en la cribado												
Aparición de TEAE y TESAE	←Supervisar continuamente después de firmar ICF en la cribado												

^a período de revisión de todos los datos disponibles de los participantes durante un período de 2 semanas entre cada período TA de 24 semanas para tomar decisiones sobre el régimen de dosificación.

^b Repeticiones programadas para cada período TA (2-4 solamente): Semanas 25-26 (Periodo); Semanas 27-50 (Periodo de TA 2); Semanas 51-52 (Período); Semanas 53-76 (Período TA 3); Semanas 77-78 (Periodo); Semanas 79-104

5 (Período TA 4). Los participantes recibirán una llamada de seguimiento de seguridad y se les extraerá sangre para evaluaciones de seguridad en la Semana 104.

^c El personal del sitio debe anotar las decisiones en el CRF de cada participante.

^d Las muestras de ADA deben recolectarse antes de la administración de asfotasa alfa (es decir, predosis a la dosis máxima del fármaco). En el ensayo NAb solo se analizarán las muestras positivas para ADA.

10 ^e Solo se realiza en el cribado y anualmente durante la participación en el estudio.

^f Se usará la herramienta de evaluación, Escala de neuropatía total modificada para pediatría (PED-MTNS). La evaluación debe realizarse antes de la primera dosis y al final de cada ciclo para el cual el participante recibió bortezomib.

^g Evaluaciones realizadas únicamente para los participantes que reciben bortezomib.

- ^h Si un participante recibe bortezomib, las evaluaciones de ecocardiografía y ECG deben realizarse antes de la primera dosis de bortezomib. Después de eso, a los 3, 6 y 12 meses, después de la primera dosis y al final del estudio (p. ej., evaluaciones que se realizarán en las semanas 27, 38, 53, 79 y 100 para los participantes que comiencen bortezomib en la semana 27) o cuando sea clínicamente necesario. Además, los biomarcadores de seguridad cardíaca, troponina
- 5 cardíaca (T o I según corresponda, preferentemente alta sensibilidad) y NT-pro BNP deben medirse antes de la primera dosis y repetirse como se indica clínicamente, ver la **Tabla 7**.
- ⁱ Participantes en tratamiento con bortezomib solamente, muestras a recolectar antes de la dosis de bortezomib los días 1 y 29.
- ^j La prueba de IgG se realizará antes de todos los ciclos de infusión de rituximab.
- 10 ^k Se realizará una prueba de embarazo sérica en cada punto temporal para todas las mujeres participantes en edad fértil. La prueba de embarazo en orina debe ser realizada por mujeres participantes en casa, todos los meses, cuando no hay visitas al sitio.
- ^l Nuevo uso y cambio de uso a lo largo del tiempo en ayudas a la movilidad (p. ej., bastón, andador, silla de ruedas), todas las edades.
- 15 ^m No es necesario realizar radiografías nuevamente si están disponibles para el participante y tomadas dentro de las últimas 2 semanas de la visita clínica indicada.

ⁿ Si la fractura está presente en el cribado, se realizarán radiografías de seguimiento en las Semanas 12, 22, 48, 74 y 100 o terminarán antes si la fractura se está curando. Si la fractura ocurre después del cribado, se realizarán radiografías al menos cada 3 meses durante la participación en el estudio o terminarán antes si la fractura se está curando.

^o Dos veces por semana durante cada semana indicada. Seguir los días de dosificación que se muestran en la **Tabla 5**.

5 ^p Se coadministrará 500 mg/kg de IVIG una vez al mes 24 48 horas después de la primera dosis de rituximab en la serie con o sin bortezomib.

Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; ALP = fosfatasa alcalina; β HCG = gonadotropina coriónica β -humana; BOT-2 = prueba Bruininks-Oseretsky de competencia motora, segunda edición; CD19 = grupo de diferenciación 19 (antígeno de linfocitos B); CRF = formulario de informe de caso; ECG = electrocardiograma; ED = interrupción temprana; EoS = fin del estudio; ICF = formulario de consentimiento informado; Ig = inmunoglobulina; IMP = producto medicinal en investigación; ISR = reacción en el sitio de infusión/inyección; IST = terapia inmunosupresora; IVIG = inmunoglobulina intravenosa; LFT = prueba de función hepática; N/A = no aplicable; NAb = anticuerpo neutralizante; NIMP = producto medicinal que no está en investigación; NT-pro BNP = péptido natriurético cerebral N-terminal; PE = examen físico; PEA = feniletilamina; PDMS-2 = escala del desarrollo motor II de Peabody; PLP = piridoxal-5'-fosfato (vitamina B6); PPi = pirofosfato inorgánico; RSS = puntuación de gravedad del raquitismo; SAE = evento adverso grave; TA = evaluación del tratamiento; TEAE = tratamiento de eventos adversos emergentes; TESAE = eventos adversos graves emergentes del tratamiento

Cronograma de tratamiento y regímenes de dosificación de IST:

Metotrexato:

El metotrexato se administra a partir del día 1 y se dosifica una vez cada 7 días. El cronograma de tratamiento y el régimen de dosificación están dentro del etiquetado aprobado para metotrexato (**Tabla 7**). La deficiencia de folato puede aumentar las reacciones adversas relacionadas con el metotrexato. Por lo tanto, se debe administrar ácido fólico a los participantes mientras reciben metotrexato.

Tabla 4: Cronograma de tratamiento con rituximab - 1 dosis/semana

Ciclo		Semana 1 (en cada TA 1-4)		Semana 2 (en cada TA 1-4)		Semana 3 (en cada TA 1-4)		Semana 4 (en cada TA 1-4)	
1	Día	1	2-7	8	9-14	15	16-21	22	23-28
RTX*		X	ND	X	ND	X	ND	X	ND

10 Nota: $375 \text{ mg/m}^2 \times 4$ dosis en cada periodo de 24 semanas.

* Los cronogramas de tratamiento y los regímenes de dosificación están alineados con el etiquetado aprobado para rituximab.

Abreviaturas: RTX = rituximab; ND = sin dosificación; TA = Evaluación del tratamiento (Período)

Tabla 5: Cronograma de tratamiento con bortezomib – 2 × semana (4 dosis en 2 semanas en los días 1, 4, 8, 11, días de descanso 12-21 = 1 ciclo)																						
Ciclo		Semana 1, 4, 7 (en cada TA 2-4)							Semana 2, 5, 8 (en cada TA 2-4)							Semana 3, 6, 9 (en cada TA 2-4)						
1	Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
2	Día	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
3	Día	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	62	62	63
BTZ*	ND	X	ND	ND	X	ND	ND	ND	X	ND	ND	X	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Nota: 1,3 mg/m² por dosis es el nivel inicial.

* El bortezomib actualmente no está aprobado para uso pediátrico.

Abreviaturas: BTZ = bortezomib; ND = sin dosificación; TA = Evaluación del tratamiento (Período)

Antecedentes

Experiencia de inmunogenicidad clínica con el tratamiento con asfotasa alfa

En los estudios clínicos, la mayoría de los participantes tratados con asfotasa alfa para HPP fueron positivos para ADA en algún momento posterior al valor de referencia (97/109; 89 %). Generalmente, los niveles de ADA fueron bajos, con una mediana del título pico de 32,0 (rango: 0 a 2048). La mediana del tiempo hasta el primer resultado positivo para ADA fue de 43,0 días (rango: 14 a 2374 días). Al igual que con los resultados de las ADA, los participantes que dieron positivo para los NAb en algún momento posterior al valor de referencia no fueron consistentemente positivos después del primer resultado positivo. De los 97 participantes que alguna vez fueron positivos para las ADA posterior al valor de referencia, 55 (56,7 %) participantes fueron positivos para los NAb en algún momento posterior al valor de referencia. La mediana del porcentaje máximo de NAb de inhibición fue de 9,910 (rango: 4,54 a 95,7). No se observó correlación entre los valores de título de ADA y NAb (% de inhibición).

En general, estas respuestas de ADA tuvieron un impacto muy pequeño en los perfiles de concentración de fármacos de asfotasa alfa. Los resultados de un modelo de farmacocinética poblacional (Pop-PK) (N = 58) demostraron que el efecto del estado ADA sobre la asfotasa alfa CL fue insignificante (aumentó $\leq$ 20 %). Las simulaciones que evaluaron el efecto de la inmunogenicidad en CL revelaron un intervalo de confianza (CI, por sus siglas en inglés) del 90 % para la exposición promedio en estado estacionario, lo que respalda el hallazgo de que el impacto general de la respuesta de anticuerpos de bajo título sobre la asfotasa

alfa PK es pequeño. Dado el pequeño efecto de la inmunogenicidad sobre la PK y dado que los participantes a dosis de 6 mg/kg/semana estaban cerca de la meseta de la relación exposición-eficacia, no se espera que la inmunogenicidad afecte la eficacia y seguridad en la mayoría de los participantes de HPP tratados con asfotasa alfa. Esto se ha confirmado basado en la revisión de los datos compuestos para participantes individuales con enfoque en las relaciones entre inmunogenicidad y eficacia/seguridad.

En la vigilancia de seguridad posterior a la comercialización, algunos pacientes tratados con asfotasa alfa demostraron una respuesta terapéutica inicial, pero posteriormente experimentaron recurrencia y progresión de marcadores clínicos, de laboratorio y radiográficos asociados a la enfermedad. Como algunos de estos eventos ocurrieron con la presencia de ADA y NAb positivos documentados, es posible que los efectos inmuno-mediados sobre la acción farmacológica de la asfotasa alfa resultaron en progresión de la enfermedad.

Los agentes IST propuestos se administrarán por un recorrido inicial de 24 semanas, seguido de un período de 2 semanas para evaluar los cambios clínicos, de laboratorio y radiológicos que determinarán la necesidad de repetir los regímenes IST, continuar la observación si el participante no es tratado con IST, o modificar el régimen IST para las próximas 24 semanas. El metotrexato y el rituximab se administrarán durante al menos 18 meses (aproximadamente 74 semanas) a menos que haya alguna preocupación de seguridad. Se coadministrará 500 mg/kg de IVIG una vez al mes mientras se recibe rituximab con o sin bortezomib.

A lo largo del estudio se realizará una revisión de la totalidad de los datos cada 24 semanas para cada participante para evaluar el impacto del IST en la LoE inmuno-mediada. Este ciclo se repetirá para todos los participantes hasta la finalización del estudio o ED. El tratamiento con asfotasa alfa para HPP continuará en paralelo al IST durante el estudio, y se continuará siguiendo a los participantes según estándar de atención si se inscriben en el Registro Global de HPP después de que finalice este estudio. Los participantes se tratarán como estudios de caso, con análisis intraparticipante para la evaluación del impacto de los regímenes de IST en las respuestas de ADA/NAb y el efecto correspondiente sobre la mejora de la eficacia.

Evaluación de Riesgo/Beneficio

Evaluación de riesgos

En este estudio de etiqueta abierta, los participantes continuarán siendo tratados con el régimen de dosificación subcutánea de asfotasa alfa al momento de la inscripción y durante el estudio, según lo prescrito por el médico tratante según la etiqueta aprobada del país.

Al no existir estudios controlados que usen estos agentes en pacientes con HPP, se desconocen las toxicidades en esta población que recibe asfotasa alfa. Además, no se han usado las combinaciones de tratamiento propuestas de asfotasa alfa con metotrexato, rituximab y/o bortezomib, y la combinación de agentes podría tener efectos secundarios más amplios que los observados con los agentes individuales. Durante este estudio, los participantes deben ser

monitoreados de cerca para detectar cualquier signo de toxicidad, incluido el monitoreo de cualquier cambio en creatinina sérica, nitrógeno ureico en sangre, plaquetas, recuento de glóbulos blancos, alanina aminotransferasa (ALT, por sus siglas en inglés), aspartato aminotransferasa (AST, por sus siglas en inglés), bilirrubina y la presencia de glóbulos rojos en la orina.

La inmunosupresión también puede resultar en infecciones oportunistas como infecciones bacterianas, fúngicas y virales. Los participantes deben ser monitoreados de cerca para detectar cualquier signo de infección durante el estudio, con el consecuente tratamiento agresivo y manejo si esto ocurriera. Al seleccionar un antibiótico para tratar la infección, debe prestarse atención a las posibles interacciones medicamentosas entre los agentes de investigación y ciertos antibióticos. También se recomienda consultar a un especialista en enfermedades infecciosas siempre que vaya a administrarse algún agente antimicrobiano para el tratamiento de infección activa en participantes que reciben el régimen de IST. La administración rutinaria de IVIG se incorpora a los algoritmos de tratamiento como una mitigación del riesgo de infección. Además, la deficiencia de folato puede aumentar las reacciones adversas relacionadas con el metotrexato. Por lo tanto, se debe administrar ácido fólico a los participantes mientras reciben metotrexato.

La información sobre los beneficios y riesgos conocidos y esperados y los AE razonablemente esperados de rituximab, metotrexato y bortezomib puede encontrarse en la información de seguridad de referencia (RSI) para cada IST. El actual SmPC de la UE, que es más aplicable para la sustancia activa respectiva, vía de administración y régimen de dosificación, se usará como RSI para las IST.

Los regímenes IST para cada participante pueden añadirse o eliminarse basados en la revisión de sus datos clínicos, radiológicos y de laboratorio.

Evaluación de beneficios

Dado que este estudio tiene como objetivo mejorar la LoE inmuno-mediada del participante al tratamiento con asfotasa alfa, la participación en este estudio puede proporcionar una mayor salud y calidad de vida para estos participantes diagnosticados con HPP. Si un participante muestra beneficio con los regímenes IST durante el estudio, puede continuar con IST con su tratamiento con asfotasa alfa después de los EoS.

Además, se ofrecerán pruebas que se usaron en estudios clínicos, pero que aún no están disponibles comercialmente en la mayoría de los países (pirofosfato inorgánico [PPI], piridoxal-5'-fosfato[*vitamina B6*] PLP] con levamisola, y concentraciones de asfotasa alfa), se ofrecerán para que los médicos tratantes las obtengan y serán analizadas en un laboratorio central. Estos análisis de sangre recomendados, pero no disponibles en general, no causarán ningún riesgo adicional, y los participantes pueden beneficiarse del acceso a estas pruebas para ayudar con el monitoreo del tratamiento.

Beneficio general: Conclusión de Riesgo

Considerando las medidas tomadas para minimizar el riesgo para los participantes en este estudio, los riesgos potenciales identificados en asociación con rituximab, metotrexato y bortezomib se justifican por los beneficios anticipados

que pueden otorgarse a los participantes tratados con asfotasa alfa con HPP que están experimentando LoE inmunomediada.

Respuesta inmunitaria

Las células T colaboradoras son esenciales en el desarrollo de la mayoría de las ADA, mientras que las células B de memoria y las células plasmáticas de larga vida amplifican y mantienen las respuestas que constituyen la base para el uso de IST de combinación cuando hay LoE debido a la presencia de ADA. Las proteínas terapéuticas, tal como la asfotasa alfa, pueden ser endocitizadas por células presentadoras de antígeno después de la administración, donde se procesan en sus péptidos componentes. Después, puede presentarse un subconjunto de estos péptidos a células T colaboradoras específicas para el péptido en el contexto de moléculas de antígeno leucocitario humano (HLA, por sus siglas en inglés). Las células T auxiliares señalan y activan las células B específicas de Ag para proliferar y diferenciarse en células B de memoria y células plasmáticas secretoras de Ab (tanto de corta como de larga duración).

Terapias de inmunosupresión

Las siguientes IST serán consideradas para usar en este estudio basadas en su acción sobre células T colaboradoras, células plasmáticas y células B de memoria. Al no existir estudios controlados que utilicen estos agentes en pacientes con HPP, se desconocen las toxicidades.

Rituximab

Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico que ha sido aprobado para múltiples tipos de malignidad y enfermedades autoinmunitarias. Se dirige al antígeno de superficie celular de los linfocitos B humanos (CD20), una proteína transmembrana presente en prácticamente todas las células B desde la etapa en la que se comprometen con el desarrollo de células B hasta que se regula a la baja cuando se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Rituximab provoca un agotamiento rápido y casi completo de las células B periféricas, las cuales no reaparecen durante aproximadamente 6 meses en la mayoría de los participantes.

No obstante, CD20 se pierde cuando las células B se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos. Por lo tanto, una vez que las células B se diferencian en células plasmáticas, deben utilizarse agentes alternativos y/o adicionales para abordar los ADA generados por las células plasmáticas circulantes.

Metotrexato

El metotrexato, un inhibidor de la dihidrofolato reductasa, impacta las células T y B que se dividen rápidamente al prevenir la reducción de dihidrobiopterina (BH₂) a tetrahidrobiopterina (BH₄), lo que conduce al desacoplamiento de la óxido nítrico sintasa y al aumento de la sensibilidad de las células T a la apoptosis, disminuyendo de esta manera las respuestas inmunitarias.

Bortezomib

El bortezomib es un inhibidor del proteasoma. Los inhibidores del proteasoma son una forma potente y específica de dirigirse a las células plasmáticas, que son altamente dependientes de la actividad del proteasoma. El bortezomib es un inhibidor reversible del proteasoma que se dirige a las células plasmáticas de corta y larga vida debido a sus altas tasas de producción de inmunoglobulina. Si bien el bortezomib se aprobó inicialmente para el mieloma múltiple, los estudios en animales demostraron que la inhibición del proteasoma podría destruir también a las células plasmáticas normales. Bortezomib mejoró las respuestas de HSAT a ERT en algunos pacientes con IPD y también se demostró ser beneficioso en varios informes de caso de púrpura trombocitopenia trombótica y citopenias autoinmunitarias refractarias a terapias estándar con EA mínimas y tolerables en niños.

Los participantes reclutados en este estudio y que muestren pérdida de efectividad serán todos positivos para ADA en el valor de referencia con una respuesta ADA “arraigada”. El rituximab agota las células B, pero las células plasmáticas (productoras de ADA) no se verán afectadas. Por lo tanto, los pacientes en tratamiento con metotrexato y rituximab con respuesta ADA arraigada pueden responder de manera inadecuada al tratamiento con asfotasa alfa ERT. Para agotar el plasma productor de ADA y células B de memoria, se considerará bortezomib en caso de empeoramiento de la enfermedad y aumento concomitante de ADA y NAb.

Justificación de la dosis

Asfotasa alfa

La dosificación de asfotasa alfa, que es un NIMP en este estudio, al ingresar al estudio será según recomendación y de acuerdo con la dosis prescrita por el médico tratante según la etiqueta aprobada del país.

Terapias inmunosupresivas (IST)

Este estudio usará la dosificación estándar para rituximab, metotrexato y bortezomib. Se realizarán datos clínicos, de laboratorio y radiológicos para decidir el tratamiento y monitoreo IST.

Definición de fin de estudio

Se considerará que los participantes que completen el último procedimiento programado mostrado en el SoA han concluido el estudio. Se considerará que los participantes han terminado anticipadamente del estudio si se retiran o son retirados del estudio antes de concluir la Visita del EoS. El final global del estudio se define como la fecha de la última convocatoria de seguimiento de seguridad concluida para el último participante. Los participantes que completen el estudio serán elegibles para inscribirse en el Registro Global de HPP.

POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Se revisará la evaluación de la historia de los participantes, los hallazgos de laboratorio y el examen físico durante el Período de Detección de hasta 8 semanas, y la decisión de proceder a la IST se tomará por consenso y después de que se haya obtenido el consentimiento informado.

No se permite la aprobación prospectiva de desviaciones de protocolo para criterios de reclutamiento e inscripción, también conocidas como exenciones o exoneraciones de protocolo.

INTERVENCIÓN DEL ESTUDIO

La intervención del estudio se define como cualquier intervención(es) en investigación, producto(s) comercializado(s), placebo o dispositivo(s) médico(s) destinado(s) a ser administrado(s) a un participante del estudio de acuerdo con el protocolo del estudio.

Intervención(es) del estudio administrada(s)

Todas las intervenciones del estudio (producto medicinal en investigación [IMP] y producto medicinal que no está en investigación [NIMP]) se registrarán de la siguiente manera:•

- Fecha de inicio
- Régimen de dosificación (p. ej., dosis [mg/kg], frecuencia, dosis omitida, interrupciones del tratamiento)

Consulte la **Tabla 6** para obtener detalles del régimen de dosificación recomendado para rituximab, metotrexato, y bortezomib.

El área de superficie corporal (BSA, por sus siglas en inglés) para el régimen de dosificación se determinará mensualmente. El BSA se calculará usando el método Du Bois.

$$BSA (m^2) = \text{Altura} (0,725) \times \text{Peso} (0,425) \times 0,007184$$
, donde la altura es en metros (m) y el peso está en kilogramos (kg).

La dosificación de asfotasa alfa, un NIMP en este estudio, será por recomendación y de acuerdo a la dosis prescrita por el médico tratante según la etiqueta aprobada del país. Sin embargo, una vez que se inscribe un participante, el régimen de dosis de asfotasa alfa debe permanecer estable durante todo el estudio. No se proporcionará asfotasa alfa en el ámbito de este estudio.

Tabla 6: Información de la intervención del estudio

Nombre de la intervención del estudio	Asfotasa alfa	Rituximab ^a	IVIGb	Metotrexato ^a	Ácido fólico	Bortezomib ^a
IMP/NIMP	NIMP ^c	IMP ^c	NIMP ^c	IMP ^c	NIMP ^c	IMP ^c
Tipo	Biológico	Biológico	Biológico	Fármaco	Biológico	Biológico
Formulación de la dosis	Vial de un solo uso de 100 mg/ml	Vial de un solo uso de 100 mg/10 ml O Vial de un solo uso de 500 mg/50 ml	Consultar etiquetado de productos específicos	Tableta de 2,5 mg O 10 mg/ml, vial de 5 ml de un solo uso	Tableta de 1 mg	3,5 mg/10 ml vial de un solo uso
Niveles iniciales de dosificación	6 mg/kg/semana o según lo prescrito por el médico tratante según la etiqueta aprobada por el país	375 mg/m ² × 4 dosis	500 mg/kg	15 mg/m ² (participantes pediátricos [<18 años de edad])	1 mg	1,3 mg/m ²
Frecuencia de dosificación	3 o 6 dosis por semana	Una vez por semana (Opción 1; ver la Tabla 4)	Una vez al mes mientras recibe rituximab con o sin bortezomib	Una vez a la semana	Una vez al día, excepto mantener la dosis el día de la dosificación de metotrexato	Dos veces por semana (4 dosis durante 2 semanas en los días 1, 4, 8, 11, días de descanso 12-21 = 1 ciclo); ver la Tabla 5
Duración del tratamiento durante cada	24 semanas	Semanalmente durante 4 semanas	Mensual hasta las primeras 74	Semanalmente hasta al menos las 74	Mientras se esté dosificando	Periodo TA 1: sin ciclo

Nombre de la intervención del estudio	Asfotasa alfa	Rituximab ^a	IVIG ^b	Metotrexato ^a	Ácido fólico	Bortezomib ^a
IMP/NIMP	NIMP ^c	IMP ^c	NIMP ^c	IMP ^c	NIMP ^c	IMP ^c
período de 24 semanas		durante cada período de 24 semanas hasta al menos las 74 semanas iniciales	semanas	semanas iniciales	metotrexato	Períodos TA 2-4 (3 ciclos consecutivos): ver la Tabla 5
Reevaluar para añadir/eliminar o continuar después de cada período de 24 semanas	No aplicable	Después de los primeros 18 meses (Semana 74)	No aplicable	Después de los primeros 18 meses (Semana 74)	No aplicable	Sí
Vía de administración	SC	Infusión IV	Infusión IV	SC	Oral	IV bolo o SC
Uso	Tratamiento para HPP	Experimental ^c	No experimental	Experimental ^c	No experimental	Experimental ^c

Nota: La definición de IMP y NIMP se basa en las directrices emitidas por la Comisión Europea.

^a Para las IST, puede permitirse la modificación de la dosis (adición, eliminación y/o cambio en la dosis de metotrexato) en presencia de toxicidad farmacológico.

^b IVIG que se administrará mientras se esté dosificando rituximab.

^c El ácido fólico se obtiene comercialmente, se suministrarán IVIG e IMP.

^d Terapia experimental de inmunoterapia para LoE debido a la respuesta inmunitaria a la asfotasa alfa (ADA con o sin NAb).

Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; UE = Unión Europea; HPP = hipofosfatasa; LoE = pérdida de efectividad; IMP = producto medicinal en investigación; IST = terapia inmunosupresora; IV = intravenosa; IVIG =

inmunoglobulina intravenosa; MTX = metotrexato; n/a = no aplicable; NAb = anticuerpo neutralizante; NIMP = producto medicinal que no está en investigación; SC = subcutánea(mente); TA = Evaluación del tratamiento (Periodo); s. = sin

Terapia concomitante

Cualquier medicamento (incluidos los medicamentos de venta sin receta médica o recetados, vitaminas, suplementos herbales y/o premedicación usada antes de que se administren las IST), vacuna u otras categorías específicas de interés que el participante esté recibiendo en el momento de la inscripción o reciba durante el estudio debe registrarse junto con:

- Motivo de uso
- Fechas de administración que incluyen fechas de inicio y finalización
- Información sobre la dosificación que incluye dosis y frecuencia

Modificación de la dosis

Después de que cada participante complete cada período de tratamiento de 24 semanas, se evaluarán los cambios clínicos, de laboratorio y radiológicos para determinar la necesidad de que cada participante repita la IST actual, continuar la observación solamente o añadir/eliminar un régimen(es) de IST para el próximo período de tratamiento de 24 semanas.

Tener en cuenta que el metotrexato se administrará durante al menos 18 meses a menos que haya algún problema de seguridad. Las modificaciones de dosificación para toxicidad se describen en la presente descripción.

Modificaciones de la dosis de metotrexato

El metotrexato puede estar asociado con múltiples toxicidades de órganos (p. ej., sistemas hematológicos, renales, hepáticos, gastrointestinales, pulmonares, cutáneos y neurológicos). La interrupción de la dosis, la reducción o la interrupción de la dosis pueden estar justificada basado en la naturaleza y gravedad de la toxicidad. El metotrexato debe mantenerse para cualquier toxicidad de Grado 3 o superior y el paciente debe evaluarse de inmediato. Dependiendo de la naturaleza y gravedad de la reacción adversa, puede considerarse reiniciar metotrexato a la misma dosis o una dosis menor.

La eliminación de metotrexato se reduce en pacientes con insuficiencia renal; la dosis de metotrexato debe disminuirse en un 50 % en pacientes con insuficiencia renal moderada (depuración de creatinina > 30 a 59 ml/min) y no debe administrarse metotrexato a pacientes con insuficiencia renal grave (depuración de creatinina < 30 ml/min).

Modificaciones de la dosis de rituximab

Las reducciones de dosis no son una mitigación de riesgo recomendada para las toxicidades asociadas con rituximab que pueden afectar múltiples sistemas de órganos y ser potencialmente mortales o letales (p. ej., reacciones mucocutáneas graves, infecciones graves, toxicidades que afectan los sistemas cardíaco, renal y gastrointestinal). Las infusiones de rituximab deben realizarse en espera de resolución o evaluación diagnóstica adicional para cualquier toxicidad de Grado 3 o superior. El rituximab no debe administrarse a pacientes con una

infección activa y grave (p. ej., tuberculosis, sepsis, infecciones oportunistas o infecciones virales graves incluyendo hepatitis B u otras reactivaciones virales). Si la toxicidad no se resuelve o no puede manejarse adecuadamente con intervenciones de estándar de atención o si la reacción adversa se repite tras la readministración, debe considerarse la interrupción permanente del rituximab.

Modificaciones de la dosis de bortezomib

El tratamiento con bortezomib debe retenerse al inicio de cualquier toxicidad de Grado 3 o superior, excepto la neuropatía (ver la **Tabla 7**). El bortezomib puede reinstituirse a una dosis menor una vez que la toxicidad haya mejorado de acuerdo con los criterios que se proporcionan a continuación. Si la toxicidad no se resuelve o si se repite a la dosis más baja, debe considerarse la interrupción del tratamiento con bortezomib a menos que el beneficio del tratamiento supere claramente el riesgo.

Tabla 7: Modificaciones de la dosis de bortezomib para toxicidades hematológicas y no hematológicas

Toxicidad	Modificación o retraso de la dosis
Toxicidad hematológica	

Toxicidad	Modificación o retraso de la dosis
Neutropenia de grado 3 o superior, o un recuento de plaquetas no superior o superior a $25 \times 10^9/l$	Retener el tratamiento con bortezomib hasta 2 semanas hasta que el participante tenga un ANC igual o superior a $0,75 \times 10^9/l$ y un recuento de plaquetas igual o superior a $25 \times 10^9/l$. Si, después de que se haya retenido bortezomib, la toxicidad no se resuelve, interrumpir el bortezomib. Si la toxicidad se resuelve de tal manera que el participante tiene un ANC igual o superior a $0,75 \times 10^9/l$ y un recuento de plaquetas igual o superior a $25 \times 10^9/l$, la dosis de bortezomib debe reducirse en 25 % (de $1,3 \text{ mg/m}^2$ a 1 mg/m^2, o de 1 mg/m^2 a $0,7 \text{ mg/m}^2$)
Evidencia de posible toxicidad cardíaca	Retener bortezomib a la espera de una evaluación adicional si la ecocardiografía demuestra una disminución del LVEF > 10 % desde el valor de referencia y por debajo del rango normal (p. ej., LVEF < 53 %) O una disminución del intervalo GLS > 15 % en comparación con el valor de referencia O hallazgo clínicamente significativo en ECG (p. ej., bloqueo de ramificación en haz, bloqueo AV, arritmia cardíaca) Verificar la troponina cardíaca y el NT-Pro BNP dentro de 1 semana, repetir el ECG y la ecocardiografía dentro de 2 a 3 semanas y remitir al participante a un cardiólogo para su evaluación El bortezomib no debe reiniciarse si se confirma la disfunción cardíaca
Otras toxicidades no hematológicas de grado 3 o superior	Retener el tratamiento con bortezomib hasta que los síntomas de la toxicidad se hayan resuelto a Grado 2 o mejor. Después, el bortezomib puede reiniciarse con una reducción del nivel de dosis (de $1,3 \text{ mg/m}^2$ a 1 mg/m^2 , o de 1 mg/m^2 a $0,7 \text{ mg/m}^2$). Para dolor neuropático relacionado con bortezomib y/o neuropatía periférica, mantener o modificar bortezomib

Fuente: Bortezomib SmPC

Abreviaturas: ANC = recuento absoluto de neutrófilos; Bloqueo AV = bloqueo

auriculoventricular; ECG = electrocardiograma; GLS = deformación longitudinal

global; LVEF = fracción de eyección ventricular izquierda; NT-pro BNP =

propéptido natriurético cerebral N-terminal; SmPC = síntesis de las características del producto

Modificación de la dosis y criterios de continuación de la neuropatía periférica para pacientes tratados con bortezomib

Los participantes con neuropatía grave preexistente deben tratarse con bortezomib solo después de una cuidadosa evaluación riesgo-beneficio,

- Grado 1 (asintomático; pérdida de reflejos tendinosos profundos o parestesia) sin dolor o pérdida de función: Sin acción
- Grado 1 con dolor o Grado 2: Reducir la dosis a 1 mg/m^2
- Grado 2 con dolor o Grado 3: Retener el fármaco hasta que se resuelvan los síntomas de toxicidad; puede reiniciarse a $0,7 \text{ mg/m}^2$ cada semana
- Grado 4: Interrumpir bortezomib

Modificación de la dosis de bortezomib en la insuficiencia hepática

No ajustar la dosis inicial para los participantes con insuficiencia hepática leve. Iniciar los participantes con insuficiencia hepática moderada o grave a una dosis reducida de $0,7 \text{ mg/m}^2$ por inyección durante el primer ciclo y considerar la escalada posterior de la dosis a 1 mg/m^2 o una reducción adicional de la dosis a $0,5 \text{ mg/m}^2$ basado en la tolerancia del paciente (ver la **Tabla 8**).

Tabla 8: Modificación de la dosis inicial recomendada para bortezomib en pacientes con insuficiencia hepática

Grado de insuficiencia hepática ^a	Nivel de bilirrubina	Niveles de SGOT (AST)	Modificación de la dosis inicial
Leve	$\leq 1,0 \times \text{ULN}$	$> \text{ULN}$	Nada
	$> 1,0 \times 1,5 \times \text{ULN}$	Cualquiera	Nada
Moderado	$> 1,5 \times -3 \times \text{ULN}$	Cualquiera	Reducir bortezomib a $0,7 \text{ mg/m}^2$ en el primer ciclo de tratamiento. Considerar la escalada de la dosis a $1,0 \text{ mg/m}^2$ o una reducción adicional de la dosis a $0,5 \text{ mg/m}^2$ en ciclos posteriores basados en tolerabilidad del paciente.
Grave	$> 3 \times \text{ULN}$	Cualquiera	

Fuente: Bortezomib SmPC

^a Basado en la clasificación del Grupo de Trabajo sobre Disfunción de Órganos del NCI para categorizar la insuficiencia hepática (leve, moderada, grave)

Abreviaturas: AST = aspartato aminotransferasa; NCI = National Cancer Institute; SGOT = transaminasa glutámico-oxalacética sérica; SmPC = síntesis de las características del producto ULN = límite superior de la normalidad

Manejo de las reacciones a la infusión con terapia de IST

La premedicación consistente en un antipirético y un antihistamínico, p. ej., paracetamol y difenhidramina, siempre debe administrarse antes de cada administración de rituximab. La premedicación previa a la infusión de rituximab debe comenzar con la administración inicial.

Premedicar previo a la infusión o inyección de otras IST de acuerdo a protocolos institucionales.

Si se observa una reacción a la infusión, se proporcionan las siguientes pautas para el tratamiento del participante y las modificaciones o retrasos de la dosis y pueden modificarse basado en las pautas del sitio de investigación.

Reacción a la infusión de grado 1:

Una reacción a la infusión de Grado 1 se caracteriza por síntomas de reacción leves donde no se indica la intervención ni la interrupción de la infusión de intervención del estudio. Para reacciones a la infusión de grado 1:

- Permanecer junto a la cama y monitorear al participante hasta que se recupere de los síntomas (o regresar al valor de referencia).
- Premedicar al participante al menos 30 minutos antes de las infusiones de fármacos del estudio posterior. Medicamentos recomendados:
 - 50 mg de difenhidramina (o equivalente) y
 - acetaminofeno/paracetamol 325 mg a 1000 mg

Reacción a la infusión de grado 2:

Una reacción a la infusión de grado 2 se caracteriza por síntomas de reacción moderados que requieren terapia o interrupción de la infusión del fármaco del estudio pero responde rápidamente al tratamiento (p. ej., antihistamínicos, antiinflamatorios no esteroideos (AINE), narcóticos, corticosteroides, broncodilatadores, líquidos intravenosos). Los medicamentos profilácticos están indicados por ≤ 24 horas. Para reacciones a la infusión de grado 2:

- Detener la infusión del fármaco del estudio y comenzar una infusión intravenosa de 0,9 % de cloruro de sodio
- Administrar 50 mg de difenhidramina IV (o equivalente) y/o 325 mg a 1000 mg de acetaminofeno/paracetamol
- Permanecer junto a la cama y monitorear al paciente hasta que se recupere de los síntomas (o regresar al valor de referencia)
- Administrar corticosteroides y/o terapia broncodilatador según corresponda.

Cuando los síntomas se resuelvan, reiniciar la infusión de 50 % del fármaco del estudio de la tasa de infusión original. Si el paciente no presenta más complicaciones después de 30 minutos, la tasa de perfusión puede aumentarse a la tasa de perfusión original.

Premedicar al participante al menos 30 minutos antes de las infusiones de fármacos del estudio posterior. Medicamentos recomendados:

- 50 mg de difenhidramina (o equivalente) y
- acetaminofeno/paracetamol 325 mg a 1000 mg
- también pueden darse corticosteroides (hasta 25 mg de hidrocortisona o equivalente).

Reacción de infusión de grado 3 o grado 4:

Una reacción a la infusión de grado 3 o 4 es una reacción grave. Una reacción de Grado 3 se caracteriza por ser prolongada (es decir, que no responde rápidamente al tratamiento y/o breve interrupción de la infusión del fármaco del estudio) con recurrencia de los síntomas después de la mejoría inicial. La

hospitalización puede indicarse para otras secuelas clínicas (p. ej., insuficiencia renal, infiltrados pulmonares). Una reacción de Grado 4 es potencialmente mortal que requiere soporte vasopresor o ventilatorio. Para reacciones a la infusión de grado 3 o grado 4:

- Interrumpir inmediatamente la infusión del fármaco del estudio y comenzar una infusión intravenosa de 0,9 % de cloruro de sodio
- Administrar broncodilatadores, epinefrina por vía subcutánea o IV y/o difenhidramina con esteroides, y otros cuidados de apoyo según sea necesario
- Permanecer junto a la cama y monitorear al paciente hasta que los síntomas del paciente se hayan resuelto (o hayan regresado al valor de referencia) y los síntomas no vuelvan a aparecer
- Seguir las pautas institucionales para el tratamiento de la anafilaxia.

Intervención después del final del estudio

Al concluir la última visita de estudio, los participantes regresarán a la atención de su médico tratante para el manejo de su enfermedad y podrán continuar recibiendo suministros comerciales de IST.

SUSPENSIÓN E INTERRUPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN EN EL ESTUDIO E INTERRUPCIÓN/RETIRO DEL PARTICIPANTE

Suspensión e interrupción de la intervención en el estudio

- Los participantes se monitorearán cuidadosamente para detectar cualquier signo de infección u otras toxicidades potenciales relacionadas con IST durante el estudio. En caso de toxicidad relacionada con el fármaco, puede ser necesario que un participante interrumpa permanentemente la intervención del estudio. Si se interrumpe la intervención del estudio, el participante debe permanecer en el estudio para ser evaluado por seguridad y otras evaluaciones como se especifica en el SoA (**Tabla 3**).
- Debe interrumpirse permanentemente a los participantes de la intervención del estudio si ocurre alguna de las siguientes situaciones:
 - Prolongación de QT de **grado 3** o superior confirmada e inexplicable (QTc >500 ms o QT no corregido >600 ms o cambio desde el valor de referencia de QTc > 60 ms) basada en el promedio de lecturas de electrocardiograma triplicado (ECG)
 - Reacción a la infusión de **grado 4** u otra reacción de hipersensibilidad atribuible grave que incluye anafilaxia, reacciones mucocutáneas atribuibles al IST de **grado 4** o cualquier caso confirmado Síndrome de Steven Johnson, Necrólisis epidérmica tóxica
 - Embarazo o embarazo planificado
 - Neoplasia nueva o recidivante excepto cánceres superficiales curativos con extirpación quirúrgica
- La IST debe celebrarse/retrasarse si se cumple alguno de los siguientes criterios o para cualquier otro hallazgo clínicamente significativo que permita una evaluación adicional del participante:

- Cualquier SAE de **Grado 4** potencialmente relacionado con cualquiera de las intervenciones o procedimientos del estudio: La decisión de reimpugnar al participante con la IST sospechosa debe analizarse y acordarse de antemano.
- **Renal: Aumento de grado 2** o superior de creatinina sérica ($> 2 \times \text{ULN}$ o $> 2 \times \text{Valor de referencia si el valor de referencia} > \text{ULN}$), oliguria, o disminución de depuración de creatinina sérica $> 50 \%$.
- **Hepático: Aumento de grado 2** o superior en ALT, AST ($> 3 \times \text{ULN}$ o $> 3 \times \text{Valor de referencia si el valor de referencia} > \text{ULN}$) o Grado 2 aumentó la bilirrubina total ($> 2 \times \text{ULN}$ o $> 2 \times \text{Valor de referencia si el valor de referencia} > \text{ULN}$).
- El participante exhibe empeoramiento significativo de los síntomas pulmonares.
- **Infecciones graves:** Debe realizarse o retrasar la IST, y debe consultarse a un especialista en enfermedades infecciosas.
- Cualquier infección de **Grado 3** o cualquier infección de **Grado 2** que no responda a un recorrido de terapia estándar o con neutropenia significativa ($< 1000/\text{mm}^3$), o presuntos síndromes de reactivación viral (p. ej., hepatitis B, citomegalovirus, virus de Epstein Barr, herpes zóster).
- Es posible que no se administre IST si se confirma la reactivación viral.

- **Hematológico: Grado 3** o superior, disminución de neutrófilos ($< 1000/\text{mm}^3$), disminución de plaquetas ($< 50\,000/\text{mm}^3$) o disminución de hemoglobina ($< 8\text{ g/dl}$).
- **Disminución de neutrófilos de grado 2** ($< 1500/\text{mm}^3$), plaquetas ($< 75\,000/\text{mm}^3$), y hemoglobina ($< 10\text{ g/dl}$) o una disminución de Grado 2 en uno cualquiera de los parámetros hematológicos acompañados de síntomas clínicamente significativos (p. ej., disminución de los recuentos de neutrófilos con fiebre, menorragia).
- **Gastrointestinal:** Síntomas sugestivos de obstrucción intestinal u íleo (p. ej., estreñimiento severo, obstipación).
- **Cardiopulmonar:** Nuevo inicio o empeoramiento de síntomas que sugieren toxicidad cardíaca o pulmonar (p. ej., **grado 2 o superior** (p. ej., disnea, edema periférico, palpitaciones, tos, sibilancias, hipero o hipotensión, etc.).
- Si se confirma toxicidad pulmonar o cardíaca relacionada con IST (p. ej., neumonitis, disfunción del LV cardíaco relacionada con fármacos o arritmia potencialmente mortal), la IST sospechosa debe interrumpirse permanentemente.
- **Neurológico:** Pacientes con síntomas sugestivos de leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML, por sus siglas en inglés) o síndrome de encefalopatía reversible posterior/síndrome de leucoencefalopatía posterior reversible (PRES/RPLS)

Los datos recopilados en el momento de la interrupción de la intervención del estudio y el seguimiento y para cualquier otra evaluación que deban completarse se proporcionan en el SoA.

Evaluaciones de eficacia

Las evaluaciones de eficacia se realizarán como se describe en la presente.

Puntuación de gravedad del raquitismo

- Este es un método cuantitativo para evaluar la gravedad del raquitismo en las muñecas y rodillas basado en el grado de deshilachamiento metafisario, concavidad, y la proporción de la placa de crecimiento afectada.
- Una escala de 10 puntos, donde 10 representa el grado más extremo de gravedad del raquitismo y 0 representa la ausencia de cambios radiográficos del raquitismo.
- La respuesta radiográfica posterior al tratamiento del raquitismo nutricional puede ser evaluada por la RSS.
- Los valores RSS se correlacionan con los valores de fosfatasa alcalina sérica (ALP), una medida bioquímica de la actividad raquítica.
- Una puntuación de 0 representa la resolución completa del raquitismo.

Escalas del desarrollo motor de Peabody - segunda edición (PDMS-2)

PDMS-2 es una revisión de las escalas del desarrollo motor de Peabody originales de 1983. PDMS-2 se compone de 6 subpruebas (reflejos, estacionario,

locomoción, manipulación de objetos, agarre, integración visual-motora) que miden las capacidades motoras interrelacionadas de los niños desde el nacimiento hasta la edad de 5 años de edad.

- Reflejos (subprueba de 8 ítems que mide la capacidad del niño para reaccionar ante eventos ambientales; solo se mide desde el nacimiento hasta los 11 meses, ya que los reflejos típicamente se integran a los 12 meses de edad)
- Estacionario (subprueba de 30 ítems que mide la capacidad del niño para controlar el cuerpo dentro del centro de gravedad y mantener el equilibrio)
- Locomoción (subprueba de 89 ítems que mide la capacidad del niño para moverse de un lugar a otro gateando, caminando, corriendo, saltando y saltando hacia adelante)
- Manipulación de objetos (subprueba de 24 ítems que mide la capacidad del niño para manipular pelotas atrapando, lanzando y pateando pelotas y solo se mide en niños de 12 meses de edad en adelante)
- Agarre (subprueba de 26 ítems que mide la capacidad del niño para usar sus manos comenzando por sostener un objeto y progresando a través del uso controlado de los dedos de ambas manos)
- Integración visual-motora (subprueba de 72 ítems q mide la capacidad de un niño para usar sus habilidades perceptivas visuales para realizar tareas complejas de coordinación ojo-mano, tales como alcanzar y agarrar un objeto, construir con bloques y copiar diseños).

Prueba Bruininks-Oseretsky de competencia motora - segunda edición (BOT-2), formulario corto

- Una medida de la función motora fina o gruesa a través de una serie de actividades orientadas a objetivos administradas a los participantes de acuerdo con procedimientos uniformes.
- El BOT-2 consta de 8 subpruebas diferentes organizadas en 4 compuestos de área motora: (i) control manual fino, (ii) coordinación manual, (iii) coordinación corporal y (iv) fuerza y agilidad, con las 8 subpruebas proporcionando una contribución equilibrada a la puntuación compuesta motora total.
- La puntuación compuesta total se correlaciona con otras medidas del rendimiento motor, incluido el PDMS-2.

Uso de ayudas a la movilidad

La HPP se asocia con una alta fractura y carga quirúrgica ortopédica/dental, dolor, movilidad alterada, necesidad de dispositivos de asistencia para caminar, disminución del estado funcional y deficiencias en las actividades de la vida diaria (ADL) en niños y adultos. Este estudio evaluará las razones para el uso de dispositivos de asistencia incluido dolor, debilidad, fatiga, equilibrio, miedo a caerse, o miedo a la fractura. También se recopilará la información de los tipos de dispositivos usados (p. ej., muletas, dependiente de silla de ruedas [tiempo completo], dependiente de silla de ruedas [tiempo parcial], andador, bastón, aparatos ortopédicos para las piernas, rampas, modificación de baño/ducha, barra

de agarre/barandillas u otros dispositivos de asistencia). El uso de dispositivos de asistencia será monitoreado de manera continua durante todo el estudio.

Rayos X

Debe obtenerse un rayos X del tórax antes del inicio de la dosificación de metotrexato de manera que pueda ser usada posteriormente para la comparación en caso de que surjan complicaciones respiratorias durante el estudio.

Neuropatía periférica

Los pacientes que reciben bortezomib pueden ser monitoreados por síntomas de nuevo inicio o empeoramiento de la neuropatía, tal como sensación de ardor, hiperestesia, hipoestesia, parestesia, malestar, dolor neuropático o debilidad. Además, los participantes que reciben bortezomib pueden evaluarse para neuropatía periférica utilizando la herramienta de evaluación de la Escala de neuropatía total modificada para pediatría (ped-mTNS) antes y al final de cada ciclo de bortezomib.

Ecocardiografía y biomarcadores cardíacos

Durante el tratamiento con bortezomib se ha producido un desarrollo agudo o exacerbación de insuficiencia cardíaca congestiva y nueva aparición de disminución de la fracción de eyección ventricular izquierda, incluidos informes en pacientes sin factores de riesgo de disminución de la fracción de eyección ventricular izquierda. Los pacientes con factores de riesgo para, o enfermedad cardíaca existente, deben ser monitoreados frecuentemente.

Las reacciones adversas cardíacas, incluidas fibrilación ventricular, infarto de miocardio y shock cardiogénico pueden ocurrir en pacientes que reciben rituximab. Realizar monitoreo cardíaco durante y después de todas las infusiones de rituximab para pacientes que desarrollen arritmias clínicamente significativas, o que tengan antecedentes de arritmia o angina de pecho.

Toxicidad cardíaca

Los participantes que reciben bortezomib serán monitoreados por toxicidad cardíaca relacionada con fármacos en los puntos de tiempo indicados en la **Tabla 3**, usando ECG y ecocardiografía transtorácica 2D para la medición de la fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF basado en la estimación del volumen diastólico del extremo ventricular izquierdo [LVED, por sus siglas en inglés] y sistólico del extremo ventricular izquierdo [LVES, por sus siglas en inglés], mediante el uso de la técnica de regla biplana modificada de Simpson) y GLS. Además, los biomarcadores de seguridad cardíaca, troponina cardíaca (T o I, preferentemente alta sensibilidad) y propéptido natriurético cerebral (NT-pro BNP), se evaluarán antes del bortezomib y se repetirán si está clínicamente indicado (ver la **Tabla 7**).

Farmacocinética

- Se recolectarán las muestras de sangre para la medición de las concentraciones séricas de asfotasa alfa. Las muestras pueden ser recolectadas en puntos temporales adicionales durante el estudio si se justifica.

- Se usarán muestras de suero para evaluar el perfil PK de la actividad enzimática de la asfotasa alfa, que también puede usarse para evaluar aspectos de seguridad o eficacia relacionados con preocupaciones que surgen durante o después del estudio.

Evaluaciones de inmunogenicidad

- Se recolectarán muestras de suero para análisis ADA y NAb en puntos temporales.
- Las muestras recolectadas para el análisis ADA y NAb se recolectarán antes de la dosificación.

Variables de anticuerpos antifármacos

Las variables de ADA incluyen la categoría de respuesta ADA, la incidencia y el título a lo largo de la duración del estudio de la siguiente manera. Las muestras que son positivas en el ensayo ADA se analizarán adicionalmente para determinar la presencia de actividad neutralizante en el ensayo NAb. Las definiciones de categorías de respuesta ADA y los umbrales de título son como se definen en la presente. Puede realizarse una evaluación del impacto de las ADA y/o NAb sobre PK/PD/biomarcador de asfotasa alfa, junto con el impacto de las IST en el perfil de inmunogenicidad (p. ej., ADA y/o NAb) y su impacto correspondiente sobre la PK/PD/biomarcadores de asfotasa alfa y la eficacia clínica.

Categorías de respuesta ADA

- ADA negativo
- ADA positiva
- NAb negativo
- NAb positivo

Los participantes que sean positivos para ADA se categorizarán de la siguiente manera:

- Respuestas de ADA atenuadas por tratamiento con IST
- Respuestas de ADA impulsadas por el tratamiento con IST

Basado en la duración de estas respuestas, las respuestas ADA potenciadas por el tratamiento con IST y atenuadas por tratamiento con IST se categorizarán adicionalmente de la siguiente manera:

- Respuestas persistentes emergentes del tratamiento
- Respuestas indeterminantes emergentes del tratamiento
- Respuestas transitorias emergentes del tratamiento

Farmacodinamia

- Se recolectarán muestras de sangre para medir las concentraciones plasmáticas de PPI y PLP (con levamisol) y ALP en puntos temporales.
- Se usarán muestras de plasma para evaluar la PD de asfotasa alfa que también puede usarse para evaluar aspectos de seguridad o eficacia relacionados con las preocupaciones que surgen durante o después del estudio.
- Concentraciones plasmáticas (con levamisola) PLP y PPI (biomarcadores PD de HPP). El observado y cambio desde el valor de

referencia (CFB, por sus siglas en inglés) en las concentraciones plasmáticas de PLP y PPi se resumirá en visitas preespecificadas. Nivel de participante- Los datos serán listados y trazados a lo largo del tiempo. Se realizarán los mismos análisis sobre otros biomarcadores bioquímicos.

MONITOREO DEL CAMBIO EN EL RAQUITISMO Y LA INMUNOGENICIDAD

Monitoreo del raquitismo:

Después de cada período de tratamiento de 24 semanas, se evaluará la evidencia radiográfica de raquitismo usando la RSS. Una resolución completa de raquitismo se define como una RSS de 0. Un empeoramiento del raquitismo se define como un aumento en RSS por una puntuación de 1 o más puntos desde el valor de referencia. Los pacientes se consideran estables si no hay cambio o una disminución en la RSS desde el inicio.

Monitoreo de inmunogenicidad:

El objetivo de este estudio es restaurar el efecto farmacológico de la asfotasa alfa en participantes diagnosticados con HPP que demuestren LoE inmuno-mediada (asociada a ADA y NAb). Por lo tanto, las evaluaciones de ADA se realizan en cada participante en puntos temporales predefinidos a lo largo de la duración del estudio y se analizan usando ensayos validados. Las variables de ADA incluyen las categorías de respuesta ADA, la incidencia y el título a lo largo de la duración del estudio. Las muestras ADA positivas se caracterizarán además

por títulos ADA y la presencia de actividad neutralizante a STRENSIQ®. Las respuestas positivas de ADA se categorizarán como atenuadas por tratamiento con IST o potenciadas por tratamiento con IST y basado en el nivel (umbral de título) y la duración (persistente/transitorio/indeterminante) de la respuesta.

Se considerará que los participantes tienen una atenuación significativa de la respuesta ADA debido a IST cuando el título de ADA y/o NAb disminuye en al menos 2 etapas de título o se vuelve negativo en comparación con el valor de referencia.

Criterios para la modificación de IST (continuación o detención)

En el estudio RESTORE, un enfoque individualizado basado en el riesgo que evalúa el riesgo de una enfermedad HPP no tratada o terapia parcialmente efectiva versus el riesgo de uso de un régimen IST que resulte en una mejora de la efectividad sirve de base para idear criterios para el uso de IST.

En este estudio, los participantes recibirán una combinación de IST (metotrexato y rituximab, y/o bortezomib) hasta por 104 semanas. Después del período inicial de 24 semanas, el horario se repetirá de la siguiente manera para un total de 104 Semanas: Semanas 25-26 (Junta de tratamiento y monitoreo (Período de revisión de datos clínicos y decisión de tratamiento; Semanas 27-50 (Período de evaluación del tratamiento (TA) 2); Semanas 51-52 (Período); Semanas 53-76 (Período TA 3); Semanas 77-78 (Período 3); Semanas 79-102 (Período TA 4), Semanas 103-104 (Período). Los participantes continuarán con su régimen posológico subcutáneo de asfotasa alfa como lo era en el momento de la inscripción. Todos los participantes recibirán ácido fólico concomitante para reducir

los posibles efectos secundarios del tratamiento con metotrexato e inmunoglobulina intravenosa (IVIG) para proporcionar a estos participantes inmunidad pasiva y minimizar el riesgo de infección.

Según el diseño del estudio, se espera que la mayoría de los participantes reclutados en este estudio tengan “respuestas de ADA arraigadas”. Por lo tanto, la regulación a la baja de las células T (metotrexato) y las células B (rituximab) puede no ser suficiente en estos participantes para demostrar un impacto positivo en la efectividad. Una IST adicional como bortezomib puede ayudar a regular a la baja el plasma y las células B de memoria y disminuir los niveles de ADA. Durante el tratamiento con rituximab y metotrexato, si hay empeoramiento del raquitismo por un aumento de 1 o más puntos desde el inicio, en presencia de niveles crecientes de ADA/NAb, entonces se considerará bortezomib y se añadirá al régimen además de rituximab y metotrexato (**Figura 4**).

Definición de la “Respuesta completa de la IST”

Independientemente del régimen usado, se han determinado los siguientes criterios para definir la “respuesta completa de IST” en la Semana 100:

- El nivel de ADA o NAb disminuye desde el valor de referencia en al menos 2 etapas de título o se vuelve negativo*,

Y

- evidencia radiográfica de mejora en RSS por una puntuación de al menos 1 o más puntos desde el valor de referencia.

*ADA será el resultado primario para los pacientes que son positivos para ADA y negativos para NAb. NAb será el resultado primario para los pacientes que son positivos para ADA y positivos para NAb.

Criterios para la modificación de IST (continuación o detención)

Se usará un árbol de decisión (**Figura 4**) para realizar las evaluaciones generales y para decidir si continuar, modificar o detener el régimen de IST.

Como se administrarán metotrexato y rituximab durante al menos 18 meses a menos que se observen preocupaciones de seguridad, no habrá criterios específicos para el tratamiento con metotrexato y rituximab. El metotrexato y el rituximab deben retenerse si se informa alguna toxicidad de Grado 3 o superior en un participante.

Si a los 18 meses, el participante ha mostrado una respuesta completa y está recibiendo metotrexato y rituximab, entonces se suspenderá el rituximab y se continuará con metotrexato hasta el final del estudio. Si a los 18 meses, el participante ha mostrado una respuesta completa y está recibiendo metotrexato, rituximab y bortezomib, entonces se suspenderá el bortezomib y se continuará con metotrexato y rituximab hasta el final del estudio.

Criterios para el tratamiento con bortezomib:

Los participantes reclutados en este estudio y que muestren pérdida de efectividad serán todos positivos para ADA en el valor de referencia con una respuesta ADA “arraigada”. El rituximab agota las células B, pero las células plasmáticas (productoras de ADA) no se verán afectadas. Por lo tanto, los

participantes en tratamiento con metotrexato y rituximab con respuesta ADA arraigada pueden responder de manera inadecuada a la terapia de reemplazo enzimático (ERT) asfotasa alfa. Para agotar el plasma productor de ADA y células B de memoria, se considerará bortezomib en caso de empeoramiento de la enfermedad y aumento concomitante de ADA y NAb (Banugaria et al, PLOS One, 8: e67052, 2013).

En el estudio RESTORE, la consideración para la adición de bortezomib ocurrirá solo después de la finalización del primer ciclo de 24 semanas sobre metotrexato + rituximab. Se continuará con metotrexato + rituximab junto con el tratamiento con bortezomib.

El siguiente árbol de decisión y criterios (**Figura 4**) puede usarse para decidir la adición de bortezomib, la continuación de bortezomib, o la detención de bortezomib, en cada intervalo de 24 semanas a lo largo de la duración de este estudio.

- El tratamiento con bortezomib se interrumpirá en caso de sospecha de toxicidad asociada con bortezomib. El tratamiento con bortezomib debe suspenderse al inicio de cualquier toxicidad de grado 3 o superior, excepto la neuropatía” (ref: sección 6.6.3 del protocolo HPP-407) o respuesta completa IST.

Se añadirá o continuará bortezomib, además de rituximab y metotrexato, en presencia de un aumento de ADA o NAb desde el valor de referencia en al menos 2 etapas de título, y un aumento de la RSS radiográfica por una puntuación de 1 o más puntos desde el valor de referencia.

Respuesta completa de IST en la semana 100 - componentes clave de criterio de valoración

La definición de respuesta completa de IST en la Semana 100 es la siguiente:

- El nivel de ADA o NAb disminuye desde el valor de referencia en al menos 2 etapas de título o se vuelve negativo*, y
- evidencia radiográfica de mejora en RSS por una puntuación de al menos 1 o más puntos desde el valor de referencia

*ADA será el resultado primario para los pacientes que son positivos para ADA y negativos para NAb. NAb será el resultado primario para los pacientes que son positivos para ADA y positivos para NAb.

Análisis de inmunogenicidad

Todos los análisis de ADA se realizarán en el conjunto de análisis de seguridad usando variables de ADA.

La incidencia de las categorías de respuesta ADA se enumerará y resumirá como ocurrencia absoluta (n) y porcentaje de todos los participantes (%). Se enumerarán los niveles de título de ADA y NAb, y se resumirán los niveles máximos de título de ADA y NAb para los participantes positivos para ADA. Los participantes positivos para NAb y negativos para NAb se resumirán en categorías positivas para ADA como ocurrencia absoluta (n) y porcentaje (%) de todos los participantes.

Las asociaciones entre las categorías de respuesta ADA y la exposición sistémica a las IST pueden explorarse para todos los participantes tratados, para

analizar el impacto potencial de las IST en la incidencia de inmunogenicidad, título y su impacto potencial en los perfiles de PK individuales.

Pueden explorarse asociaciones entre las categorías de respuesta ADA y TEAE y TESAE, incluidos TESAE tales como hipersensibilidad sistémica, anafilaxia, reacciones en el sitio de infusión/inyección (ISR) que duran más de 24 horas, y otros SAE relacionados con el sistema inmunitario.

Las asociaciones entre las categorías de respuesta ADA y los marcadores de PD pueden explorarse para todos los participantes para evaluar el impacto potencial de las IST en la incidencia de inmunogenicidad, el título y su impacto potencial en los perfiles y la eficacia de los marcadores de PD individuales.

Tabla 9: AE: Definiciones y procedimientos para el registro, evaluación, seguimiento y presentación de informes

Definición de AE

Definición de AE
- Un AE es cualquier acontecimiento médico desfavorable en un paciente o participante de una investigación clínica al que se le administró un producto farmacéutico y que no necesariamente debe tener una relación causal con este tratamiento (ICH E2A). Nota: Por lo tanto, un AE puede ser cualquier signo desfavorable y no intencionado (incluyendo un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma, o enfermedad (nueva o exacerbada) temporalmente asociada con el uso de la intervención del estudio, se considere o no relacionada con la intervención del estudio.

Eventos que cumplen con la definición AE
Cualquier resultado anormal de las pruebas de laboratorio (hematología, química clínica o análisis de orina) u otras evaluaciones de seguridad (p. ej., ECG, exploraciones radiológicas, mediciones de signos vitales), incluidas aquellas que empeoran respecto del valor de referencia, consideradas clínicamente significativas (es decir, no relacionadas con la progresión de la

Eventos que cumplen con la definición AE

enfermedad subyacente).

- Exacerbación de una condición preexistente crónica o intermitente incluido un aumento en la frecuencia y/o intensidad de la condición.
- Nuevos padecimientos detectados o diagnosticados después de la administración de la intervención del estudio a pesar de que pudo haber estado presente antes del inicio del estudio.
- Signos, síntomas, o las secuelas clínicas de una sospecha de interacción fármaco-fármaco.
- Signos, síntomas, o las secuelas clínicas de una presunta sobredosis de una intervención del estudio o de un medicamento concomitante. La sobredosis per se no se informará como AE/SAE a menos que sea una sobredosis intencional tomada con posible intención suicida/autolesiva. Tales sobredosis deberán informarse independientemente de las secuelas.
- Los signos, síntomas y/o secuelas clínicas resultantes de la falta de eficacia se informarán como AE o SAE si cumplen con la definición de AE o SAE.

Eventos que no cumplen con la definición de AE

- Procedimiento médico o quirúrgico (p. ej., endoscopia, apendicectomía): La condición que lleva al procedimiento es el AE. Situaciones en las que no se presentó un acontecimiento médico desfavorable (p. ej., hospitalización por cirugía electiva si se planeó antes de la firma del ICF, admisiones por razones sociales o por conveniencia).
- Las fluctuaciones diarias anticipadas de la(s) enfermedad(es) o condición(es) preexistente(s) presentes o detectadas al inicio del estudio que no empeoran.
- Un error de medicación (incluido el uso indebido intencional, abuso y sobredosis del producto) o un uso distinto a lo definido en el protocolo no se considera un AE a menos que se presente un acontecimiento médico desfavorable como resultado de un error de medicación.
- Los casos de embarazo que ocurren durante la exposición materna o paterna a la intervención del estudio se informarán dentro de las 24 horas posteriores al momento en que se conoció la información. Se recopilarán datos sobre el resultado fetal y la lactancia materna para la presentación de informes normativos y la evaluación de seguridad.
- Cualquier hallazgo anómalo clínicamente significativo de laboratorio u otras evaluaciones de seguridad anormales que estén asociadas con la enfermedad subyacente, a menos que se juzgue que es más grave de lo esperado para la condición del participante.
- La enfermedad/trastorno que se está estudiando o la progresión esperada, signos o síntomas de la enfermedad/trastorno que se está estudiando, a menos que sea más grave de lo esperado para la condición del participante.
- Situaciones en las que no se presentó un acontecimiento médico desfavorable

Eventos que no cumplen con la definición de AE
(ingreso por motivos sociales y/o de conveniencia). ● “Falta de eficacia” o “fracaso de la acción farmacológica esperada” per se no se informarán como un AE o un SAE. Tales instancias se registrarán en las evaluaciones de eficacia. No obstante, los signos, síntomas y/o secuelas clínicas resultantes de la falta de eficacia se informarán como AE o SAE si cumplen con la definición de AE o SAE.

Tabla 10: Definición de SAE

Si un evento no es un AE por definición anterior, entonces no puede ser un SAE incluso si se cumplen condiciones graves (p. ej., hospitalización por signos/síntomas de la enfermedad en estudio, muerte por progresión de la enfermedad).

Un SAE se define como cualquier ocurrencia médica desfavorable que, a cualquier dosis:
1. Resultados en la muerte
2. Es potencialmente mortal El término “potencialmente mortal” en la definición de “grave” se refiere a un evento en el que el participante estaba en riesgo de morir en el momento del evento. No se refiere a un evento, que hipotéticamente podría haber causado la muerte si hubiera sido más grave.
3. Requiere hospitalización del paciente o prolongación de una hospitalización existente Generalmente, la hospitalización significa que el participante ha sido admitido (generalmente con al menos una estadía de una noche) en el hospital o sala de emergencias para observación y/o tratamiento que no habría sido apropiado en el consultorio del médico o en el entorno ambulatorio. Las complicaciones que se presentan durante la hospitalización son los AE. Si una complicación prolonga la hospitalización o cumple con cualquier otro criterio grave, el evento es grave. Ante la duda de si la hospitalización ocurrió o fue necesaria, el AE debe considerarse grave. La hospitalización por tratamiento electivo de una condición preexistente que no empeoró desde el valor de referencia no se considera un AE.
4. Resultados en discapacidad/incapacidad persistente El término discapacidad significa una interrupción sustancial de la capacidad de una persona para realizar funciones normales de la vida.

Un SAE se define como cualquier ocurrencia médica desfavorable que, a cualquier dosis:

Esta definición no pretende incluir experiencias de importancia médica relativamente menor, tales como dolor de cabeza sin complicaciones, náuseas, vómitos, diarrea, influenza y traumatismos accidentales (p. ej., esguince de tobillo) que pueden interferir o prevenir las funciones de la vida cotidiana, pero no constituyen una interrupción sustancial.

5. Es una anomalía congénita/defecto congénito

6. Otras situaciones:

- Debe aplicarse el juicio médico o científico para decidir si el reporte de SAE es apropiado en otras situaciones tales como eventos médicos importantes que podrían no ser de inmediato potencialmente fatales o conducir a una muerte u hospitalización, pero podrían poner en riesgo al participante o requerir alguna intervención médica o quirúrgica para evitar uno de los otros resultados enumerados en la definición anterior. Usualmente, estos eventos deben considerarse graves.
- Ejemplos de tales eventos incluyen cánceres invasivos o malignos, tratamiento intensivo en una sala de emergencias o en el hogar para broncoespasmo alérgico, discrasias sanguíneas o convulsiones que no resultan en hospitalización, o desarrollo de farmacodependencia o abuso de drogas.

Una SUSAR se define como:

- Un evento que se evalúa como grave que no figura en la RSI correspondiente y se ha evaluado que existe al menos una posibilidad razonable de que el evento esté relacionado con el IMP.
-

Tabla 11: Abreviaturas y términos especializados

Abreviatura o término	Explicación
ADA	anticuerpo antifármaco
AE	evento adverso
ALP	fosfatasa alcalina
ALPL	gen que codifica fosfatasa alcalina no específica del tejido
ALT	alanina aminotransferasa

Abreviatura o término	Explicación
AST	aspartato aminotransferasa
BOT-2	Prueba Bruininks-Oseretsky de competencia motora, segunda edición
CD19	grupo de diferenciación 19 (antígeno de linfocitos B)
CD20	antígeno de superficie celular de linfocitos B humanos
CFB	cambio con respecto al valor de referencia
CFR	Código de Regulación Federal
CI	intervalo de confianza
CIOMS	Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas
CL	depuración
COVID-19	enfermedad del coronavirus 2019
CRF	formulario de informe de caso
CRIM	Material inmunológico de reacción cruzada
CSR	informe de estudio clínico
CTCAE	Criterios de terminología común para eventos adversos
DMC	Comité de monitoreo de datos
ECG	electrocardiograma
ED	descontinuación temprana
EDC	captura electrónica de datos
EoS	Fin del estudio
ERT	terapia de reemplazo enzimático
FDA	Administración de alimentos y medicamentos
FSH	hormona foliculoestimulante
GCP	Buena práctica clínica
GDPR	Reglamento general de protección de datos
GLS	deformación longitudinal global
GPS	Seguridad global del paciente
HIPAA	Ley de portabilidad y responsabilidad de seguros médicos
VIH	virus de inmunodeficiencia humana

Abreviatura o término	Explicación
HLA	antígeno leucocitario humano
HPP	hipofosfatasia
HRT	terapia de reemplazo hormonal
HSAT	Títulos altos y sostenidos de anticuerpos
IB	Manual del investigador
ICF	formulario de consentimiento informado
ICH	Consejo Internacional de Armonización de Requisitos Técnicos para los Productos Farmacéuticos para Uso Humano
IEC	Comité de ética independiente
IPD	Enfermedad de Pompe infantil
IRB	Junta de revisión institucional
ISR	reacción en el sitio de infusión/inyección
IST	terapia inmunosupresora
IV	Intravenosa(mente)
IVIG	inmunoglobulina intravenosa
JC	John Cunningham (virus)
LoE	Pérdida de efectividad
LOPD	enfermedad de Pompe de inicio tardío
LVEF	Fracción de eyección ventricular izquierda
Nab	anticuerpos neutralizantes
NCI	National Cancer Institute
(N)IMP	Producto medicinal que no está en investigación
NT-pro BNP	Propéptido natriurético cerebral N-terminal
PD	farmacodinamia
PDMS-2	Escala del desarrollo motor II de Peabody
PEA	feniletilamina
PK	farmacocinética
PLP	piridoxal-5'-fosfato (vitamina B6)
PML	leucoencefalopatía multifocal progresiva
PMR	requisito posterior a la comercialización

Abreviatura o término	Explicación
Pop-PK	farmacocinética poblacional
Ppi	pirofosfato inorgánico
QTc	Intervalo QT corregido para frecuencia cardíaca
QTcF	Intervalo QT corregido para la frecuencia cardíaca usando la fórmula de Fredericia
RSI	Información de seguridad de referencia
RSS	Puntuación de gravedad del raquitismo
SAE	evento adverso grave
SAP	Plan de análisis estadístico
sBLA	solicitud de licencia suplementaria de productos biológicos
SF	Forma corta
SIM	manual de intervención de estudio
SoA	Cronograma de Actividades
SUSAR	reacción adversa grave inesperada sospechosa
TEAE	evento adverso emergente del tratamiento
TESAE	eventos adversos graves emergentes del tratamiento
TMB	Junta de tratamiento y monitoreo
TNSALP	fosfatasa alcalina inespecífica del tejido
WOCBP	mujer en edad fértil

OTRAS MODALIDADES

La descripción detallada y los ejemplos anteriores se han dado únicamente para mayor claridad de entendimiento. A partir de ello no se deben entender limitaciones innecesarias. La descripción no se limita a los detalles exactos mostrados y descritos, ya que las variaciones evidentes para un experto en la técnica se incluirán dentro de la descripción definida por las reivindicaciones.

A menos que se indique de cualquier otra manera, todos los números que expresen cantidades de componentes, pesos moleculares y demás usados en la

especificación y las reivindicaciones deben entenderse como modificados en todos los casos por el término “aproximadamente”. Por consiguiente, a menos que se indique de cualquier otra manera, los parámetros numéricos establecidos en la especificación y las reivindicaciones son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se buscan obtener mediante la descripción. Como mínimo, y no como un intento de limitar la doctrina de los equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debe interpretarse al menos a la luz del número de dígitos significativos reportados y aplicando técnicas ordinarias de redondeo.

A pesar de que los rangos numéricos y parámetros que establecen el amplio alcance de la descripción son aproximaciones, los valores numéricos expuestos en los ejemplos específicos se reportan con la mayor precisión posible. Todos los valores numéricos, sin embargo, contienen inherentemente un rango que resulta necesariamente de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de prueba.

Todos los títulos son para conveniencia del lector y no deben usarse para limitar el significado del texto que sigue al título, a menos que así se especifique.

Las descripciones completas de todas las patentes, solicitudes de patente, incluidas las solicitudes de patente provisionales, publicaciones que incluyen publicaciones de patentes y publicaciones que no son de patentes, y material disponible electrónicamente (incluyendo, por ejemplo, presentaciones de secuencias de nucleótidos en, p. ej., GenBank y RefSeq, y presentaciones de secuencias de aminoácidos en, p. ej., SwissProt, PIR, PRF, PDB y traducciones

de regiones codificantes anotadas en GenBank y RefSeq) citadas en la presente se incorporan como referencia.